

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK JAMUR LAUT

Nur Fadilah¹⁾, Erawati¹⁾, Hendrik Nahar¹⁾, Didit Dewanto²⁾

¹ Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Sekolah Tinggi Perikanan dan Kelautan Palu

² Sekolah Tinggi Perikanan dan Kelautan (STPL) Palu

Email : didit@stplpalu.ac.id

Abstract

A search new antibacterial compounds should continue to be done as a raw material of antibiotics. The purpose of this study, which is to get kind of marine fungi antibacterial activity and get the value of MIC and MBC. The study was conducted from the sampling sponge, marine fungi isolation, extraction, preparation of test bacteria, antibacterial activity testing and analysis of MIC and MBC. Data was analyzed by measuring the diameter of inhibition zone are formed. The results obtained, that debris ethanol fraction from marine fungi J3 can inhibit the growth of *E. coli* and *S. aureus* at a concentration of 100 mg/L to 100.000 mg/L. At the debris ethyl acetate fraction able to inhibit concentration of 1.000 mg/L to 100.000 mg/L. At the filtrate ethyl acetate fraction was able to inhibit 10.000 mg/L to 100.000 mg/L. For both types of test bacteria, MIC and MBC values are indicated by the highest debris ethanol fraction and lowest by the fraction of ethyl acetate filtrate.

Keywords : Sponge, Bioactive, Microorganism, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

1. PENDAHULUAN

Mikroorganisme laut telah terbukti memproduksi senyawa yang beragam dan produktif (Debbab et al., 2010). Mikroorganisme laut hidup simbiotik dengan organisme laut bertubuh lunak yang mengandalkan pertahanan kimia dengan memproduksi metabolit bioaktif dalam mekanisme pertahanan (Penesyan et al., 2010). Sponge merupakan salah satu organisme penting untuk mencari substansi senyawa bioaktif (Pietra, 1997). Dilaporkan sponge telah memproduksi lebih dari 200 senyawa metabolit baru dan telah diuji secara klinis dan praklinis merupakan agen antikanker, antitumor dan anti-inflamasi (Blunt et al., 2006 dan Laport et al., 2009). Sponge merupakan sumber dari mikroorganisme yang bervariasi seperti bakteri, jamur dan mikroalga (Meenupriya & Thangaraj, 2011).

Isolasi senyawa metabolit dari makroorganisme laut sudah banyak dilakukan. Oleh karena itu, para ahli kimia produk alami mengalihkan minat mereka ke jamur dan bakteri laut, yang ternyata belum dimanfaatkan keragaman senyawa metabolitnya (Debbab et al., 2010). Vasanthabharathi & Jayalakshmi (2013) menyatakan bahwa jamur yang diisolasi dari invertebrata menghasilkan senyawa

metabolit sekunder yang menarik. Mikroorganisme laut seperti jamur laut sangat menjanjikan dalam penemuan struktur dan petunjuk yang baru dalam penemuan bahan obat (Dewapriya & Kim, 2014).

Senyawa antibakteri merupakan substansi yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri (Gan et al., 1980). Berdasarkan sifat toksik, senyawa antibakteri dapat bersifat menghalangi pertumbuhan bakteri dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik dan bersifat bakteriosidal yaitu aktivitas untuk membunuh bakteri (Lay, 1994). Menurut (Gan et al., 1980), pengaruh yang ditimbulkan oleh bakteriostatik dan bakteriosidal antara lain : mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesa dinding sel mikroba, merusak keutuhan membran sel mikroba, menghambat sintesa protein sel mikroba dan menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba.

Resistensi antibiotik yang meningkat pada kedua bakteri baik gram positif dan negatif, merupakan ancaman yang serius dalam keberhasilan pengobatan penyakit infeksi. Oleh karena itu, pencarian senyawa antibakteri yang baru harus terus untuk

dilakukan sebagai bahan baku obat antibiotik. Tujuan penelitian ini, akan mendapatkan jenis jamur laut yang menunjukkan aktivitas antibakteri dan mendapatkan nilai MIC dan MBC yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Manfaat penelitian ini, yaitu memberikan informasi awal jenis jamur laut yang bersimbiosis dengan sponge yang menunjukkan aktivitas antibakteri dan sebagai dasar payung penelitian dalam mengeksplorasi potensi jamur laut dalam menghasilkan senyawa bioaktif.

2. BAHAN DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Sekolah Tinggi Perikanan dan Kelautan Palu dan di Laboratorium Kimia Penelitian Universitas Tadulako. Penelitian dilakukan dari Mei – September 2016 mulai dari tahap sampling, isolasi jamur laut, ekstraksi substansi bioaktif, pengujian aktivitas antibakteri dan uji MIC dan MBC.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan, yaitu sponge yang akan disampling dari perairan Teluk Palu. Bahan pendukung yang digunakan, yaitu Glukosa, peptone, yeast extract, agar bakteriologikal, Nutrien agar (NA), nutrient broth (NB), aquades, air laut steril, etanol p.a, etil asetat p.a, n-heksan p.a, alcohol 70%, Dimethylsulfideoxide (DMSO), tisu, kapas, kertas saring whatman, aluminium foil, plastik wrap, plastik sampel, corong sumur ekstrak, bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, kloromfenikol, dan ampisilin

Alat yang digunakan, yaitu *laminar air flow*, *autoclave*, timbangan analitik, cawan petri, *test tube*, erlenmeyer, corong pemisah, inkubator, oven, gelas piala, jarum ose, skalpel, pinset, bunsen, masker, sarung tangan, pipet volum, pipet tetes, objek glass, cover glass, *rotary vaccum evaporator*, mikroskop, larutan standar Mc Farland.

Prosedur Penelitian

Isolasi Jamur Laut (Kobayashi et al., 1996)

Potongan kecil sponge dicuci terlebih dahulu dengan air laut steril : air steril (1:1) sebanyak 3 kali. Kemudian potongan sampel diletakkan dalam cawan petri yang mengandung 4 g Glukosa, 2 g peptone, 1 g yeast extract dan 4 g agar (Media GPY agar) dalam 180 ml air laut setril dan 20 ml aquades. Plate agar diinkubasi pada suhu 27°C selama 3 sampai 4 hari dan koloni jamur dicek secara teratur. Subkultur jamur yang tumbuh dipindahkan pada media YPG agar dan diperoleh kultur murni jamur dalam satu petri. Setelah mendapatkan kultur jamur murni, dipindahkan ke media miring yang mengandung 0,5 g yeast extract, 2 g glukosa, 1 g pepton dan 4 g agar dalam 100 ml air laut setril dan 100 ml aquades yang bertujuan untuk stok kultur murni jamur laut. Media miring disimpan pada suhu 5 °C.

Ekstraksi Substansi Biokatif

Jamur laut difermentasi pada media broth. Dua potong miselia dalam agar akan dimasukkan ke dalam media broth yang mengandung 5 g yeast extract, 10 g peptone, 20 g glukosa, dalam 900 ml air laut steril dan 100 ml aquades dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 hari dikocok setiap hari. Kemudian disaring sehingga diperoleh bagian miselium (debris) dan (filtrat) broth. Bagian miselium dan broth ditambahkan secara berurut n-heksan, etil asetat dan etanol dan dievaporasi sampai diperoleh ekstrak jamur laut. Tiap fraksi dibuat seri pengenceran konsentrasi 100.000, 10.000, 1.000 dan 100 mg/L.

Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan yaitu *E. coli* dan *S. aureus*. Bakteri uji dikultur pada media NA dan akan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Bakteri uji terlebih dahulu akan disegarkan pada media NB.

Pengujian Aktivitas Antibakteri (Rina, 2011)

Pengujian akan menggunakan metode sumur difusi. Langkah pertama dibuat larutan bakteri uji dalam larutan fisiologis dengan kepadatan $1,2 \times 10^9$. Dari tabung 10^9 diambil 1 ml kemudian ditambahkan pada larutan fisiologis 9 ml, sehingga dibuat seri

pengenceran hingga 10^6 (yang akan digunakan dalam pengujian). Kemudian dibuat lapisan dasar yang terdiri atas 2 g NA dan 2 g agar dalam 100 ml aquades. Kemudian lapisan pembedihan (1 g NA dalam 100 ml aquades) ditambahkan 1 ml larutan bakteri uji 10^6 . Campuran ini divorteks dan dituang diatas lapisan dasar. Corong-corong sumur disiapkan dan diletakkan diatas lapisan dasar. Jika sudah mengeras angkat corong sumur dan sumur yang terbentuk akan diisi ekstrak $50\mu\text{L}$. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C . Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya dan dikurangi dengan diameter lubang sumur.

Pengujian Minimum Inibitory Concentration (MIC) dan Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC)

Penentuan nilai MIC dan MBC mengikuti metode Bloomfield (1991), yaitu dilakukan dengan membuat grafik regresi linier pada sumbu X ($\ln M_0 = \ln M_t$) dan sumbu Y ($Z^2 =$ nilai kuadrat dari diameter zona hambat). Nilai M_t merupakan titik potong grafik regresi linier pada sumbu X. Nilai MIC adalah $0,25 M_t$ dan nilai $MBC = 4 \times MIC$. MIC adalah konsentrasi minimum ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji sedangkan nilai MBC adalah konsentrasi minimum ekstrak yang dapat membunuh bakteri.

Analisis Data

Setelah diketahui jenis jamur laut yang menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik, maka data dianalisis dengan membandingkan dengan kontrol positif ampisilin dan kloramfenikol serta kontrol negative DMSO (larutan yang digunakan dalam seri pengeceran ekstrak).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sponge yang digunakan pada penelitian disampling dari Perairan Teluk Palu dan diberi kode S1. Sponge dengan warna dominan biru keunguan. Bentuk dan Gambar sponge yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 1a. Setelah subkultur dan inkubasi selama 1 minggu, diperoleh 3 isolat jamur yang tumbuh (J1, J2 dan J3). Dari 3 isolat, 1 isolat jamur dominan tumbuh

(J3) pada setiap potongan sponge yang ditanamkan pada media agar. Gambar dan warna jamur J3 dapat dilihat pada Gambar 1b.



Gambar 1. (a) Sponge, (b) Jamur Laut J3

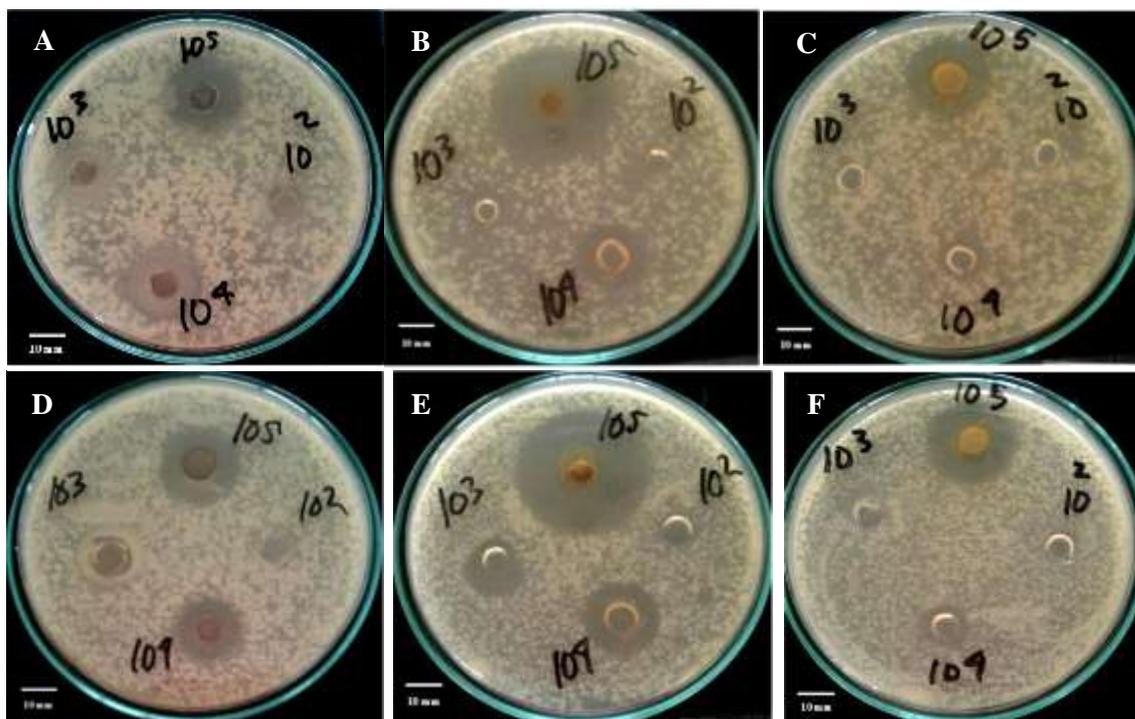
Isolat jamur J3 yang tumbuh, ditumbuhkan pada media broth. Bagian filtrat dan debris jamur setelah disaring, dimaserasi dengan pelarut n-heksan (tidak menunjukkan adanya senyawa yang ditarik), etil asetat dan etanol. Dari hasil ekstraksi ini diperoleh ekstrak fraksi etil asetat debris dan filtrat serta ekstrak fraksi etanol debris dan filtrat.

Hasil pengujian menunjukkan bagian debris menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik dari bagian filtrat. Hal ini disebabkan karena bagian debris (miselium) terkumpul banyak spora dan spora ini dilisis oleh pelarut menghasilkan ekstrak. Hasil pengujian antibakteri jamur J3 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak jamur menunjukkan daya hambat terhadap bakteri uji yang kuat. Fraksi etanol debris menunjukkan daya hambat yang cukup efektif sampai pada konsentrasi 100 mg/L . Sedangkan pada fraksi etil asetat mampu menunjukkan daya hambat sampai pada konsentrasi 1000 mg/L . Fraksi etanol menunjukkan daya hambat yang lebih baik pada bakteri *E.coli* dibandingkan dengan *S. aureus*. Sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan daya hambat yang lebih baik pada bakteri *S. aureus*. Data juga menunjukkan fraksi etanol debris menunjukkan aktivitas bakteriostatik pada kedua bakteri uji. Fraksi etil asetat filtrat menunjukkan bakteriostatik pada bakteri *S. aureus*. Sedangkan fraksi etil asetat debris menunjukkan aktivitas bakteriosidal, karena sampai 24 jam masih menunjukkan zona bening yang jernih. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Jamur Laut J3

Pelarut	Diameter Zona Bening (mm)							
	100.000 (mg/L)		10.000 (mg/L)		1.000 (mg/L)		100 (mg/L)	
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
Etanol debris	17.6 ± 3.4	15.6 ± 0.2	14.3 ± 2	11.9 ± 1	12.0 ± 1.8	7.0 ± 0.7	6.7 ± 1.3	4.9 ± 1.1
Etanol filtrat	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Etil asetat debris	25.1 ± 1.5	25.1 ± 6	12.3 ± 0.3	11.4 ± 2.8	5.6 ± 0.2	8.9 ± 2.4	0.0	0.0
Etil asetat filtrat	15.8 ± 0.5	18.7 ± 1.2	4.9 ± 0.5	6.3 ± 0.7	0.0	0.0	0.0	0.0



Keterangan : A. Etanol debris *E.coli*; B. Etil Asetat Debris *E.coli*; C. Etil Asetat Filtrat *E. coli*; D. Etanol Debris *S. aureus*; E. Etil Asetat Debris *S. aureus*; F. Etil Asetat Filtrat *S. aureus*.

Gambar 2. Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Jamur Laut

Tabel 2. Hasil Pengujian Antibakteri Kontrol Positif

Kontrol	Diameter Zona Bening (mm)					
	1.000 mg/L		100 mg/L		10 mg/L	
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
Ampisilin	8.9 ± 1.3	9.8 ± 6.9	6.3 ± 2.3	8.7 ± 5.5	4.4 ± 1.7	6.2 ± 4.0
Kloramfenikol	31.4 ± 0.2	32.6 ± 1	27.6 ± 1.2	29.0 ± 6	20.4 ± 0.7	16.2 ± 8.7

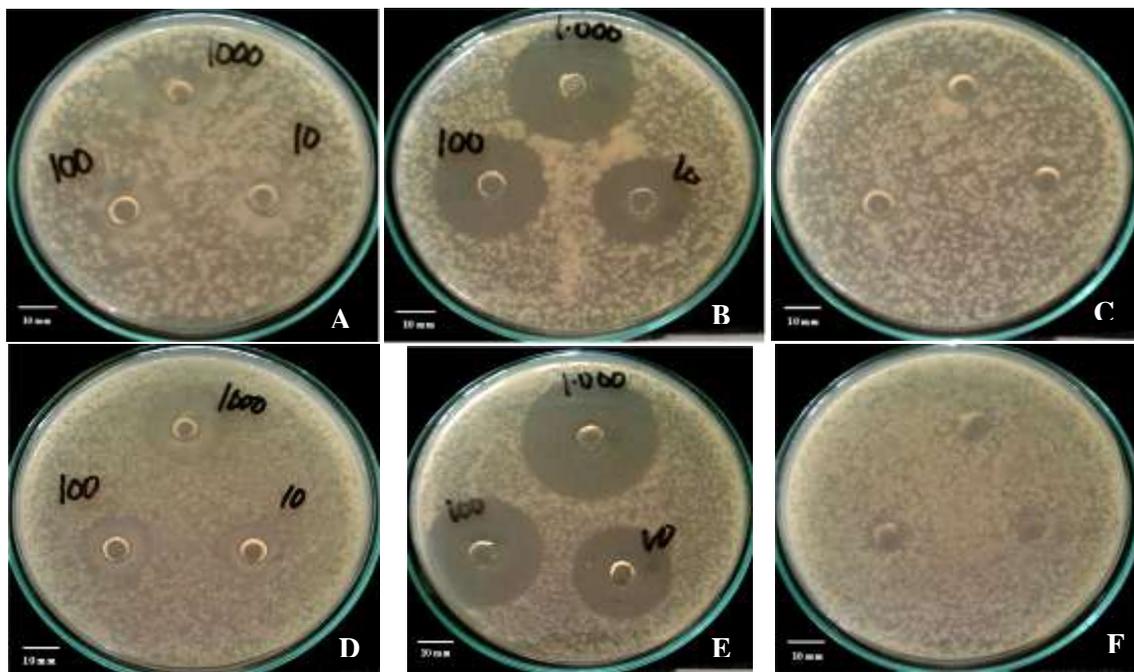
Dalam pengujian ini juga dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu ampisilin dan kloramfenikol (Konsentrasi 1000, 100 dan 10 mg/L) serta kontrol negatif, yaitu DMSO yang digunakan sebagai pelarut ekstrak.

Data hasil pengujian kontrol positif dan negatif dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan kedua kontrol positif yang digunakan dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Hal ini

disebabkan karena kontrol positif yang digunakan merupakan kelompok antibakteri spektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Data menunjukkan daya hambat ampisilin tidak sebaik kloramfenikol. Data

juga menunjukkan ampisilin memiliki aktivitas bakteriostatik karena hingga 24 jam zona bening yang terbentuk sudah terlihat kabur, bila dibandingkan dengan kloramfenikol. Hasil pengujian antibakteri kontrol dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan : A. Ampisilin *E.coli*; B. Kloramfenikol *E.coli*; C. DMSO *E.coli*; D. Ampisilin *S. aureus*; E. Kloramfenikol *S. aureus*; F. DMSO *S. aureus*

Gambar 3. Hasil Pengujian Antibakteri Kontrol Positif dan Negatif

Dari Tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa daya hambat ekstrak jamur laut hampir menyamai kontrol positif, padahal ekstrak yang digunakan masih berupa ekstrak kasar. Hasil penelitian juga menunjukkan ekstrak jamur J3 lebih dapat menghambat bakteri *S. aureus* yang merupakan bakteri gram positif. Lathifah (2008) menyatakan umumnya kelompok bakteri gram positif lebih peka terhadap ekstrak yang memiliki aktivitas antimikroba dibandingkan dengan gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri, sehingga menyebabkan perbedaan sensitifitas bakteri gram positif dan negatif. Data juga menunjukkan Ekstrak polar jamur J3 lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Renhoran (2012) menyatakan bakteri gram negatif cenderung bersifat sensitif terhadap antimikroba yang bersifat polar. Secara

umum ekstrak jamur J3 menunjukkan kekuatan antibakteri dari sangat kuat sampai sedang. Lathifah (2008) menyatakan bahwa jika diameter zona hambat 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, zona hambat 10-20 mm berarti kuat, zona hambat 5-10 mm berarti sedang dan zona hambat 5 mm atau kurang berarti lemah. Hasil penelitian diatas, menunjukkan ekstrak jamur laut J3 berpotensi dikembangkan sebagai bahan antibakteri.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan persamaan regresi linier untuk mendapatkan nilai MIC dan MBC. Hasil analisis MIC dan MBC dari kedua bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 5.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, maka dapat disimpulkan :

1. Jamur J3 yang diisolasi dari sponge S1 menunjukkan potensi aktivitas antibakteri

yang kuat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

2. Untuk kedua jenis bakteri uji, nilai MIC dan MBC yang tertinggi ditunjukkan oleh fraksi etanol debris dan terendah oleh fraksi etil asetat filtrat.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ketua STPL Palu, kepala LPPM, koordinator program studi teknologi hasil perikanan dan kepala laboratorium Sekolah Tinggi Perikanan dan Kelautan Palu. Atas kesempatan untuk melaksanakan penelitian program kreativitas mahasiswa.

6. REFERENSI

- Blunt, J.W., Copp, B.R., Munro, M.H.G., Northcote, P.T. & Prinsep, M.R. 2006. Marine natural products. *Natural Product Reports*, 23(1), pp.26–78.
- Bloomfield, S.F. 1991. Methods For Assesing Antimicrobial Activity In Mechanism of Action of Chemical Biocides Thesis Study and Explanation. Denyer, S.P and W.B. Hugo (Eds). Blackwell Scientific Publication, London, pp:1-22.
- Debbab, A., Aly, A.H., Lin W. H. & Proksch, P. 2010. Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. *Microbial biotechnology*, 3(5), pp.544–563.
- Dewapriya, P. & Kim, S., 2014. Marine microorganisms: An emerging avenue in modern nutraceuticals and functional foods. *Food Research International*, 56, pp.115–125.
- Gan, S.B., Udin, A., Vincent, H.S.G. 1980. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi 2. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 693 hal.
- Kobayashi, H., Namikoshi, M., Yoshimoto & Yokochi. 1996. A Screening Method For Antimitotic and Antifungal substances Using Conidia of *Pyricularia Oryzae*, Modification and Application to Tropical Marine Fungi. *The Jornal Of Antibiotic*, 49 (9). pp:873-879.
- Laport, M., Santos, O. & Muricy, G., 2009. Marine Sponges: Potential Sources of New Antimicrobial Drugs. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10(1), pp.86–105.
- Lathifah, Qurrotu A’yunin. 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dengan Variasi Pelarut. SKRIPSI. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Lay. W. B. 1994. *Analisis Mikroba Di Laboraturium*. PT. Raja Gratindo Persada. Jakarta. 168 hal.
- Meenupriya, J. & Thangaraj, M., 2011. Analytical characterization and structure elucidation of metabolites from *Aspergillus ochraceus* MP2 fungi. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(5), pp.376–380.
- Penesyanyan, A., Kjelleberg, S. & Egan, S., 2010. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms. *Marine Drugs*, 8(3), pp.438–459.
- Pietra, F., 1997. Secondary metabolites from marine microorganisms: bacteria, protozoa, algae and fungi. Achievements and prospects. *Natural Product Reports*, 14(5), pp.453–464.
- Renhoran, W. 2012. Aktivitas Antoksidan dan Mikrobiologi Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Skripsi*. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor
- Rina. 2011. Subtansi Antibakteri Dari Ascidian dan Jamur Laut Yang Berasosiasi Dengannya. *Tesis Pascasarjana Program Studi Ilmu Perairan*. Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Vasanthabharathi, V. & Jayalakshmi, S., 2013. Review on bioactive potential of marine microbes, 7(39), pp.4683–4688.