

Isolasi dan Skrining Aktivitas Antimikroba Jamur Laut pada Alga *Kappaphycus alvarezii* dari Kabupaten Takalar Sulawesi selatan

Fitriana^{1,2}, Elin Julianti¹, Marlia Singgih Wibowo¹

ABSTRACT : Marine microorganisms, especially actinomycetes bacteria and fungi produce a variety of secondary metabolites that biologically active and have a unique structure. This study aims to isolate some strains of marine fungi that grow on marine algae as a potential source of antimicrobial agent. Marine fungal strains isolated from the marine algae with antimicrobial activity screening is done by using the disc diffusion method. In this study, it was obtained 18 strains of fungal isolates. The screening results that give best antimicrobial activity shown by the activity of the extract liquid culture of fungal isolate strain AKT.C6 are 10.0 mm against the bacteria *Escherichia coli* and 10.8 mm against *Bacillus subtilis*. Mycelium extract of fungal isolates strain AKT.C4 is 16.9 mm against the bacteria *Escherichia coli* and 17.6 mm against *Bacillus subtilis*, while the liquid culture extract and mycelium extract did not show any activity against *Candida albicans*. The isolation of fungi from *Kappaphycus alvarezii* algae has potential as an antibacterial agent.

Keywords: Antimicrobial, algae, marine fungi, secondary metabolites.

ABSTRAK : Mikroorganisme laut, khususnya bakteri aktinomisetes dan jamur menghasilkan berbagai metabolit sekunder yang aktif secara biologi dan strukturnya unik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi beberapa galur jamur laut yang tumbuh pada algae laut yang berpotensi sebagai sumber antimikroba. Galur jamur laut diisolasi dari alga dengan skrining aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Pada penelitian ini diperoleh 18 galur isolat jamur. Hasil skrining aktivitas antimikroba terbesar yang memberikan aktivitas ditunjukkan oleh ekstrak kultur cair dari galur isolat jamur AKT.C6 yaitu 10,0 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 10,8 mm terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Ekstrak miselia dari galur isolat jamur AKT.C4 yaitu 16,9 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 17,6 mm terhadap bakteri *Bacillus subtilis* sedangkan ekstrak kultur cair dan ekstrak miselia tidak menunjukkan adanya aktivitas terhadap *Candida albicans*. Dengan demikian jamur yang di isolasi dari alga *Kappaphycus alvarezii* memiliki potensi sebagai antibakteri.

Kata kunci : Antimikroba, alga, jamur laut, metabolit sekunder.

¹ Sekolah Farmasi,
Institut Teknologi Bandung

² Fakultas Farmasi,
Universitas Muslim Indonesia

Korespondensi:

Fitriana

Email : fitriana@pipie28@gmail.com

PENDAHULUAN

Antimikroba adalah senyawa yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Aktivitas antimikroba dapat bersifat bakterostatik atau bakteriosida [1].

Laut merupakan sumber mineral, nutrisi dan senyawa bioaktif yang terkandung dalam biota laut yang beranekaragam. Mikroba yang hidup di laut seperti bakteri dan jamur banyak memproduksi senyawa metabolit [2]. Alga merupakan salah satu biota laut potensial yang melimpah di perairan Indonesia, termasuk di Sulawesi Selatan [3,4]. Metabolit sekunder dari jamur laut yang berasal dari alga dilaporkan memiliki potensi yang dapat dikembangkan sebagai antimikroba seperti antibakteri, antijamur, antivirus dan sebagainya [5].

Mikroorganisme laut, khususnya jamur, menjadi sumber penting untuk mendapatkan senyawa baru dengan aktivitas farmakologis yang potensial [6]. McConnell (1994) menyatakan bahwa mikroorganisme yang berasosiasi dengan inangnya akan memproduksi senyawa bioaktif yang secara struktural dan fungsional dengan senyawa bioaktif yang diproduksi inang. Salah satu mikroorganisme laut yang mulai banyak diteliti yang memiliki potensi dalam bidang kesehatan adalah jamur yang hidup berasosiasi dengan organisme lain [7].

Jamur laut merupakan jamur yang tumbuh pada konsentrasi air laut. Definisi ekologi untuk jamur laut, misalnya jamur laut yang obligat adalah jamur yang tumbuh dan bersporulasi hanya di habitat laut (samudra, perairan yang mengandung garam atau air payau, muara sungai dan lain sebagainya). Jamur laut yang fakultatif adalah jamur laut dari lingkungan air tawar atau lingkungan darat yang mampu tumbuh dan bersporulasi. Jamur laut dapat diisolasi dari kayu di laut, atau dari cabang-cabang dan akar tumbuhan yang ada di dalam laut, dari alga, hewan laut dan juga dari buih laut [8]. Jamur laut biasanya membutuhkan kumpulan host/inang atau bahan yang mendukung (misalnya

alga, invertebrata laut, sedimen atau air), yang memberikan tantangan untuk mempertahankan viabiliti sampai ekstraksi [9].

Berdasarkan dari uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi beberapa galur jamur laut yang tumbuh pada alga laut yang berpotensi sebagai sumber antimikroba. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan isolasi jamur laut yang berasal dari alga, pemurnian, uji aktivitas antimikroba isolat jamur murni, fermentasi, ekstraksi dan pengujian skrining aktivitas antimikroba jamur laut murni terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan jamur *Candida albicans* dengan menggunakan metode difusi cakram.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alumunium foil, bunsen, botol media, cakram steril, cawan petri, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, jarum ose, kapas, kain kasa, kertas label, korek api, *laminary air flow*, lemari pendingin, mikropipet, otoklaf, oven, spektrofotometri UV-VIS, tabung reaksi, timbangan analitik, tip, rak tabung.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga *Kappaphycus alvarezii* yang berwarna hijau, coklat hijau, coklat dan merah yang diperoleh dari perairan laut di Dusun Malelaya, Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Digunakan juga *aqua demineralisata*, NaHCO_3 , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KCl, NaCl, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, *yeast extract*, pepton, dekstrosa, agar, alkohol 70 %, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sabaroud Dextrosa Agar* (SDA), streptomisin sulfat, ketokenazol dan mikroba uji *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Candida albicans* ATCC 10231.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel alga *Kappaphycus alvarezii* dilakukan di perairan laut yang terletak di Dusun Malelaya, Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Pengambilan sampel alga pada kedalaman sekitar 1-2 meter dari permukaan laut. Sampel yang diperoleh kemudian dicuci dengan air laut yang berasal dari laut tersebut sampai bersih dan dimasukkan ke dalam kantong plastik sampel kemudian ditempatkan di kotak pendingin (*cool box*) yang telah diberi pendingin selama transportasi dan disimpan ke dalam *freezer* yang memiliki suhu -5°C selama sebelum digunakan.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan laboratorium dan media yang digunakan disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

Pembuatan Air Laut Buatan Steril

Dilakukan penimbangan terhadap 24,6 gram NaCl, 0,6 gram KCl, 0,18 gram NaHCO_3 , 4,66 gram $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 6,29 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 1,36 gram $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Masing-masing bahan dilarutkan dalam *aqua demineralisata* hingga homogen, lalu dicampurkan ke dalam gelas kimia 1000 mL. Dilakukan pengukuran pH, diatur dengan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N untuk mencapai pH 8 lalu ditambahkan *aqua demineralisata* hingga 1 L kemudian disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

Pembuatan Media YPD Agar

Media yang digunakan untuk isolasi dan pemurnian jamur adalah *yeast extract*, pepton, dekstrosa dan agar. Media yang akan digunakan ditimbang sebanyak 5 gram *yeast extract*, 5 gram pepton, 10 gram dekstrosa dan 16 gram agar kemudian dimasukkan dalam gelas kimia 1000 mL yang berisi air laut buatan steril yang dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Media

disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm. Media yang telah steril didinginkan pada suhu kamar.

Isolasi Jamur Laut

Sampel dikeluarkan dari *freezer* dan dibiarkan di suhu kamar selama beberapa saat. Sampel alga *Kappaphycus alvarezii* diambil dengan pinset yang telah diflambir dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Sampel dipotong menggunakan pisau steril sepanjang 1 cm kemudian cuci dengan air laut buatan steril sebanyak 3 kali. Masukkan sampel ke dalam etanol 70% (60-120 detik) untuk sterilisasi permukaan kemudian potongan sampel dicuci dengan air laut buatan steril untuk menghentikan proses sterilisasi dengan etanol. Sampel yang telah dipotong diinokulasikan ke permukaan media YPD Agar yang ditambahkan antibiotik streptomisin sulfat dengan cara alga di goreskan secara zigzag dan ditempelkan di atas media yang telah memadat pada cawan Petri. Disimpan pada suhu kamar selama 5-7 hari sampai muncul pertumbuhan jamur. Jika ada pertumbuhan beberapa koloni jamur, diisolasi ke media yang baru sampai di peroleh isolat murni [6].

Pemurnian Isolat Jamur Laut

Media yang digunakan untuk pemurnian isolat jamur laut yaitu media YPD agar. Pemurnian dilakukan dengan cara pemindahan masing-masing isolat jamur ke media YPD agar yang baru. Kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu kamar. Pemurnian dilakukan sampai diperoleh isolat jamur murni yang tunggal dan dilakukan analisis secara makroskopik untuk membedakan galur isolat jamur yang murni [6].

Pembuatan Media Uji Aktivitas

Media yang digunakan untuk pengujian aktivitas adalah media *Muller Hinton Agar* (MHA) untuk bakteri dan media *Sabaroud Dextrosa Agar* (SDA) untuk jamur. Masing-masing media yang akan digunakan ditimbang dan dilarutkan dengan

aqua demineralisata kemudian dipanaskan serta diaduk hingga homogen. Media disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm. Media yang telah steril didinginkan pada suhu kamar.

Penyiapan Mikroba Uji

Mikroba uji yang digunakan untuk pengujian adalah *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Candida albicans* ATCC 10231 yang disimpan pada Laboratorium Mikrobiologi, Sekolah Farmasi ITB. Bakteri dan jamur dari biakan stok diinokulasikan pada media agar miring MHA dan SDA, dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 72 jam pada suhu 20°C untuk jamur. Kemudian bakteri dan jamur disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9 %. Suspensi mikroba yang telah dibuat diukur transmisinya pada spektrofotometri UV Vis pada panjang gelombang 580 nm hingga mencapai transmittansi 25 % untuk bakteri yang setara dengan standar McFarland 1 x 10⁸ CFU/mL dan transmittansi 75 % untuk jamur.

Pengujian Aktivitas Antimikroba Isolat Jamur Murni Terhadap Mikroba Uji

Semua isolat jamur yang murni ditumbuhkan kedalam media YPD Agar, kemudian isolat jamur murni berukuran 0,5 cm x 0,5 cm yang berumur 7 hari inkubasi pada media YPD Agar ditempatkan pada permukaan media MHA dan SDA yang telah berisi suspensi mikroba uji sebanyak 100 µL. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 72 jam pada suhu 20°C untuk jamur [10].

Pembuatan Media Fermentasi

Media yang digunakan untuk fermentasi adalah media cair YPD. Media yang akan digunakan ditimbang sebanyak 5 gram *yeast extract*, 5 gram pepton dan 10 gram dekstrosa kemudian dimasukkan dalam gelas kimia 1000 mL yang berisi air laut buatan steril lalu diaduk hingga homogen. Media disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama

15 menit pada tekanan 2 atm. Media yang telah steril didinginkan pada suhu kamar.

Fermentasi Isolat Jamur

Media YPD agar yang bagian permukaannya ditumbuhi jamur murni secara merata dipotong 1,5 cm x 1,5 cm dengan Ose bulat lalu dimasukkan kedalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media cair YPD steril untuk fermentasi. Fermentasi secara dinamis menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama tiga minggu pada suhu kamar [6].

Ekstraksi

Setelah tiga minggu hasil fermentasi disaring dengan vakum untuk memisahkan kultur cair dan miselia. Miselia dimaserasi selama 24 jam dengan 400 mL etil asetat sedangkan kultur cair diekstraksi dengan ekstraksi cair-cair sebanyak 3 kali dengan 400 mL etil asetat. Pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* lalu dimasukkan ke dalam cawan penguap yang sudah ditara, sampai diperoleh ekstrak kering [6].

Pengujian Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Terhadap Mikroba Uji

Sebanyak 100 µL mikroba uji (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Candida albicans* ATCC 10231) dimasukkan ke dalam cawan petri lalu ditambahkan masing-masing media MHA dan SDA sebanyak 15 mL, dihomogenkan dengan menggoyang cawan petri. Setelah agar memadat, letakkan cakram diatasnya kemudian diteteskan sebanyak 10 µL yang mengandung bobot 250 µg ekstrak uji pada cakram yang telah dilarutkan dengan DMSO. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam untuk bakteri dan pada suhu 20°C untuk jamur selama 72 jam. Kontrol positif dibuat menggunakan streptomisin sulfat dan ketokenazol dengan konsentrasi 250 µg dan kontrol negatif menggunakan DMSO. Kemudian diamati diameter hambatan yang terbentuk disekitar cakram uji [6].

Hasil dan Pembahasan

Sebelum dilakukan isolasi jamur laut dari alga, terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk memastikan jenis alga yang digunakan adalah *Kappaphycus alvarezii*. Determinasi dilakukan pada Laboratorium dan Pengembangan Sains FMIPA Universitas Hasanuddin. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan skrining aktivitas antimikroba isolat jamur laut dari alga *Kappaphycus alvarezii* yang berpotensi sebagai antimikroba yang diujikan terhadap beberapa mikroba uji dengan menggunakan metode difusi cakram. Alga yang di peroleh dicuci dengan air laut segar untuk membersihkan kotoran-kotoran yang ada di permukaan alga. Dalam air laut segar terdapat senyawa mikostatik yang menghambat pertumbuhan spora jamur terestrial, tetapi tidak untuk jamur laut [8].

Isolasi Jamur Laut

Pada tahap isolasi jamur laut dari alga, media yang digunakan adalah media YPD agar memiliki komposisi yaitu *yeast extract*, pepton, dekstrosa dan agar. Media YPD agar memiliki sumber asam amino, sumber nitrogen, sumber karbon yang merupakan media untuk pertumbuhan jamur. Pada media ditambahkan antibiotik streptomisin sulfat yang berfungsi sebagai antibakteri sehingga alga yang diinokulasikan kedalam media hanya menumbuhkan jamur yang terdapat dalam jaringan alga.

Sampel alga dipotong sepanjang 1 cm, kemudian dibilas dengan air laut buatan steril sebanyak tiga kali untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada permukaan alga. Sampel direndam di dalam etanol 70 % selama 60-120 detik untuk sterilisasi permukaan. Jika waktu perendaman dengan etanol terlalu singkat dapat mengakibatkan sterilisasi tidak sempurna tetapi jika perendaman terlalu lama dengan etanol dapat membunuh jamur yang berada di dalam lapisan jaringan [6]. Proses sterilisasi tidak menggunakan etanol murni tetapi etanol 70 % karena proses denaturasi protein mikroba memerlukan keberadaan air dan merupakan

kadar yang optimal [11].

Jamur laut yang berasal dari alga tumbuh pada media agar dengan beberapa warna dan bentuk yang berbeda. Ada yang terlihat seperti kapang karena memiliki filamen dan ada yang terlihat seperti khamir karena tidak memiliki filamen. Jamur laut yang diperoleh kemudian dilakukan pemurnian sampai diperoleh isolat tunggal atau koloni tunggal.

Pemurnian Isolat Jamur Laut

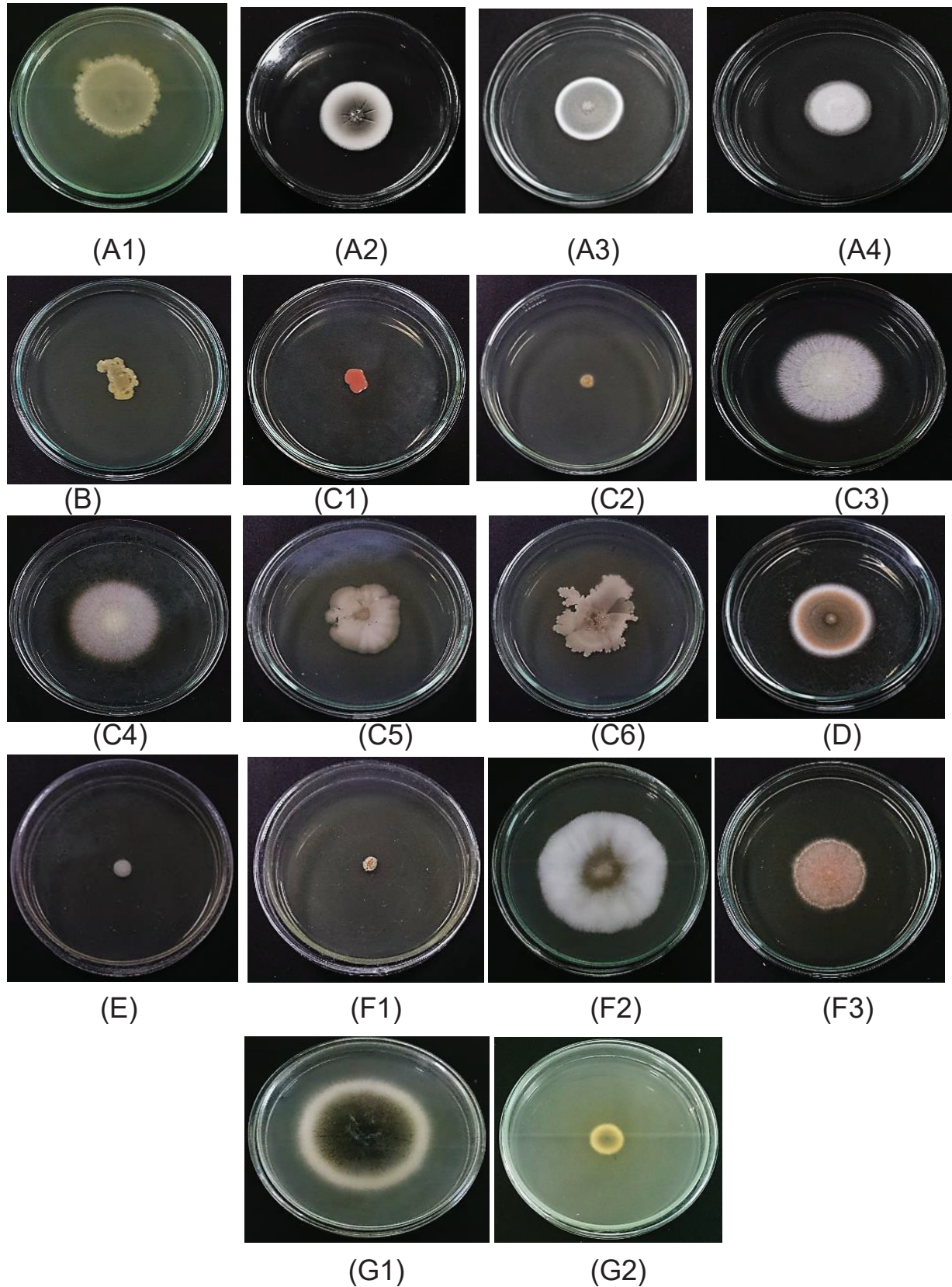
Dari proses pemurnian diperoleh 18 isolat jamur laut dari sampel alga *Kappaphycus alvarezii* yang berwarna hijau, coklat-hijau, coklat dan merah. Kemudian diberi kode isolat yaitu 4 isolat jamur laut dari AKT.A (A1, A2, A3, A4), 1 isolat jamur laut dari AKT. B (B), 6 isolat jamur laut dari AKT.C (C1, C2, C3, C4, C5, C6), 1 isolat jamur laut dari AKT.D (D), 1 isolat jamur laut dari AKT.E (E), 3 isolat jamur laut dari AKT.F (F1, F2, F3) dan 2 isolat jamur laut dari AKT.G (G1, G2) (Gambar 1).

Untuk mengamati isolat jamur laut yang diperoleh ini berbeda maka dilakukan analisis secara makroskopik terhadap masing-masing isolat jamur murni yang diperoleh. Hasil pengamatan makroskopik yang dilakukan pada masing-masing isolat jamur murni yang telah tunggal, dilihat dari warna koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan bentuk koloni dari masing-masing isolat jamur murni yang telah diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji Aktivitas Antimikroba Isolat Jamur Laut

Uji aktivitas antimikroba isolat jamur ini dilakukan untuk melihat aktivitas langsung terhadap organisme uji atau melihat isolat-isolat yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri dan jamur [10].

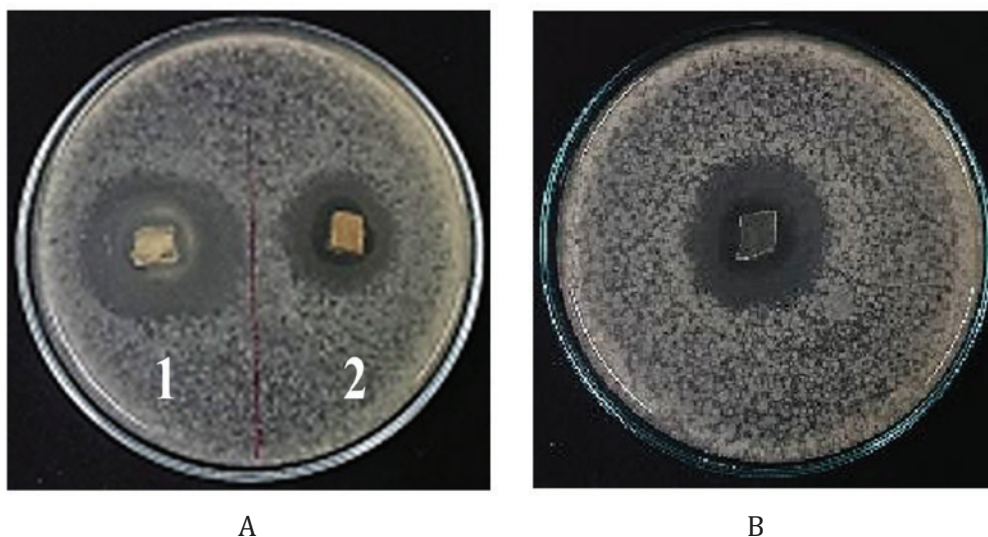
Berdasarkan pengujian aktivitas antimikroba dari 18 isolat jamur, terdapat 16 isolat jamur yang memberikan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu AKT. A (A1, A2, A3, A4), AKT.B, AKT.C (C1, C2, C3, C4, C5, C6), AKT.E, AKT.F (F1, F2), AKT.G (G1, G2). Isolat jamur



Gambar 1. Isolat jamur dari sampel AKT.A (A1,A2,A3,A4); Isolat jamur dari sampel AKT.B (B); isolat jamur dari sampel AKT.C (C1,C2,C3,C4,C5,C6); isolat jamur dari sampel AKT.D (D); isolat jamur dari sampel AKT.E (E); isolat jamur dari sampel AKT.F (F1,F2,F3); isolat jamur dari sampel AKT.G (G1,G2)

Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat jamur laut

Isolat jamur	Warna koloni	Permukaan koloni	Tepi koloni	Bentuk koloni
AKT.A1	Putih gading	Halus	Lobate	Irregular & spreading
AKT.A2	Putih & abu-abu	Pasir	Smooth	Round
AKT.A3	Putih & hijau	Pasir	Smooth	Round raised margin
AKT.A4	Putih cream	Berbulu	Smooth	Concentric
AKT.B	Kuning	Halus berlendir	Undulate	Filiform
AKT.C1	Peach	Halus berlendir	Smooth	Round
AKT.C2	Kuning	Halus berlendir	Undulate	L-form
AKT.C3	Putih kekuningan	Pasir	Wooly	Concentric
AKT.C4	Kuning pucat	Pasir	Ciliate	L-form
AKT.C5	Putih gading	Halus	Smooth	Round with scalloped margin
AKT.C6	Putih tulang	Halus	smooth	Round
AKT.D	Putih, orange & coklat	Pasir	Ciliate	Concentric
AKT.E	Putih	Halus	Smooth	Round
AKT.F1	Putih	Kapas	Lobate	Filiform
AKT.F2	Putih	Kapas	Wooly	Rhizoid
AKT.F3	Pink	Kapas	Branching	Round with radiating
AKT.G1	Putih, hitam	Kapas	Lobate	Concentric
AKT.G2	Hijau tua	Pasir	Ciliate	L-form



Gambar 2. Uji aktivitas antimikroba isolat jamur murni terhadap bakteri *E. coli* (keterangan : A. Isolat AKT.A (1 : A1, 2 : A2), B. Isolat AKT.B)

AKT.A1 dan AKT.B memberikan aktivitas yang terbesar dengan diameter hambatan yaitu 26,6 mm (**Gambar 2**).

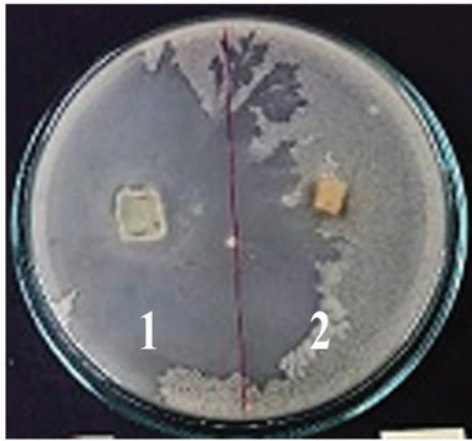
Pengujian aktivitas antimikroba dari 18 isolat jamur, terdapat 9 isolat jamur yang memberikan aktivitas terhadap bakteri *Bacillus*

subtilis yaitu AKT. A (A1, A4), AKT.B, AKT.C (C1, C5, C6), AKT.E, AKT.F (F1, F3). Isolat jamur AKT. A1 memberikan aktivitas yang terbesar dengan diameter hambatan yaitu 38,8 mm (Gambar 3).

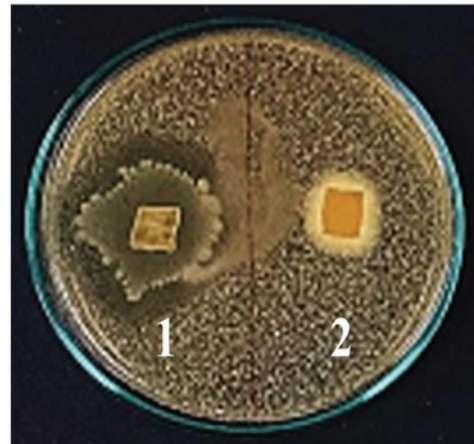
Sedangkan pengujian aktivitas antimikroba 18 isolat murni, terdapat 4 isolat jamur yang

memberikan aktivitas terhadap jamur *Candida albicans* yaitu AKT. F (F1, F2, F3), AKT.G1. Isolat jamur AKT.F1 memberikan aktivitas yang terbesar dengan diameter hambatan 21,1 mm (Gambar 4).

Hasil pengukuran diameter hambatan dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 3. Uji aktivitas antimikroba isolat jamur murni terhadap bakteri *E. coli* (keterangan : Isolat AKT.A (1 : A1, 2 : A2)).



Gambar 4. Uji aktivitas antimikroba isolat jamur murni terhadap jamur *C. albicans* (keterangan : Isolat AKT.F (1 : F1, 2 : F2)).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antimikroba isolat jamur murni

Kode isolat jamur	Diameter hambatan (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
AKT.A1	26,6	38,8	-
AKT.A2	17,3	-	-
AKT.A3	16,6	-	-
AKT.A4	22,3	11,8	-
AKT.B	26,6	30,5	-
AKT.C1	22,2	15,4	-
AKT.C2	15,6	-	-
AKT.C3	17,6	-	-
AKT.C4	18,6	-	-
AKT.C5	23,9	13,1	-
AKT.C6	23,0	20,1	-
AKT.D	-	-	-
AKT.E	23,8	33,0	-
AKT.F1	11,4	12,6	21,1
AKT.F2	21,6	-	13,3
AKT.F3	-	14,3	10,9
AKT.G1	23,2	-	13,2
AKT.G2	18,26	-	-

Keterangan : (-) tidak terdapat diameter hambatan

Fermentasi Isolat Jamur

Isolat jamur murni dilanjutkan dengan proses fermentasi. Fermentasi dilakukan secara dinamis menggunakan *shaker* selama tiga minggu pada suhu kamar dengan kecepatan 150 rpm, agar pada saat fermentasi dihasilkan pelet berukuran kecil dan padat. Fermentasi dilakukan selama tiga minggu karena telah memasuki fase stationer dan telah menghasilkan metabolit sekunder. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar karena produksi metabolit antimikroba akan meningkat pada peningkatan temperatur dari 20-25 °C. Namun, pada peningkatan suhu 25-35 °C produksi metabolit antimikroba akan berkurang [12].

Ekstraksi Kultur Cair dan Miselia

Setelah fermentasi, kultur cair dan miselia dipisahkan dengan penyaringan vakum. Dilanjutkan dengan proses ekstraksi senyawa metabolit dengan tujuan untuk memecah sel sehingga senyawa metabolit berdifusi ke pelarut [13]. Kultur cair diekstraksi dengan etil asetat sebanyak tiga kali dengan 400 mL etil asetat menggunakan metode ekstraksi cair-cair, sedangkan miselia diekstraksi dengan etil asetat menggunakan metode maserasi. Metabolit yang dihasilkan oleh jamur dapat dikeluarkan ke media kultur cair namun sebagian dapat ditemukan di dalam miselium. Ekstraksi cair-cair dilakukan terhadap media kultur cair untuk memperoleh metabolit ekstraseluler jamur, sedangkan maserasi dilakukan terhadap miselia untuk memperoleh metabolit intraseluler [14].

Uji Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Terhadap Mikroba Uji

Pengujian aktivitas ini menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan adalah streptomisin sulfat untuk bakteri dan ketokonazol untuk jamur. Streptomisin sulfat ini merupakan antibiotik bersifat bakterisida yang mampu bekerja terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif karena mampu menghambat inisiasi,

elongasi dan terminasi sintesis protein dalam prokariotik [14].

Ketokonazol merupakan antibiotik yang bekerja fungistatis. Mekanisme kerjanya berdasarkan pada pengikatan pada enzim sitokrom P450, sehingga sintesis ergosterol dirintangi dan terjadi kerusakan membran sel. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO, dimana pelarut DMSO ini tidak memberikan hambatan terhadap mikroba yang diujikan.

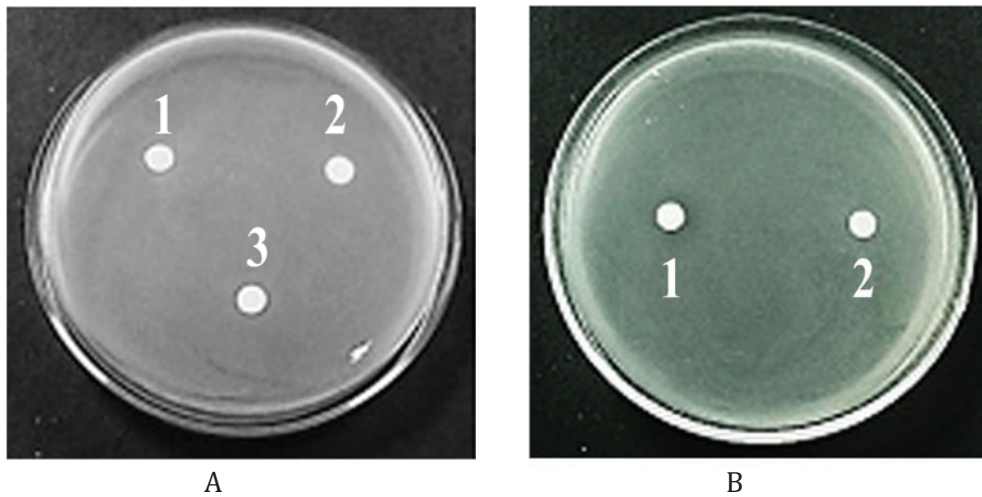
Berdasarkan uji aktivitas antimikroba 18 ekstrak dari kultur cair, terdapat 11 ekstrak yang memberikan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu AKT. A (A2, A3, A4), AKT.C (C3, C4, C6), AKT.D, AKT.E, AKT.F3, AKT.G (G1, G2). Ekstrak AKT.C6 memberikan aktivitas terbesar dengan diameter hambatan yang terbentuk yaitu 10,0 mm (Gambar 5).

Pengujian aktivitas antimikroba 18 ekstrak dari kultur cair, terdapat 11 ekstrak yang memberikan aktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yaitu AKT.A (A2, A3, A4), AKT.C (C3, C4, C6), AKT.D, AKT.E, AKT.F3, AKT.G (G1, G2). Ekstrak AKT.C6 memberikan aktivitas terbesar dengan diameter hambatan yang terbentuk yaitu 10,8 mm (Gambar 6).

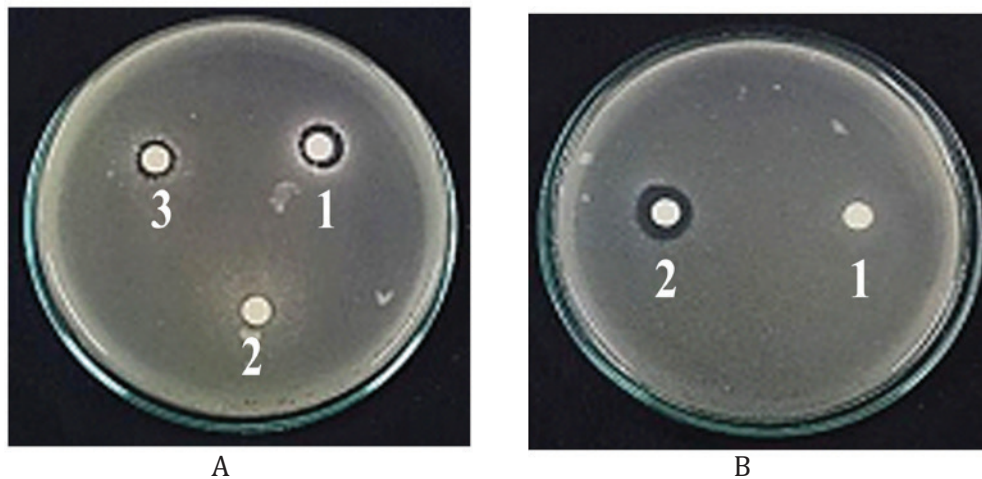
Sedangkan pengujian aktivitas 18 ekstrak dari kultur cair terhadap Jamur *Candida albicans* tidak ada yang memberikan aktivitas. Hasil pengukuran diameter hambatan dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan uji aktivitas antimikroba 18 ekstrak dari miselia, terdapat 9 ekstrak yang memberikan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu AKT.A (A2, A4), AKT.B, AKT.C (C3, C4), AKT.D, AKT.E, AKT.F3 dan AKT.G2. Ekstrak AKT.C4 memberikan aktivitas terbesar dengan diameter hambatan yang terbentuk yaitu 16,9 mm (Gambar 7).

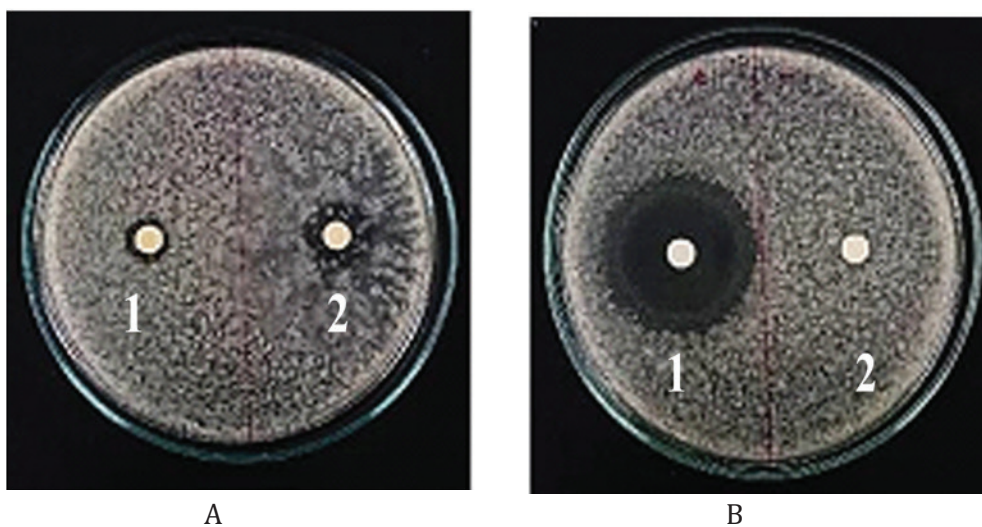
Pengujian aktivitas 18 ekstrak dari miselia, terdapat 13 ekstrak yang memberikan aktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yaitu AKT. A (A2, A4), AKT.C (C3, C4), AKT.D, AKT.E, AKT.F (F2, F3) dan AKT.G1. Ekstrak AKT.C4 memberikan



Gambar 5. Uji skrining aktivitas antimikroba ekstrak kultur cair terhadap bakteri *E. coli* (keterangan : A. Isolat AKT.C (1 : C4, 2 : C5, 3 : C6), B. Kontrol (1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol Negatif).



Gambar 6. Uji skrining aktivitas antimikroba ekstrak kultur cair terhadap bakteri *B. subtilis* (keterangan : A. Isolat AKT.C (1 : C4, 2 : C5, 3 : C6), B. Kontrol (1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol Negatif).



Gambar 7. Uji skrining aktivitas antimikroba ekstrak kultur cair terhadap bakteri *E. coli* (keterangan : A. Isolat AKT.C (1 : C3, 2 : C4), B. Kontrol (1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol Negatif).

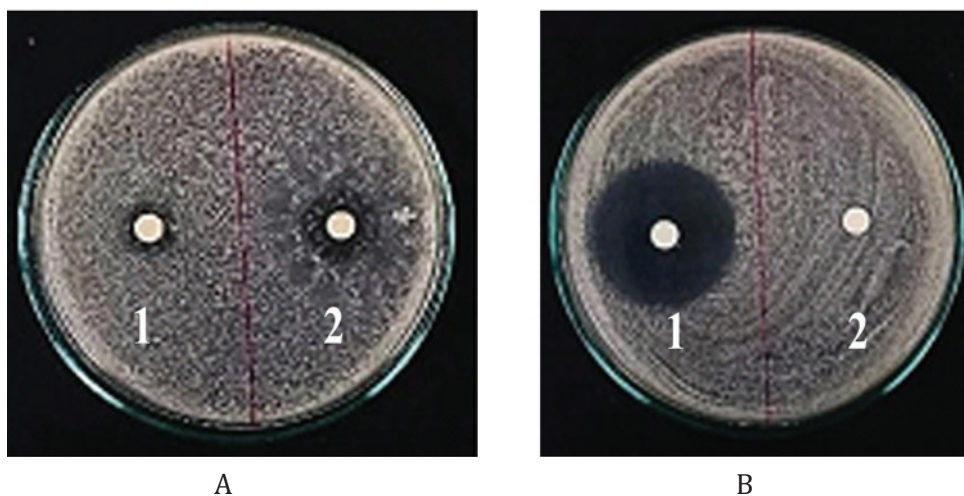
Tabel 3. Hasil uji skrining aktivitas antimikroba ekstrak kultur cair

Kode isolat jamur	Diameter hambatan (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
AKT.A1	-	-	-
AKT.A2	9,1	-	-
AKT.A3	9,3	10,0	-
AKT.A4	9,9	8,8	-
AKT.B	-	7,6	-
AKT.C1	-	8,8	-
AKT.C2	-	-	-
AKT.C3	9,5	7,9	-
AKT.C4	8,7	11,2	-
AKT.C5	-	-	-
AKT.C6	10,0	10,8	-
AKT.D	9,7	11,1	-
AKT.E	9,8	-	-
AKT.F1	-	-	-
AKT.F2	-	-	-
AKT.F3	9,6	8,8	-
AKT.G1	8,4	9,7	-
AKT.G2	9,0	9,1	-
K(+)	13,8	14,8	27,3
K(-)	-	-	-

Keterangan : (-) tidak terdapat diameter hambatan

aktivitas terbesar dengan diameter hambatan yang terbentuk yaitu 17,6 mm (Gambar 8).

Sedangkan pengujian aktivitas 18 ekstrak dari miselia terhadap Jamur *Candida albicans*



Gambar 8. Uji skrining aktivitas antimikroba ekstrak kultur cair terhadap bakteri *B. subtilis* (keterangan : A. Isolat AKT.C (1 : C3, 2 : C4), B. Kontrol (1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol Negatif).

Tabel 4. Hasil skrining uji aktivitas antimikroba ekstrak miselia

Kode isolat jamur	Diameter hambatan (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
AKT.A1	-	9,5	-
AKT.A2	9,2	15,8	-
AKT.A3	-	-	-
AKT.A4	10,5	15,6	-
AKT.B	9,1	9,0	-
AKT.C1	-	-	-
AKT.C2	-	-	-
AKT.C3	10,4	11,8	-
AKT.C4	16,9	17,6	-
AKT.C5	-	-	-
AKT.C6	-	-	-
AKT.D	9,2	11,2	-
AKT.E	9,6	11,1	-
AKT.F1	-	-	-
AKT.F2	-	10,6	-
AKT.F3	12,3	15,0	-
AKT.G1	-	10,8	-
AKT.G2	9,6	9,6	-
K(+)	27,6	33,3	26,1
K(-)	-	-	-

Keterangan : (-) tidak terdapat diameter hambatan

tidak ada yang memberikan aktivitas. Hasil pengukuran diameter hambatan dapat dilihat pada **Tabel 4**.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian ini diperoleh 18 Galur isolat jamur. Hasil skrining aktivitas antimikroba terbesar yang memberikan aktivitas ditunjukkan oleh ekstrak kultur cair dari galur isolat jamur AKT.C6 yaitu 10,0 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 10,8 mm terhadap bakteri

Bacillus subtilis. Ekstrak miselia dari galur isolat jamur AKT.C4 yaitu 16,9 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 17,6 mm terhadap bakteri *Bacillus subtilis* sedangkan ekstrak kultur cair dan ekstrak miselia tidak menunjukkan adanya aktivitas terhadap *Candida albicans*. Dengan demikian jamur yang di isolasi dari algae *Kappaphycus alvarezii* memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan penetapan nilai konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum terhadap 18 isolat jamur laut serta identifikasi jamur yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Jawetz, Melnick dan Adelberg's. Mikrobiologi Kedokteran. Terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jilid 1. 2005; Salemba Medika: Jakarta.
- Bhatnagar L, Kim S. Immense Essence : Marine Microbial Bioactive Compound, Mar.drugs. 2010;

- 8; 2674-2684
3. Arifuddin, Patong R, Ahmad A. Penelusuran Protein Bioaktif dalam Makro Alga sebagai Bahan Antibakteri dan Antijamur, *Marina Chimica Acta*. 2001; 2, 2.
 4. Salem W, Galal HM, Nasr EF. Screening for Antibacterial Activities In Some Marine Algae from The Red Sea (Hurghada, Egypt), *African Journal of Microbiology Research*. 2011; 5; 5.
 5. Cabrita M, Vale C, Rauter A. Halogenated compounds from marine algae. *Marine Drugs*, 2010; 8.
 6. Kjer J, Debbab A, Aly HA, Proksch. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Publishing group*. 2010.
 7. Harvell CD, Mitchell CE, Ward JR, Altizer S, Dobson AP, Ostfeld RS, Samuel MD. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. 2002; 296; 2158–2162
 8. Roosheroe GI, Sjamsuridzal W dan Oetari A. Mikologi Dasar dan Terapan, Edisi Revisi. Yayasan Pustaka Obor Indonesia. 2014; Jakarta.
 9. Duarte K, Rocha-Santos TAP, Freitas AC, Duarte AC. Analytical techniques for discovery of bioactive compounds from marine fungi, *Trends Anal Chem*, 2012; 34, 97–110.
 10. Rante H, Taebe B, Soendaria I. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Kattokon (*Capsicum annum L* Var. *Chinensis*). Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar. *Majalah farmasi dan Farmakologi*. 2013; Vol. 17; No. 2.
 11. Pratiwi ST. Mikrobiologi Farmasi. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada. 2008; Yogyakarta.
 12. Jain P, Pundir RK. Effect of Fermentation Medium, pH, and Temperature Variations on Antibacterial Soil Fungal Metabolite Production, *J.Agr.Sci.Tech*. 2011 ; 7; 2.
 13. Mawaddah R. Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami dan Aplikasinya dalam Bahan Pangan. Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB. 2008; Fakultas Teknologi, Institut Pertanian Bogor.
 14. Oktaviary R. Isolasi dan Skrining Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Dari Lingkungan Laut, skripsi sarjana, Sekolah Farmasi. 2014; Bandung.