

ISOLASI ANTIMIKROBA DARI JAMUR YANG BERSIMBIOSIS DENGAN BIOTA LAUT

F. Losung, R. A. Bara dan E. D. Angkouw
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UNSRAT, Manado
(E-mail : vera.losung@yahoo.com)

ABSTRAK

Penelitian untuk mengisolasi antibakteri dari jamur yang bersimbiosis pada sponge dan ascidian telah dilakukan. Penelitian ini bermaksud untuk memberdayakan potensi biota laut yang kaya dan belum banyak diperhatikan. Penelitian dilakukan meliputi sampling sponge dan ascidian, isolasi jamur simbiosis pada ke dua biota laut, kultur jamur dan ekstraksi dengan etanol dilanjutkan dengan partisi dengan pelarut etil asetat, heksan dan butanol dan pengujian antibakteri pada bakteri *S. aureus*, dan *E. coli*. Aktivitas antibakteri diukur dari zona hambat yang terbentuk oleh masing masing ekstrak terhadap bakteri uji. Tujuan penelitian yaitu: membandingkan aktivitas antimikroba dari ekstrak jamur simbiosisnya dan fraksi-fraksi etil asetat, heksan, butanol. Dari 5 jenis sponge dan 2 jenis ascidian yang di koleksi diperoleh 12 jenis jamur. Ekstrak kasar jamur S2-3 dan S4-2 dan A2-1 mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*. Ekstrak jamur S4-2 aktivitasnya hampir menyamai antibiotik pembeding yang digunakan (Chloramex). Ekstrak jamur S2-3 fraksi etil asetat dan heksan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Fraksi etil asetat jamur S2-3 dan S4-2 diameter zona hambat hampir sama. Pada penelitian ini disimpulkan bahwa: dari lima jenis sponge dan dua jenis ascidian didapatkan 12 jamur simbiosis. Ekstrak kasar jamur S4-2 memiliki diameter zona hambat yang besar dan hampir menyamai antibiotika pembeding. Aktivitas antibakteri dari ekstrak jamur S2-3 dan S4-2 fraksi heksan lebih besar untuk bakteri *E. coli* dibanding *S. aureus*.

Kata Kunci : Antibakteri, Aktivitas, Ekstrak, Jamur, Fraksi, Zona hambat

PENDAHULUAN

Resistensi berbagai obat, saat ini menjadi persoalan yang harus mendapat perhatian yang serius. Dengan demikian perlu upaya untuk mengembangkan obat baru untuk pencegahan penyakit menular. Samuel *et al.* (2011) penyakit menular merupakan penyebab kematian nomor satu di negara-negara tropis.

Akhir-akhir ini para peneliti bahan alam cenderung untuk menemukan bahan obat dari laut yang dapat digunakan pada berbagai penyakit seperti kanker, peradangan, malaria dan infeksi oleh bakteri dan jamur. Hal ini terjadi karena adanya masalah kesehatan dengan mortalitas yang tinggi di negara-negara berkembang dan perkembangan resistensi mikroorganisme patogen terhadap beberapa obat (Rajasekar *et al.*, 2012). Kebutuhan antibiotik yang terus meningkat, mendorong makin banyaknya penelitian untuk mengeksplorasi laut sebagai sumber substansi bioaktif. Di antara organisme laut yang ditemukan, bakteri *Bacillus*

cereus yang diisolasi dari sponge laut *Hyatella cribriformis* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada manusia (Brammavidhya dan Usharani, 2013).

Reddy *et al.* (2011), jumlah metabolit sekunder yang diisolasi dari jamur laut yang bersimbiosis dengan alga, sponge, avertebrata lainnya dan sedimen sebagai antibakteri, antijamur dan sitotoksik rata-rata 75% memiliki aktivitas biologis. Samuel *et al.* (2011), tahun 2002-2004, dari jamur laut telah ditemukan 272 produk alami baru, hal ini membuktikan bahwa jamur laut memiliki potensi farmakologis.

Mikroorganisme laut juga berpotensi menghasilkan senyawa yang penting dan diharapkan untuk pengembangan obat atau farmakologis. Mikroorganisme laut memiliki kemampuan fisiologis yang dapat menjamin kelangsungan hidupnya pada habitat yang ekstrim.

Thakur dan Muller (2004), sponge memiliki senjata kimia defensif berupa metabolit sekunder sebagai perlindungannya terhadap pesaing untuk pertumbuhan, infeksi, predasi dan keracunan. Sagar *et al.* (2010); Kim dan Dewapriya (2012), sponge merupakan salah satu sumber senyawa farmakologis terkaya dari lingkungan laut karena memproduksi senyawa kimia beragam. Dhinakaran dan Lipton (2012) sponge laut dikenal sebagai pabrik kimia karena ratusan senyawa kimia unik yang berhasil diisolasi.

Reddy *dkk.* (2011), mengisolasi senyawa dengan aktivitas antiinflamasi antioksidan dan antifungi dari sponge *Subergorgia suberosa*. Terdapat 5.300 senyawa yang berhasil diisolasi dari sponge dan 200 jenis diisolasi setiap tahun (Raghukumar *et al.*, 2008). Metabolit sekunder yang diisolasi dari sponge memiliki aktivitas antikanker, antimikroba dan lainnya, menjadi salah satu sumber alternatif untuk mengganti obat yang memiliki efek samping (Menupriya dan Tangaraj, 2012)

Berbagai senyawa yang telah diisolasi dari dari ascidian antara lain: Leptoclinidamine(-)- dan Leptoclinidamine B dari *Leptoclinides dubius* (Yamasaki H *dkk.*, 2012); Lissoclibaldine 4-7 (Nakazawa T, *dkk.* 2007); Lissoclibaldine dan lissoclinotoxin dari *Lissoclinum cf badium* (Oda T, *dkk.* 2007); Polycarpaurines A,B,C dari *Polycarpa aurata* (Wang *dkk.*, 2009).

METODE PENELITIAN

Sampling

Sampling biota laut (sponge, ascidian) dilakukan di perairan Malalayang Manado. Sampel diambil dan dimasukkan dalam kantong plastik berlabel, dibawa ke laboratorium FPIK Unsrat untuk diekstraksi.

Isolasi Jamur Laut

Isolasi jamur yang bersimbiosis pada biota laut menggunakan metode bating menurut Kobayashi (1996), sebagai berikut: potongan kecil biota laut (sponge dan atau ascidian) dicuci dan direndam dengan air laut steril mengandung antibiotik. Setelah itu potongan sampel di letakkan pada ke media YSA, diinkubasi selama 4 hari. Jamur yang tumbuh diisolasi ke media YSA steril berdasarkan ciri-cirinya sehingga didapatkan jamur yang murni. Jamur yang telah murni dikultur massal pada nasi steril, selanjutnya diekstraksi.

Ekstraksi

Ekstraksi jamur dilakukan berdasarkan metode yang umum digunakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasitika Laut FPIK Unsrat, sebagai berikut: Jamur-jamur yang di tumbuhkan pada nasi dimaserasi dengan etanol (1 ; 2) w/v hingga tiga kali. Filtrat yang di dapat difiltrasi dan dievaporasi, sehingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak yang diperoleh dipartisi dengan Heksan, Etil asetat, dan Butanol. Selanjutnya masing-masing fraksi yang diperoleh (Heksan, etil asetat, butanol) dievaporasi kemudian di uji aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak.

Pengujian Antimikroba

Ekstrak biota laut dan ekstrak jamur yang bersimbiosis masing-masing diujikan pada bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan metode difusi agar dengan cara sumur. Ke dalam sumur-sumur dimasukkan ekstrak uji, setelah 24 jam di amati adanya daerah bening sekeliling sumur dan di ukur diameter yang terbentuk dibandingkan dengan diameter zona hambat antibiotik yang digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kasar Jamur

Dari 5 jenis sponge dan 2 jenis ascidian yang di koleksi diperoleh 12 jenis jamur. Adapun aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar Sponge, Ascidian dan jamur simbon yang diujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherisia coli* ditunjukkan pada Tabel 1.

Data pada Tabel 1, menunjukkan bahwa dari 5 jenis sponge dapat diisolasi 11 jamur yang bersimbiosis sedangkan dari 2 jenis ascidian 1 jenis jamur. Hal ini berhubungan dengan ciri-ciri sponge yang berpori sehingga peluang hidup bagi organisme simbion lebh besar. Asponge tubuhnya berpori sedangkan ascidian lunak namun padat. Sponge S-2 lebih padat dan keras di peroleh 2 jenis jamur dibanding sponge S4 sangat berpori, tipis dan lunak dapat diisolasi 4 jamur simbion..

Ekstrak kasar jamur S2-3 dan S4-2 dan A2-1 mampu menghambat pertumbuhan ke dua bakteri uji baik Gram positif dan negatif. Ekstrak jamur S4-2 diameter zona hambatnya hampir menyamai antibiotik pembanding yang digunakan (Chloramex). Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak jamur tersebut dapat diuji lanjut.

Tabel 1. Diameter Rata-rata Zona Hambat (mm) dari Ekstrak Kasar Jamur Simbon

No	Ekstrak	Bakteri	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	S1-1	0	0
2	S2-1	0	0
3	S2-2	25,3	15,0
4	S3-1	0	0
5	S3-2	0	0
6	S3-3	0	0
7	S4-1	0	0
8	S4-2	25,0	35,0
9	S4-3	0	0
10	S4-4	0	0
11	S-5-1	0	0
12	A1-2	14,5	10
13	Chloramex	31,6	36,5

1. Aktivitas Antibakteri dari Fraksi Ekstrak Jamur

Pada Tabel 2 ternyata ekstrak S2-2 fraksi etil asetat dan heksan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Diameter zona hambat dari ekstrak etil asetat kedua jenis jamur hampir sama terhadap bakteri *S. aureus*. Sedangkan terhadap bakteri *E. coli*, ekstrak jamur S2-2 fraksi heksan memiliki diameter zona hambat yang jauh lebih besar dibanding fraksi etil asetat. Hal ini berarti aktivitas antibakteri dari ekstrak jamur S2-2 lebih mampu menghambat bakteri Gram negatif dan ekstrak yang terkuat ada pada fraksi heksan atau fraksi yang non polar. Namun ekstrak jamur S4-2 fraksi etil asetat diameter zona hambat agak lebih besar dari pada fraksi heksan. Hal ini berbeda dengan yang dilaporkan Rina (2011), bahwa ekstrak jamur fraksi etil asetat memiliki aktivitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan fraksi heksan.

Ekstrak jamur S2-2 dan S4-2 ternyata memiliki aktivitas yang lebih tinggi terhadap bakteri Gram negatif (*E. coli*) pada fraksi etil asetat maupun fraksi heksan dibandingkan Gram positif (*S. aureus*). Membran sel jamur gram positif memiliki lipopolisakarida yang lebih banyak dibanding bakteri gram positif yang terbanyak yaitu peptidoglikan (Anggadiredja, 2004).

Tabel 2. Diameter Zona Hambat dari Ekstrak Jamur S2-2 dan S4-2 Beberapa Fraksi (1.000 ppm)

Ekstrak	Fraksi	Bakteri	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
S2-2	Etil Asetat	13,5	15,0
	Heksan	6,0	30,0
	Butanol	0	0
S4-2	Etil Asetat	14,0	18,5
	Heksan	6	16
	Butanol	0	0

KESIMPULAN

Pada penelitian ini disimpulkan bahwa: dari lima jenis sponge dan dua jenis ascidian didapatkan 12 jamur simbion. Ekstrak kasar jamur S4-2 memiliki diameter zona hambat yang besar dan hampir menyamai antibiotika pembanding. Aktivitas antibakteri dari ekstrak jamur S2-3 dan S4-2 fraksi heksan lebih besar untuk bakteri *E. coli* dibanding *S. aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggadiredja. 2004. Diversity of Antibacterial Substances from Selected Indonesian Seaweeds (Disertasi). Jakarta university of Indonesia, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Graduate Study Program Biologi.
- Brammavidhya, S. and Usharani, G. 2013. Bioactive Potential of Sponge Associated *Bacillus Cereus* Sbs02 Isolated from *Hyattella cribriformis*. ISSN 2249-9695. International Journal of Research in Environmental Science and Technology. 3(2): 61-64
- Dhinakaran, D.I. and Lipton, A.P. 2012. Evaluation of Bioactivity in Marine Sponge *Sigmadocia pumila* Collected from the South Eastern Region of India. J. Microbiol. Biotech. Res., 2 (5): 651-656.
- Kim, S. and Dewapriya, P. 2012. Chapter 8.- Bioactive Compounds from Marine Sponges and Their Symbiotic Microbes: A Potential Sources of Neuro-ceticals Advanced in Food and Nutrition Research. Vol 65, Pages 137-151.
- Kobayashi, H., Namikoshi, M., Yoshimoto dan Yokochi. 1996. A Screening Method for Antimitotic and Antifungal Substances using Conidia of *P. oryzae*, Modification and Aplikation to Tropical Marine Fungi. *The journal of antibiotic*. Vol 49. No 9. 873-879
- Kohlmeyer, J. and Kohlmeyer, E. 1979. Marine Mycology, the Higher Fungi. *Academic Press; New York, San Fransisco, London* 690.
- Meenupriya, J. and Thangaraj, M. 2012. Bioprospecting of Potent Fungal Strains from Marine Sponge *Hyatella cribriformis* from Gulf of Mannar Coast. *International Conference on Bioscience, Biotechnology and Healthcare Sciences (ICBBHS'2012)* December 2012 14-15, Singapore.
- Nakazawa, T., Xu, J., Nishiawa, T., Oda, T., Fujita, A., Ukay, K., Mangindaan, R.E.P., Rotinsulu, H., Kobayashi, H., Namikoshi, M. 2007. Lissoclibaldine 4-7, Polysulfur

- Aromatic Alkaloid from the Indonesian Ascidian *Lissoclinum cf badium*. *J. Nat. Prod.* 70.439-442.
- Oda, T., Kamoshita, K., Maruyama, S., Mashuda, K., Nishimoto, M., Xu, J., Ukay, K., Mangindaan, R.E.P., and Namikoshi, M. 2007. Cytotoxicity of Lissoclibaldins and Liisoclinotoxins, Isolated from a Tropical Ascidian *Lissoclinum cf badium*, against Human Solid-Tumor Derived Celllines. *Biol. Pharm. Bull* 30 (2).
- Rajasekar, T., Balaji, S., Kumaran, S., Deivasigamani, B., Pugzhavendhan, S.R. 2012. Isolation and Characterization of Marine Fungal Metabolites against Clinical Pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease. Elsevier*. S387-S392.
- Reddy, D.R.S., Audipudi, A.V., Reddy, G.D., and Bhaskar, C.V.S. 2011. Antioxidant, Anti-Inflammatory and Antifungal Activity of Marine Sponge *Subergargoria suberosa*-Derived Natural Products. *International Journal of Pharm Tech Research*. Vol.3, No.1, pp. 342-348.
- Rina. 2011. Substansi Antibakteri dari Ekstrak Ascidian dan Jamur Laut yang Berasosiasi dengannya. *Tesis. Universits Sam Ratulangi Program Pasca-sarjana*. Manado
- Sagar, S., Kaur, M., and Minneman, K.P. 2010, Antiviral Lead Compounds from Marine Sponges *Mar. Drugs* 8, 2619-2638.
- Samuel, P., Prince, L., and Prabakaran, P. 2011. Antibacterial Activity of Marine Derived Fungi Collected from South East Coast of Tamilnadu, India. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 1 (4):86-94
- Thakur, N.L. and Müller, W.E.G. 2004. Biotechnological Potential of Marine Sponges *Current Science*, Vol. 86, No. 11. 1506-1512.
- Wang, W., Oda, T., Fujita, A., Mangindaan, R.E.P., Nakazawa, T., Ukay, K., Kobayashi, H., and Namikoshi, M. Three New Sulfur Containing Alkaloids, Polycarpaurines A, B, and C from Indonesian Ascidian *Polycarpa aurata*.
- Yamasaki, H., Wewengkang, D.S., Nishikawa, T., Rotinsulu, H., Mangindaan, R.E.P., and Namikoshi, M. 2012. Two New Tryptamine Derivatives, Leptoclinidamine and (-)-Leptoclinidamine B, from an Indonesian Ascidian *Leptoclinides dubius*. *Mar.drugs* 10, 349-357.