

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI JAMUR LAUT YANG BERASOSIASI DENGAN SPONS *Callyspongia* sp.

Seseni Bastian¹⁾, Henki Rotinsulu¹⁾, Fatimawali¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

*Marine organisms such as sponges often live in association with marine fungi that can produce antimicrobial compounds. This study aims to determine the antimicrobial activity of marine fungi isolated from with *Callyspongia* sp., sponge obtained from Manado Bay against the microorganisms of *Staphylococcus aureus* bacteria, *Escherichia coli* and *Candida albicans* fungi. The isolated sample was then extracted by maceration and fractionation using acetone and ethyl acetate solvents. Testing of antimicrobial activity using agar diffusion method. The measured parameter is the magnitude of the inhibitory diameter formed around the disc paper. The results showed that ethyl acetate extracts of fungi associated with *Callyspongia* sp., sponge have antimicrobial activity against *S. aureus* and *C. albicans* is categorized as strong and antimicrobial activity against *E. coli* is categorized as moderate.*

Keywords: Activity, *Callyspongia* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*.

ABSTRAK

Organisme laut seperti spons seringkali hidup berasosiasi dengan jamur laut yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari isolat jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. yang diperoleh dari Teluk Manado terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan jamur *Candida albicans*. Sampel diperoleh kemudian diekstraksi secara maserasi dan fraksinasi menggunakan pelarut aseton dan etil asetat. Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi agar. Parameter yang diukur adalah besarnya diameter daya hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etil asetat dari jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* dikategorikan kuat dan aktivitas antimikroba *E. coli* dikategorikan sedang.

Kata Kunci: Antimikroba, *Callyspongia* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*.

PENDAHULUAN

Mikroorganisme dan lingkungan laut khususnya jamur yang berasal dari laut, telah terbukti mejadi sumber dari metabolit sekunder bioaktif baru. Banyak metabolit yang memiliki struktur kimia yang unik dan aktivitas biologi yang menarik, seperti sitotoksitas terhadap sel kanker, aktivitas antimikroba, penghambatan beberapa aktivitas enzim dan sebagainya (Namikoshi, 2006).

Callyspongia sp. merupakan salah satu jenis spons yang banyak tumbuh di perairan Indonesia. Spesies ini adalah salah satu biota laut yang memiliki kandungan sebagai metabolit sekunder diantaranya steroid, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid yang nantinya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat (Mun'im dan sekarini, 2005).

Jamur merupakan mikroorganisme heterotrof, bereproduksi secara seksual dan/atau aseksual, struktur vegetatif berupa sel tunggal atau berfilamen menyatakan bahwa simbiosis mikroba dengan spons dapat berlangsung di dalam sitoplasma sel tubuh spons, di sisi dalam tubuh spons dan di bagian luar tubuh spons (Harti, 2015).

Potensi jamur yang berasal dari biota laut (*marine-derived fungi*) sebagai antibiotika sudah dikenal sejak ditemukannya cephalosporin C, yang diisolasi dari jamur *Acremonium chrysogenum* pada tahun 1946 di perairan Sardinia. Namun, penelitian terhadap *marine-derived fungi* baru berkembang sejak 10 tahun terakhir (Suciati *et al.*, 2014). Beberapa penelitian yang telah dilakukan terkait aktivitas antimikroba jamur endofit pada spons diantaranya senyawa xestodekalakton dari jamur *Penicillium cf. montanense* M. yang

berasosiasi dengan spons *Xestospongia exigua* dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba (Edrada *et al.*, 2002). Penelitian lain menyatakan roquefortin C, leucinostatins dan equisetin dari jamur *Penicillium sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Fusarium sp.* yang berasosiasi dengan spons *Tethya aurantium* memiliki aktivitas antimikroba (Wiese *et al.*, 2011). A-piron merupakan senyawa antikanker yang diperoleh dari jamur *Paecilomyces illacinus* yang berasosiasi dengan spons *Petrosiasp.* (Elbandy *et al.*, 2009). Handayani *et al.*, (2012) melaporkan bahwa spons *Petrosia sp.* memiliki aktivitas sitotoksik.

Upaya pengobatan terhadap penyakit infeksi telah banyak dilakukan. Penanganan yang umum dilakukan adalah penggunaan antimikroba. Tetapi, penggunaan antimikroba secara tidak rasional baik dalam dosis maupun jangka waktu penggunaan dapat memicu terjadinya resistensi terhadap antimikroba (Kemenkes RI, 2011).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai bulan Juni 2018 di Laboratorium Farmakognosi, Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Sam Ratulangi.

Jenis Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan metode eksperimental laboratorium yang akan menguji aktivitas antimikroba mikroorganisme yang diisolasi dari spons *Callyspongia* sp.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, gunting, snorkel, fins, kantong plastik, kamera bawah laut, wadah kaca, pisau, Erlenmeyer (pyrex), corong, *rotary evaporator*, timbangan digital, gelas ukur (pyrex), gelas kimia (pyrex), cawan petri, corong pisah (pyrex), autoklaf, pinset, spatula, pembakar spritus, *magnetic stirrer*, pipet tetes, mikro tub, batang pengaduk, *Laminar air flow*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, lemari pendingin, inkubator, cakram (*paper disc*), mikropipet, vial, jangka sorong, jarum ose, jas lab.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu spons *Callyspongia* sp., bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Jamur Uji *Candida albicans* ATCC 1231, etanol, aquadest, etil asetat, aseton, *Potato Dextros Agar*, *Nutrient Agar*, Glukosa, Polypeptone, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, *Yeast Extract*, KH_2PO_4 , Sukrosa, *Starch*, *Malt Extract*, *Ebios*, larutan H_2SO_4 1%, larutan $BaCl_2$ 1,75%, larutan NaCl 0,9%, kloramfenikol *paperdisc*, label, spidol permanen, *tissue*, *aluminium foil*, kertas saring, kapas.

Pengambilan Sampel

Sampel spons diambil dari perairan Teluk Manado menggunakan alat bantu (*Scuba Diving*). Sampel difoto dengan kamera bawah laut dan diambil lalu dimasukkan ke dalam *ziper bag* dan disimpan dalam *cooling box* berisi es batu untuk dibawa ke Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi.

Isolasi dan Purifikasi Jamur yang Berasosiasi dengan Spons

Isolasi jamur dilakukan dengan cara sampel dibersihkan dengan aquades kemudian dipotong kecil-kecil menggunakan gunting dan pinset dan dimasukkan ke dalam media PDA yang telah disiapkan. Sampel ditanam di atas media PDA dengan tiga titik pusat yang berbentuk segitiga. Cawan petri yang berisi sampel ditutup dan direkatkan menggunakan parafilm, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 7x24 jam. Setelah didapatkan isolat jamur, dilakukan pemurnian dengan cara isolat jamur diinokulasikan ke media PDA yang baru, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 14x24 jam. Selanjutnya diidentifikasi morfologi secara makroskopik untuk menghasilkan isolat jamur murni.

Kultur Cair

Kultur cair dilakukan dengan cara biakan jamur murni yang telah diperoleh diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi (2 gram glukosa, 0,5 gram *polypeptone*, 0,05 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,2 gram *yeast extract*, 0,1 gram KH_2PO_4 , dan 0,1 gram agar ditambahkan 100 ml aquades). Labu tersebut kemudian diaduk menggunakan alat *shaker* pada suhu 27°C dengan kecepatan 120 rpm selama 3x24 jam untuk memperoleh bibit kultur. Setelah didapatkan bibit kultur, kemudian dipindahkan sebanyak 3 ml ke media produksi yang berisi (4,5 gram sukrosa, 4,5 gram *starch*, 1,5 gram *ekstrak malt*, 0,45 *Ebios*, 0,75 gram KH_2PO_4 , dan 0,075 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dalam 150 ml aquades). Labu tersebut kemudian diaduk menggunakan alat *shaker* pada suhu 27°C

dengan kecepatan 120 rpm selama 7x24 jam.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Pada akhir hari ketujuh setelah proses fermentasi, dilakukan ekstraksi pada campuran miselium jamur dan broth dengan menggunakan 200 ml aseton. Dilakukan Ekstraksi pada campuran miselium jamur dan broth dengan menggunakan aseton. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan *shaker* pada suhu ruangan dengan kecepatan 150 rpm selama 5 menit. Selanjutnya dipisahkan antara fase air dan aseton menggunakan corong pisah dan kertas saring. Setelah didapatkan filtrat dari hasil penyaringan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator*.

Setelah didapatkan ekstrak kental dari hasil evaporasi, dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 200 ml setelah itu dikocok dalam corong pisah sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan. Masing-masing lapisan ditampung pada wadah yang berbeda. Lapisan H₂O kemudian difraksinasi lagi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 200 ml. Hal ini dilakukan sebanyak tiga kali. Selanjutnya fraksi etil asetat dikumpulkan kemudian pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kasar yang akan digunakan untuk uji aktivitas antimikroba.

Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji dengan cara ditimbang ekstrak kasar jamur dari spons *Callyspongia* sp. sebanyak 1 mg, kemudian dilarutkan dalam 200 µl CMC sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250 µg/50 µl (Ortez, 2005).

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Aktivitas penghambatannya diuji terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (bakteri Gram positif), *Escherichia coli* ATCC 25922 (bakteri Gram negatif) dan *Candida albicans* ATCC 1231 (jamur), yang digunakan sebagai mikroorganisme uji. Pada pengujian aktivitas antimikroba ini, cakram (*paper disc*) yang digunakan berukuran 6 mm. Suspensi mikroba kemudian diinokulasikan ke dalam media dan dihomogenkan. Kemudian media yang telah diinokulasi mikroba dituangkan ke dalam cawan petri dan tunggu sampai media memadat. Masing-masing cawan petri diberi label dan nomor sampel yang sesuai. Sampel yang telah ditentukan konsentrasinya (250 µg/50 µl) ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Letakkan kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji dengan pinset kedalam cawan petri lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam (Ortez, 2005).

Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan mikroba terhadap bahan antimikroba yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepite, 2005). Diameter zona hambat diukur kemudian dikategorikan kekuatan daya antimikrobanya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout (1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Purifikasi Jamur yang Berasosiasi dengan Spons

Sampel yang telah disiapkan kemudian dibersihkan dengan aquades untuk menghilangkan kotoran dan mikroorganisme epifit, sehingga koloni yang tumbuh pada media isolasi merupakan koloni simbiosis (Arnold *et al.*, 2000). Selanjutnya penanaman jamur yang berasosiasi dengan spons dilakukan dengan cara dipotong berukuran kecil kemudian ditanam di atas media PDA yang telah disiapkan dan diinkubasi. Inkubasi merupakan suatu teknik perlakuan bagi mikroorganisme yang telah diinokulasikan pada media padat atau cair, kemudian disimpan pada suhu tertentu untuk dapat melihat pertumbuhannya. Media isolasi diinkubasi selama 7x24 jam pada suhu ruangan dan dipantau setiap hari untuk memeriksa pertumbuhan mikroorganisme koloni dari spons.

Koloni jamur berasosiasi yang tumbuh diamati perbedaan karakteristik secara makroskopik. Pada penelitian ini setelah 7x24 jam, isolat jamur yang tumbuh terlihat seperti benang-benang halus yang berwarna putih. Selanjutnya pemurnian isolat jamur yang tumbuh dilakukan dengan cara diinokulasikan menggunakan jarum ose ke media PDA yang baru dan diinkubasi selama 14x24 jam pada suhu ruangan. Hal ini bertujuan untuk memisahkan koloni-koloni jamur agar didapatkan isolat jamur dengan karakteristik secara makroskopik yang mempunyai morfologi yang sama sehingga dapat disebut sebagai isolat murni jamur.

Kultur Cair

Dalam penelitian ini, isolat jamur dari dikultivasi sebanyak dua kali dengan periode yang berbeda. Kultivasi

pertama dilakukan selama 3x24 jam untuk memperoleh bibit kultur. Setelah hari ketiga dari kultivasi pertama, selanjutnya kultivasi kedua dilakukan selama 7x24 jam untuk memproduksi senyawa dari bibit kultur. Kultivasi dilakukan pada media cair dengan metode *shaker* pada suhu 27⁰C dengan kecepatan 150 rpm, hal ini bertujuan agar semua nutrisi yang dikandung dalam medium dapat digunakan oleh jamur secara optimal sebagai bahan untuk proses metabolismenya sehingga senyawa antimikroba dapat dihasilkan dengan optimal.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Setelah didapatkan hasil produksi dari kultur cair, tahap selanjutnya yang dilakukan adalah ekstraksi. Hasil kultur cair diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut aseton. Proses ekstraksi yang bertujuan untuk memisahkan atau menyari senyawa aktif yang ada di dalam sampel, sehingga adanya suatu proses pemisahan dua atau lebih komponen yang terkandung dalam sampel, oleh suatu pelarut (Suryanto, 2012). Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan metode ekstraksi panas karena dikhawatirkan ada golongan senyawa yang tidak tahan panas. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokkan atau pengadukan pada suhu ruangan. Metode ini termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan (Depkes RI, 2000). Tujuan pemilihan metode maserasi karena merupakan metode yang paling sederhana dan sangat banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan

cara sampel direndam dengan pelarut aseton dan diaduk menggunakan alat *shaker* pada suhu ruangan selama ± 5 menit. Kemudian dipartisi dan filtratnya diuapkan dan diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan pelarut etil asetat. Fraksinasi merupakan metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Fraksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya (Harborne, 1987). Dalam penelitian ini, fraksinasi dilakukan dengan metode FCC (Fraksinasi Cair-Cair). Hal ini bertujuan untuk memisahkan dan memurnikan kandungan tertentu yang terdapat dalam sampel berdasarkan perbedaan kepolaran (DepKes RI, 2000). Dalam fraksinasi cair-cair terjadi perpindahan solut dari satu fasa ke fasa yang lain. Pada fraksinasi cair-cair, fasa yang digunakan adalah dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya digunakan air dan pelarut organik (Harborne, 1987).

Pada penelitian ini, fraksinasi dilakukan menggunakan corong pisah. Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali dengan pelarut etil asetat. Fraksinasi dilakukan dengan cara ekstrak cair dimasukkan ke dalam corong pisah dan dicampur dengan pelarut etil asetat, setelah itu dikocok. Hal ini bertujuan agar kandungan kimia yang terkandung dalam sampel secara selektif dapat ditarik oleh pelarut yang digunakan. Setelah dikocok, didiamkan beberapa menit sehingga terbentuk dua fraksi secara terpisah. Fraksi etil asetat berada di lapisan atas dan fraksi H₂O (air) berada di lapisan bawah. Hal ini disebabkan karena massa jenis air lebih tinggi dari pada massa jenis etil asetat. Selanjutnya, fraksi yang sudah terpisah

ditampung dalam wadah yang berbeda dan perlakuan yang sama dilakukan sebanyak tiga kali. Kemudian F1, F2 dan F3 digabung dan diuapkan menggunakan *Rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar untuk pengujian aktivitas antimikroba.

Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak dari jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. diuji pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 untuk mewakili bakteri golongan Gram positif, *Escherichia coli* ATCC 25922 untuk mewakili bakteri golongan Gram negatif dan *Candida albicans* ATCC 1231 mewakili golongan jamur. Penggunaan mikroba uji ini bertujuan untuk mengetahui bahwa apakah ekstrak kasar dari jamur berasosiasi memiliki aktivitas sebagai antimikroba serta apakah mempunyai spektrum diperluas yaitu dapat membunuh bakteri Gram positif, Gram negatif dan jamur atau mempunyai spektrum sempit yaitu hanya dapat membunuh salah satu dari bakteri Gram positif, Gram negatif atau jamur. Dalam pengujian, menggunakan metode difusi agar. Metode difusi dilakukan dengan cara *disc diffusion* (difusi cakram) yaitu kertas cakram yang berisi agen antimikroba untuk menentukan aktivitas antimikroba. Metode difusi cakram dipilih karena memiliki kelebihan dapat digunakan untuk senyawa non polar, cepat, mudah dan sederhana (Valgas *et al.*, 2007). Kertas cakram yang berisi agen antimikroba diletakkan di permukaan media agar yang sebelumnya telah diinokulasi mikroorganisme uji. Agen antimikroba akan berdifusi dari kertas cakram menuju media agar dan melakukan penghambatan pertumbuhan

mikroorganisme yang diuji. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.

Dalam pengujian, hasil yang diperoleh yaitu terbentuknya zona hambat disekeliling cakram yang berukuran 6 mm yang ditandai dengan area bening. Hal ini menunjukkan bahwa adanya kepekaan mikroba terhadap ekstrak jamur yang diisolasi dari spons genus *Callyspongia* serta antibiotik kolamfenikol yang digunakan sebagai kontrol positif. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali pengulangan dengan tujuan untuk lebih mengakuratkan hasil pengujian yang diperoleh. Kemampuan penghambatan pertumbuhan mikroba uji dipresentasikan oleh terbentuknya zona bening pada pengujian aktivitas antimikroba. Jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, kuinon, fenol, dan lain sebagainya. Senyawa-senyawa ini sebagian besar mempunyai potensi sebagai senyawa bioaktif (Tan dan Zou, 2001).

Hasil pengukuran diameter zona hambat dari ekstrak jamur yang diisolasi dari spons genus *Callyspongia* dilakukan hanya pada satu konsentrasi yaitu konsentrasi 250µg. Dalam pengujian ini digunakan kontrol positif dan negatif. Penggunaan kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji, dengan membandingkan diameter daerah hambat yang terbentuk (Dwijendra, 2014). Sedangkan tujuan penggunaan kontrol negatif agar dapat mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan mikroba uji, sehingga dapat dipastikan bahwa aktivitas yang ditunjukkan oleh ekstrak ialah senyawa

yang terkandung dalam sampel bukan berasal dari pelarut yang digunakan.

Diameter zona hambat diukur secara horizontal dan vertikal menggunakan jangka sorong. Rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat antimikroba ekstrak jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 dan jamur *C. albicans* ATCC 1231.

perlakuan	Rata-Rata Diameter Zona Hambat		
	SA	EC	CA
EEA	11,6	9,66	14,00
K (+)	14,16	12,50	20,00
K (-)	0,00	0,00	0,00

Keterangan:

- EEA : Ekstrak Etil Asetat
- K (+) : Kontrol Positif
- K (-) : Kontrol Negatif
- SA : *Staphylococcus aureus*
- EC : *Escherichia coli*
- CA : *Candida albicans*

Perhitungan rata-rata uji daya hambat ekstrak jamur laut yang berasosiasi dengan Spons *Callyspongia* sp. mengikuti Ahmad A. Adam (2014), rata-rata diameter daya hambat ekstrak jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 11,16, sedangkan antibiotik kloramfenikol (30µg/ml) sebesar 14,16. Kontrol negatif tidak memperlihatkan adanya daya hambat. Rumus luas lingkaran yaitu $Luas = \pi \times r^2$, dengan $\pi = 3,14$ dan $r =$ jari-jari atau diameter lingkaran dibagi dua. Rereata jari-jari zona hambat ekstrak jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. adalah

5,58. Dengan demikian luas zona bening yang dihasilkan yaitu $3,14 \times 5,58 = 17,5212$ mm. Rerata jari-jari zona hambat antibiotik kloramfenikol ($30\mu\text{g/ml}$) yaitu 7,08. Dengan demikian Luas zona bening yang dihasilkan yaitu $3,14 \times 7,08 = 22,2312$ mm. Perbandingan efektivitas ekstrak kasar dari jamur berasosiasi terhadap antibiotik kloramfenikol ($30\mu\text{g/ml}$) dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dapat dihitung berdasarkan rumus $V1 : M1 = V2 : M2$, dengan V merupakan luas zona bening dan M merupakan konsentrasi ekstrak. Jadi $17,5212 : M1 = 22,2312 : 30 \mu\text{g/ml}$, sehingga $17,5212 : M1 = 0,74104$ dan menghasilkan $M1 = 23,644$. Dengan demikian konsentrasi ekstrak kasar jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. ($250\mu\text{g/ml}$) yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan rerata diameter 11,16 setara dengan konsentrasi antibiotik kloramfenikol $23,644 \mu\text{g/ml}$.

Rata-rata diameter daya hambat ekstrak jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 9,66 sedangkan antibiotik kloramfenikol ($30\mu\text{g/ml}$) sebesar 12,50. Rerata jari-jari zona hambat ekstrak jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. adalah 4,83. Dengan demikian luas zona bening yang dihasilkan yaitu $3,14 \times 4,83 = 15,1662$ mm. Rerata jari-jari zona hambat antibiotik kloramfenikol ($30\mu\text{g/ml}$) yaitu 6,25. Dengan demikian Luas zona bening yang dihasilkan yaitu $3,14 \times 6,25 = 19,625$ mm. Perbandingan efektivitas ekstrak kasar jamur berasosiasi terhadap antibiotik kloramfenikol ($30\mu\text{g/ml}$) dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dapat dihitung berdasarkan rumus $V1 : M1 = V2 : M2$. Jadi $15,1662 : M1 = 19,625 : 30$

$\mu\text{g/ml}$, sehingga $15,662 : M1 = 0,6541$ dan menghasilkan $M1 = 23,1863$. Dengan demikian konsentrasi ekstrak kasar jamur berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. ($250\mu\text{g/ml}$) yang menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan rerata diameter 9,66 setara dengan konsentrasi antibiotik kloramfenikol $23,944 \mu\text{g/ml}$.

Rerata jari-jari zona hambat ekstrak jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. adalah 7,00. Dengan demikian luas zona bening yang dihasilkan yaitu $3,14 \times 7,00 = 21,98$ mm. Rerata jari-jari zona hambat antibiotik kloramfenikol ($30\mu\text{g/ml}$) yaitu 10,00. Dengan demikian Luas zona bening yang dihasilkan yaitu $3,14 \times 10,00 = 31,4$ mm. Perbandingan efektivitas ekstrak kasar jamur berasosiasi terhadap antibiotik kloramfenikol ($30\mu\text{g/ml}$) dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* dapat dihitung berdasarkan rumus $V1 : M1 = V2 : M2$. Jadi $21,98 : M1 = 31,4 : 30 \mu\text{g/ml}$, sehingga $21,98 : M1 = 1,0467$ dan menghasilkan $M1 = 20,993$. Dengan demikian konsentrasi ekstrak kasar jamur berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. ($250\mu\text{g/ml}$) yang menghambat pertumbuhan bakteri *C. albicans* dengan rerata diameter 14,00 setara dengan konsentrasi antibiotik kloramfenikol $20,999 \mu\text{g/ml}$.

Penggolongan kekuatan daya antimikroba menurut Davis and Stout (1971), yaitu jika diameter zona bening < 5 mm dikategorikan lemah, zona bening 5-10 mm dikategorikan sedang, zona bening 10-20 mm di kategorikan kuat dan zona bening > 20 mm dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan penggolongan daya antimikroba menurut Davis and Stout (1971), maka rata-rata diameter daya antimikroba ekstrak jamur berasosiasi dengan spons genus *Callyspongia* terhadap

bakteri *Escherichia coli* (9,66 mm) tergolong kategori sedang. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* (11,16 mm) dan jamur *Candida albicans* yaitu (20,00 mm) tergolong kategori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak jamur endofit dari spons *Callyspongia* sp. memiliki aktivitas antimikroba yang lebih peka pada bakteri Gram positif, dibandingkan bakteri Gram negatif. Hal ini dikarenakan *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif dimana, jenis dari bakteri ini memiliki dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan bakteri Gram negatif sehingga senyawa antimikroba lebih mudah masuk ke dalam sel bakteri. Menurut Pelczar (1998) menyatakan bahwa bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Kerusakan sel bakteri tersebut akan menyebabkan terhambatnya biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam suatu reaksi metabolisme. Sedangkan bakteri Gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan dan memiliki membran luar berupa bilayer yang berfungsi sebagai pertahanan selektif untuk senyawa-senyawa yang keluar dan masuk dalam sel bakteri. Sedangkan pada jamur *Candida albicans* memiliki daya hambat pertumbuhan mikroba yang baik pada jamur dengan rata-rata diameter zona hambat yaitu 20,00 mm.

Interpretasi zona hambat dari hasil kultur yang diuji dikatakan resisten jika diameter zona hambat ≤ 10 mm, intermediet jika zona hambat 11-15 mm, dan dikatakan rentan jika diameter zona hambat ≥ 16 mm. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa *S. aureus* dan *E. coli*

resisten terhadap ekstrak jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. dan *C. albicans* intermediet terhadap ekstrak jamur berasosiasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolat jamur yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia* sp. yang diperoleh dari Teluk Manado memiliki daya antimikroba yang dikategorikan sedang terhadap bakteri *E. coli* dan daya antimikroba yang dikategorikan kuat terhadap bakteri *S. aureus* dan jamur *C. albicans*.

SARAN

Perlu diperhatikan sterilisasi selama penelitian di dalam Laboratorium dan pengamatan perlakuan harus dilakukan lebih dari 1 x 24 jam masa inkubasi, agar dapat diketahui metabolit yang terkandung dalam ekstrak jamur berasosiasi bersifat bakterisida atau bakteristatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, A. A., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Tunikata *Polycapra aurata* terhadap *Streptococcus mutans*. *Dentire Journal*. **2(3)**.
- Arnold, A. E., Maynard, Z., Gilbert, G. S., Coley, P. D., Kursat, T. A. 2000. Are Tropical Fungal Endophytes Hyperdiverse. *Ecology Letters*. **3(3)**:267-274.
- Davis, W.W. and Stout, T.R. 1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. Microbiology.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000. *Parameter Standard Umum Ekstrak Tanaman Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dwijendra, I. M. 2014. *Aktivitas Antibakteri dan Karakterisasi Senyawa Fraksi Spons Lamellodysidea herbacea yang Diperoleh dari Teluk Manado* [skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Edrada, R. A., Heubes, M., Brauers, G., Wray, V., Berg, A., Grafe, U., *et al.* 2002. Online Analysis of Xestodecalactones A-C, Novel Bioactive Metabolites from the Fungus *Penicillium* cf. *Montanense* and Their Subsequent Isolation From the Sponge *Xestospongia exigua*. *Journal Natural Product*. (65):188-192.
- Elbandy, M., Shinde, P. B., Hong, J., Bae, K. S., Kim, M. A., Lee, S. M., and Jung, J. H. 2009. α -Pyrone and Yellow Pigments from the Sponge-derived Fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. (30):188-192.
- Handayani, D., *et al.* 2012. Isolation of Citotoxic Compounds from Marine Sponge *Petrosia* sp. *JPB Perikanan*. 7(1):69-76.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. ITB. Bandung.
- Harti, A.S. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mun' im, E. H. Dan Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3(2):127-133.
- Namikoshi, M. 2006. Biologically Active Natural Products from Marine Fungi. *In Biomaterials from Aquatic and Terrestrial Organism*. Publishers: Enfield, USA
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology, America.
- Suciati, Alrosyidi, A. F., Erma N. 2014. Isolasi dan Skrining Antimikroba Jamur Endofit dari Spong Indonesia. *Planta Huada*. 2(2):40-43.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Tan, R. X. And Zou, W. X. 2001. Endophytes: a Rich Source of Functional Metabolites. *Natural Product Reports*. 18, p. 448-459.
- Valgas, C., Souza, S. M. D., Smania, E. F. A. and Artu, S. 2007. Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38, p. 369-380.
- Wiese, J., Brigit, O., Martina, B., Rolf, S., Johanes, F. I. 2011. Phylogenetic Identification of Fungi Isolated from the Marine Sponge *Tethya aurantium* and Identification of Their Secondary Metabolites. *Marine Drugs*. 59 (3):579-585.