

Bioprospecting Ascidian-Associated *Aspergillus* sp. from *Sigillina* sp. in Bunaken as a Source of Bioactive Metabolites: Phytochemical Profiling, Antioxidant–Antimicrobial Activities, and ITS-Based Identification

(Bioprospeksi *Aspergillus* sp. Symbion *Ascidia Sigillina* sp. dari Bunaken sebagai Sumber Metabolit Bioaktif: Profil Fitokimia, Aktivitas Antioksidan-Antimikroba, dan Identifikasi ITS)

Deiske Adeliene Sumilat^{1*}, Rosita A. J. Lintang¹, Grevo S. Gerung¹, Gian Montolalu², Monika M.O. Caroles³

¹Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University, Indonesia

²Natural Resources Division, Regional Secretariat Bitung City, Indonesia

³Aquatic Science Master Program Post Graduated Program, Sam Ratulangi University, Indonesia

*Corresponding author: deiske.sumilat@unsrat.ac.id

Manuscript received: 19 April, 2026. Revision accepted: 27 June 2026

Abstract. This study aimed to isolate a symbiotic fungus from the ascidian *Sigillina* sp. collected from Bunaken waters, evaluate the phytochemical profile of its ethyl acetate extract, determine antioxidant and antimicrobial activities, and identify the isolate using internal transcribed spacer (ITS) sequences. The ascidian sample was collected purposively by SCUBA at 5-13 m depth. Fungal isolation was performed on Potato Dextrose Agar, followed by purification, rice-medium cultivation, ethyl acetate extraction, phytochemical screening, DPPH assay, disc diffusion antimicrobial assay, and ITS-based molecular identification through PCR, sequencing, BLAST, and phylogenetic interpretation. The isolate AFBK 5c produced 0.719 g of dry extract. The extract was positive for phenolics, flavonoids, triterpenoids, tannins, and alkaloids, while steroids and saponins were not detected. DPPH inhibition increased from 51.68% at 25 ppm to 71.19% at 125 ppm, with a linear regression of $y = 0.20112x + 48.002$ ($R^2 = 0.9590$), indicating strong in vitro radical-scavenging capacity. The extract showed selective antimicrobial activity, particularly against *Candida albicans* and *Aeromonas hydrophila*, with inhibition zones up to 15 mm. ITS analysis produced a 779 bp sequence showing 100% similarity to *Aspergillus* sp. These findings indicate that *Aspergillus* sp. AFBK 5c associated with *Sigillina* sp. from Bunaken is a promising preliminary source of bioactive metabolites, although claims should remain limited to crude-extract-based in vitro screening. Keywords: ascidian; *Aspergillus* sp.; antimicrobial; antioxidant; Bunaken; DPPH; marine-derived fungi; *Sigillina* sp.

Abstrak. Penelitian ini bertujuan mengisolasi jamur simbiosis dari ascidia *Sigillina* sp. asal perairan Bunaken, mengevaluasi profil fitokimia ekstrak etil asetat, menentukan aktivitas antioksidan dan antimikroba, serta mengidentifikasi isolat secara molekuler menggunakan sekuens internal transcribed spacer (ITS). Sampel ascidia dikoleksi secara purposive menggunakan SCUBA pada kedalaman 5-13 m. Isolasi jamur dilakukan pada media Potato Dextrose Agar, dilanjutkan pemurnian isolat, kultur pada media nasi, ekstraksi etil asetat, penapisan fitokimia, uji antioksidan DPPH, uji antimikroba difusi cakram, serta identifikasi molekuler melalui PCR, sekuensing ITS, BLAST, dan interpretasi filogenetik. Isolat AFBK 5c menghasilkan ekstrak kering sebesar 0,719 g. Ekstrak menunjukkan hasil positif terhadap fenolik, flavonoid, triterpenoid, tanin, dan alkaloid, sedangkan steroid dan saponin tidak terdeteksi. Inhibisi DPPH meningkat dari 51,68% pada 25 ppm menjadi 71,19% pada 125 ppm, dengan persamaan regresi $y = 0,20112x + 48,002$ ($R^2 = 0,9590$), sehingga menunjukkan kapasitas peredaman radikal bebas in vitro yang kuat. Aktivitas antimikroba bersifat selektif, terutama terhadap *Candida albicans* dan *Aeromonas hydrophila* dengan zona hambat hingga 15 mm. Identifikasi ITS menghasilkan sekuens 779 bp dengan kemiripan 100% terhadap *Aspergillus* sp. Temuan ini menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp. AFBK 5c simbiosis *Sigillina* sp. dari Bunaken berpotensi sebagai sumber awal metabolit bioaktif, dengan klaim yang tetap dibatasi pada skrining in vitro berbasis ekstrak kasar.

Kata kunci: antimikroba; antioksidan; ascidia; *Aspergillus* sp.; Bunaken; DPPH; jamur simbiosis; *Sigillina* sp.

PENDAHULUAN

Ascidia merupakan kelompok Tunicata yang banyak ditemukan pada ekosistem terumbu karang tropis dan memiliki hubungan ekologis erat dengan komunitas mikroba simbiosis. Sebagai organisme filter feeder, ascidia berperan dalam filtrasi partikel organik, siklus nutrisi, dan penyediaan mikrohabitat bagi bakteri, jamur, serta mikroalga laut. Dalam konteks bioprospeksi, ascidia dan mikroorganisme simbiosisnya menarik perhatian karena berpotensi menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri, antijamur, antioksidan, sitotoksik, dan antikanker (Wang et al., 2024; Pan et al., 2025).

Dalam bioprospeksi kelautan, perhatian terhadap mikroorganisme simbiosis terus meningkat karena sebagian metabolit yang sebelumnya dikaitkan dengan invertebrata laut dapat diproduksi, dimodifikasi, atau dimediasi oleh mikroba simbiosis. Jamur laut, termasuk kelompok marine-derived fungi dari genus *Aspergillus*, dikenal memiliki kapasitas metabolik tinggi dan menghasilkan senyawa dengan keragaman struktur serta bioaktivitas yang luas, terutama sebagai antimikroba, antioksidan, dan kandidat bahan alam laut (Li et al., 2023; Wang et al., 2025).

Pendekatan berbasis jamur simbiosis juga memiliki relevansi ekologis karena dapat mengurangi tekanan eksploitasi langsung terhadap organisme inang. Hal ini penting pada kawasan terumbu karang tropis dengan biodiversitas tinggi seperti Bunaken, yang memiliki nilai konservasi sekaligus potensi bioteknologi kelautan. Eksplorasi mikroorganisme kultivabel dari ascidia dapat memberikan alternatif sumber metabolit bioaktif tanpa harus bergantung pada pengambilan biomassa inang dalam jumlah besar.

Kebutuhan terhadap sumber antioksidan dan antimikroba baru tetap menjadi isu penting dalam riset bahan alam laut. Aktivitas antioksidan sering disaring menggunakan metode DPPH karena sederhana, cepat, ekonomis, dan dapat menggambarkan kemampuan donor hidrogen atau elektron dari senyawa antioksidan (Gülçin & Alwasel, 2023). Keberadaan fenolik dan flavonoid pada ekstrak mikroba sering dikaitkan dengan kapasitas peredaman radikal bebas melalui stabilisasi molekul reaktif (Vitale et al., 2020).

Informasi mengenai jamur simbiosis ascidia dari perairan Bunaken masih lebih terbatas dibandingkan studi bioprospeksi mikroba dari spons, sedimen, atau mangrove. Penelitian ini berfokus pada isolasi jamur simbiosis dari ascidia *Sigillina* sp. asal perairan Bunaken, Sulawesi Utara, serta evaluasi profil fitokimia, aktivitas antioksidan, aktivitas antimikroba, dan identifikasi molekuler berbasis ITS. Penanda ITS digunakan karena diterima luas sebagai barcode utama fungi, tetapi interpretasi tingkat spesies pada genus kompleks seperti *Aspergillus* tetap perlu dibatasi (Schoch et al., 2012; Baturo-Cieśniewska et al., 2020; Qi et al., 2024).

METODE

Rancangan penelitian dan lokasi pengambilan sampel

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksploratif laboratorium untuk mengisolasi dan mengevaluasi potensi bioaktivitas jamur simbiosis ascidia. Sampel ascidia dikoleksi dari perairan Pulau Bunaken, Sulawesi Utara, menggunakan metode purposive sampling. Pengambilan sampel dilakukan dengan bantuan SCUBA pada kedalaman 5-13 m. Sampel didokumentasikan, dicatat, dimasukkan ke dalam plastik sampel steril, kemudian dibawa ke laboratorium untuk penanganan lebih lanjut.

Identifikasi ascidia dan isolasi jamur simbiosis

Identifikasi ascidia dilakukan secara morfologis berdasarkan bentuk tubuh, warna, tekstur permukaan, karakter koloni, dan ciri eksternal lain yang dapat diamati. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diidentifikasi sebagai *Sigillina* sp. Sebelum isolasi jamur, sampel dibilas menggunakan air laut steril untuk mengurangi kontaminan permukaan. Isolasi jamur dilakukan dengan memotong jaringan ascidia berukuran sekitar 1 x 1 cm. Potongan jaringan dibilas menggunakan air laut steril, direndam dalam etanol 70% selama 1-2 menit untuk sterilisasi permukaan, kemudian dibilas kembali menggunakan air laut steril. Potongan jaringan ditanam pada media Potato Dextrose Agar dalam kondisi aseptis di laminar air flow. Inkubasi dilakukan selama 72 jam pada suhu ruang. Koloni jamur yang tumbuh di sekitar jaringan ascidia dipindahkan ke media PDA baru hingga diperoleh isolat murni.

Kultur, ekstraksi, dan pengeringan ekstrak

Isolat murni dikultur pada media nasi selama 14 hari. Setelah masa kultur selesai, ekstraksi dilakukan menggunakan etil asetat melalui metode maserasi. Kultur jamur dihancurkan perlahan, kemudian dimaserasi dengan etil asetat sebanyak tiga kali. Filtrat disaring dan diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak kasar dikeringkan menggunakan freeze dryer hingga diperoleh ekstrak kering.

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etil asetat untuk mendeteksi golongan fenolik, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Uji fenolik dilakukan menggunakan FeCl₃ 5%, flavonoid menggunakan HCl pekat dan Mg, steroid serta triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, saponin menggunakan HCl dan akuades, tanin menggunakan FeCl₃ 1%, serta alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Data kuantitatif fenol, tanin, dan flavonoid dilaporkan sebagai nilai absorbansi sesuai lembar uji laboratorium, tanpa konversi menjadi kadar absolut karena kurva standar tidak tersedia pada data laboratorium.

Uji aktivitas antioksidan DPPH

Aktivitas antioksidan ekstrak diuji menggunakan metode DPPH pada konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus: inhibisi (%) = [(A kontrol - A sampel) / A kontrol] x 100. Hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persentase inhibisi disajikan dalam bentuk kurva regresi linear.

Uji aktivitas antimikroba

Uji antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi cakram terhadap *C. albicans*, *A. hydrophila*, *E. coli*, *Salmonella* sp., dan *S. aureus*. Ekstrak diuji pada konsentrasi 10.000 ppm. Kloramfenikol 1.000 ppm digunakan sebagai kontrol positif untuk bakteri, sedangkan metanol p.a. digunakan sebagai kontrol negatif. Diameter zona hambat diukur dalam milimeter setelah inkubasi 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam.

Identifikasi molekuler dan analisis filogenetik

Identifikasi molekuler dilakukan menggunakan penanda ITS1-4. DNA jamur diisolasi menggunakan kit ekstraksi DNA fungi/bakteri. Amplifikasi PCR dilakukan menggunakan primer ITS1 dan ITS4 (White et al., 1990), kemudian produk amplifikasi dianalisis melalui elektroforesis gel agarosa. Produk PCR disekuensing dua arah, dan hasil sekuens dibandingkan dengan basis data NCBI menggunakan BLAST. Analisis filogenetik dilakukan berdasarkan sekuens ITS dan sekuens pembanding. Karena marker ITS tunggal memiliki keterbatasan resolusi pada *Aspergillus*, identifikasi dalam penelitian ini dibatasi sampai tingkat *Aspergillus* sp.

Analisis data

Data fitokimia dianalisis secara deskriptif berdasarkan keberadaan atau ketiadaan kelompok metabolit sekunder dan nilai absorbansi yang tercatat. Data antioksidan dianalisis berdasarkan persentase inhibisi DPPH dan pola regresi konsentrasi-respons. Data antimikroba dianalisis berdasarkan diameter zona hambat pada setiap mikroorganisme uji. Data molekuler dianalisis secara deskriptif berdasarkan panjang sekuens, hasil BLAST, persentase kemiripan, dan posisi taksonomi isolat.

HASIL

Identifikasi ascidia dan isolasi jamur simbion

Sampel ascidia yang diperoleh dari perairan Bunaken diidentifikasi secara morfologis sebagai *Sigillina* sp. Ciri morfologi yang diamati meliputi bentuk tubuh bulat hingga oval, permukaan halus, warna putih keabu-abuan, tekstur lunak, dan kecenderungan hidup berkoloni pada substrat keras. Dari sampel tersebut diperoleh isolat jamur simbion dengan kode AFBK 5c. Pertumbuhan awal jamur terlihat setelah inkubasi 3 x 24 jam pada media PDA, ditandai dengan munculnya hifa di sekitar potongan jaringan ascidia. Koloni kemudian dimurnikan melalui rekultur berulang hingga diperoleh isolat dengan morfologi relatif homogen. Foto inang ascidia yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 1.

Profil fitokimia ekstrak etil asetat AFBK 5c

Isolat AFBK 5c yang telah dikultur pada media nasi selama 14 hari diekstraksi menggunakan etil asetat. Setelah penguapan pelarut dan pengeringan menggunakan freeze dryer, diperoleh ekstrak kering sebesar 0,719 g. Penapisan fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat AFBK 5c

mengandung fenolik, flavonoid, triterpenoid, tanin, dan alkaloid. Hasil negatif diperoleh pada steroid dan saponin. Profil ini menunjukkan dominasi kelompok metabolit dengan polaritas menengah yang relevan dengan aktivitas antioksidan dan antimikroba.



Gambar 1. Inang ascidia *Sigillina* sp. dari perairan Bunaken yang digunakan sebagai sumber isolat jamur simbiosis AFBK 5c.

Tabel 1. Ringkasan isolat, sumber, dan ekstraksi AFBK 5c.

Parameter	Hasil
Kode isolat	AFBK 5c
Inang	<i>Sigillina</i> sp.
Lokasi	Perairan Bunaken, Sulawesi Utara
Media kultur	Nasi
Lama kultur	14 hari
Pelarut ekstraksi	Etil asetat
Berat ekstrak kering	0,719 g

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia kualitatif ekstrak etil asetat AFBK 5c.

Metabolit sekunder	Metode uji	Hasil
Fenolik	FeCl ₃ 5%	+
Flavonoid	HCl pekat + Mg	+
Steroid	Liebermann-Burchard	-
Triterpenoid	Liebermann-Burchard	+
Saponin	HCl + akuades	-
Tanin	FeCl ₃ 1%	+
Alkaloid	Mayer	+
Alkaloid	Wagner	+
Alkaloid	Dragendorff	+

Keterangan: tanda (+) menunjukkan metabolit terdeteksi secara kualitatif; tanda (-) menunjukkan metabolit tidak terdeteksi pada kondisi uji.

Tabel 3. Nilai absorbansi uji fitokimia kuantitatif ekstrak etil asetat AFBK 5c.

Kode sampel	Fenol I-II-III	Tanin I-II-III	Flavonoid I-II-III	Keterangan
AFBK 5c	0,195; 0,145; 0,160	0,066; 0,071; 0,074	0,086; 0,086; 0,083	Data dilaporkan sebagai absorbansi

Keterangan: data kuantitatif disajikan sebagai absorbansi karena kurva standar dan satuan kadar ekuivalen tidak tersedia pada data laboratorium.



Gambar 2. Perubahan visual ekstrak AFBK 5c sebelum dan sesudah penambahan pereaksi fitokimia kualitatif. A = Wagner, B = Mayer, C = Dragendorff.

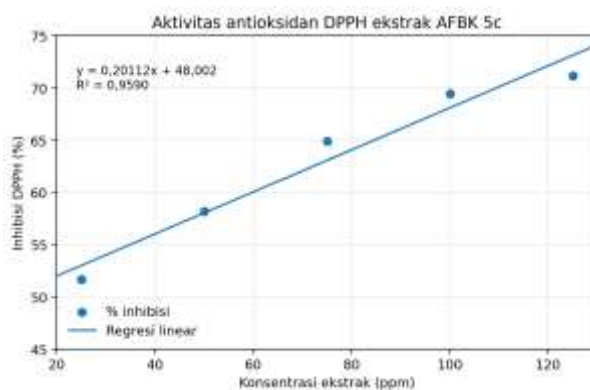
Aktivitas antioksidan

Uji DPPH menunjukkan peningkatan persentase inhibisi seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Pada konsentrasi 25 ppm, ekstrak AFBK 5c telah menunjukkan inhibisi 51,68%, kemudian meningkat menjadi 58,19% pada 50 ppm, 64,92% pada 75 ppm, 69,45% pada 100 ppm, dan 71,19% pada 125 ppm. Karena inhibisi pada konsentrasi terendah telah melampaui 50%, nilai IC50 berada di bawah 25 ppm berdasarkan rentang konsentrasi yang diuji. Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 0,20112x + 48,002$ dengan $R^2 = 0,9590$.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan DPPH ekstrak AFBK 5c.

Konsentrasi ekstrak (ppm)	Absorbansi 517 nm (rerata ± SD)	Inhibisi DPPH (%)	Interpretasi
25	0,386 ± 0,048	51,68	Aktif pada konsentrasi rendah
50	0,360 ± 0,058	58,19	Meningkat
75	0,334 ± 0,069	64,92	Meningkat
100	0,315 ± 0,062	69,45	Meningkat
125	0,299 ± 0,061	71,19	Tertinggi pada rentang uji
Regresi linear	-	$y = 0,20112x + 48,002$; $R^2 = 0,9590$	IC50 < 25 ppm pada rentang uji

Keterangan: nilai absorbansi dihitung sebagai rerata ± SD dari nilai pengukuran yang tersedia pada setiap konsentrasi; persentase inhibisi mengikuti data uji yang diberikan.



Gambar 3. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak AFBK 5c dan persentase inhibisi DPPH.

Aktivitas antimikroba

Uji antimikroba menunjukkan bahwa ekstrak AFBK 5c memiliki aktivitas selektif terhadap beberapa mikroorganisme uji. Aktivitas paling menonjol terlihat terhadap *C. albicans* dan *A. hydrophila*. Pada *C. albicans*, zona hambat mencapai 15 mm pada pengamatan 1 x 24 jam dan tetap 15 mm pada 2 x 24 jam. Pada *A. hydrophila*, zona hambat berkisar 8-9 mm pada 1 x 24 jam dan meningkat menjadi 11 mm pada 2 x 24 jam. Aktivitas terhadap *E. coli* dan *Salmonella sp.* berada pada kisaran 7 mm atau tidak terdeteksi pada sebagian ulangan, sedangkan *S. aureus* tidak menunjukkan zona hambat pada kondisi uji ini.

Tabel 5. Diameter zona hambat ekstrak AFBK 5c terhadap mikroorganisme uji.

Mikroorganisme uji	1 x 24 jam U1		1 x 24 jam U2		2 x 24 jam U1		2 x 24 jam U2		Rentang zona hambat ekstrak (mm)	Interpretasi
	1	2	1	2	1	2	1	2		
	<i>Candida albicans</i>	-	15	-	15	-	15	-		
<i>Aeromonas hydrophila</i>	8	9	11	11	8-11				8-11	Sedang-menonjol
<i>Escherichia coli</i>	7	-	7	-	7 atau terdeteksi				7 atau tidak terdeteksi	Lemah-selektif
<i>Salmonella sp.</i>	7	7	7	7	7				7	Lemah
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	Tidak terdeteksi				Tidak terdeteksi	Tidak aktif pada kondisi uji

Keterangan: ekstrak diuji pada konsentrasi 10.000 ppm; tanda (-) menunjukkan tidak terbentuk zona hambat pada ulangan tersebut. Kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat pada seluruh mikroorganisme uji.

Identifikasi molekuler

Identifikasi molekuler menggunakan sekuens ITS menghasilkan fragmen berukuran 779 bp. Hasil BLAST menunjukkan bahwa isolat AFBK 5c memiliki kemiripan 100% dengan *Aspergillus* sp. dan berasal dari inang *Sigillina* sp. Temuan ini menunjukkan bahwa isolat jamur simbiosis tersebut termasuk dalam kelompok *Aspergillus*. Secara taksonomi, *Aspergillus* termasuk filum Ascomycota, sehingga interpretasi naskah dibatasi pada *Aspergillus* sp. sampai tersedia marker tambahan atau karakterisasi molekuler yang lebih rinci.

Tabel 6. Hasil identifikasi molekuler berbasis ITS isolat AFBK 5c.

Isolat	Panjang sekuens	Kecocokan BLAST terdekat	Kemiripan	Inang ascidia
AFBK 5c	779 bp	<i>Aspergillus</i> sp.	100%	<i>Sigillina</i> sp.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menegaskan bahwa ascidia *Sigillina* sp. dari perairan Bunaken dapat berperan sebagai mikrohabitat bagi jamur simbiosis kultivabel yang berpotensi menghasilkan metabolit bioaktif. Temuan ini relevan secara ekologis karena ascidia merupakan komponen penyusun komunitas terumbu karang yang memiliki fungsi filtrasi, menyediakan ruang mikro bagi asosiasi mikroba, dan telah dilaporkan sebagai biota dengan nilai ekologis serta farmakologis di kawasan pesisir Manado (Palit et al., 2022). Dengan demikian, isolasi AFBK 5c tidak hanya memberikan informasi bioprospeksi, tetapi juga memperluas basis data mikroba simbiosis dari ekosistem terumbu karang Bunaken.

Keberhasilan memperoleh isolat AFBK 5c mendukung arah riset marine natural products modern yang semakin menempatkan mikroorganisme simbiosis sebagai sumber metabolit alternatif. Pendekatan ini penting karena eksplorasi langsung terhadap invertebrata laut dapat menimbulkan tekanan ekologis apabila tidak dikendalikan. Jamur laut, khususnya *Aspergillus* dari sumber laut, dilaporkan sebagai kelompok produktif yang menghasilkan beragam metabolit sekunder dengan aktivitas antimikroba, antioksidan, sitotoksik, dan bioaktivitas lain (Li et al., 2023; Wang et al., 2024; Wang et al., 2025). Oleh karena itu, penggunaan isolat kultivabel seperti AFBK 5c merupakan strategi yang lebih sesuai dengan prinsip bioprospeksi berkelanjutan.

Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa AFBK 5c memiliki panjang sekuens ITS 779 bp dan kemiripan 100% terhadap *Aspergillus* sp. Hasil ini cukup kuat untuk menempatkan isolat dalam genus *Aspergillus*, tetapi belum cukup untuk menetapkan identitas pada tingkat spesies. Wilayah ITS memang diterima luas sebagai barcode primer fungi (Schoch et al., 2012), namun beberapa anggota Ascomycota dan kelompok *Aspergillus* yang berkerabat dekat dapat menunjukkan kemiripan ITS tinggi sehingga membutuhkan marker tambahan atau pendekatan multilokus untuk resolusi taksonomi yang lebih baik (Hoang et al., 2019; Baturó-Cieśniewska et al., 2020; Qi et al., 2024). Karena itu, penggunaan nama *Aspergillus* sp. dalam penelitian ini merupakan pilihan taksonomi yang tepat dan proporsional.

Profil fitokimia ekstrak etil asetat AFBK 5c memperlihatkan keberadaan fenolik, flavonoid, triterpenoid, tanin, dan alkaloid, sedangkan steroid dan saponin tidak terdeteksi. Data kuantitatif tambahan berupa nilai absorbansi fenol (0,145-0,195), tanin (0,066-0,074), dan flavonoid (0,083-0,086) memperkuat hasil penapisan kualitatif, meskipun belum dapat dikonversi menjadi kadar ekuivalen karena kurva standar tidak tersedia. Ekstrak ini memiliki indikasi kandungan metabolit sekunder dengan polaritas menengah yang terlarut dalam etil asetat, bukan sebagai pembuktian kadar absolut senyawa.

Keberadaan fenolik dan flavonoid sejalan dengan aktivitas antioksidan yang terukur pada uji DPPH. Secara kimia, senyawa fenolik dan flavonoid dapat berperan sebagai donor hidrogen atau elektron sehingga membantu menstabilkan radikal bebas melalui delokalisasi elektron pada cincin aromatik (Vitale et al., 2020). Pada penelitian ini, inhibisi DPPH meningkat dari 51,68% pada 25 ppm menjadi 71,19% pada 125 ppm, dengan hubungan konsentrasi-respons yang baik ($R^2 = 0,9590$). Karena inhibisi telah melebihi 50% pada konsentrasi terendah yang diuji, nilai IC₅₀ berada di bawah 25 ppm dalam rentang pengujian yang tersedia.

Meskipun demikian, klaim antioksidan perlu tetap dibatasi sebagai aktivitas in vitro berbasis DPPH. Metode DPPH tepat digunakan sebagai skrining awal karena sederhana, cepat, dan

menggambarkan kemampuan senyawa mereduksi radikal stabil pada 517 nm (Gülçin & Alwasel, 2023). Namun, aktivitas antioksidan dalam sistem biologis lebih kompleks karena dapat melibatkan kelasi logam, inhibisi lipid peroksidasi, modulasi enzim antioksidan, dan interaksi dengan matriks seluler (Shahidi & Samarasinghe, 2025). Oleh sebab itu, hasil DPPH pada AFBK 5c menunjukkan potensi awal yang kuat, tetapi belum dapat langsung diterjemahkan sebagai efek biologis *in vivo*.

Uji antimikroba menunjukkan bahwa ekstrak AFBK 5c memiliki aktivitas selektif terhadap mikroorganisme uji. Aktivitas paling menonjol terlihat terhadap *C. albicans* dengan zona hambat mencapai 15 mm pada pengamatan 1 x 24 jam dan tetap teramati pada 2 x 24 jam. Aktivitas terhadap *A. hydrophila* juga terdeteksi dengan zona hambat 8-11 mm, sedangkan aktivitas terhadap *E. coli* dan *Salmonella* sp. berada pada kisaran lebih rendah. Pada *S. aureus*, zona hambat tidak teramati pada kondisi pengujian yang digunakan. Pola ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar AFBK 5c tidak bersifat antimikroba umum terhadap semua mikroorganisme, tetapi memperlihatkan spektrum selektif.

Aktivitas terhadap *C. albicans* dan *A. hydrophila* memberi nilai relevansi yang berbeda. Aktivitas terhadap *C. albicans* menunjukkan potensi antijamur, sedangkan aktivitas terhadap *A. hydrophila* penting dalam konteks perikanan dan akuakultur karena bakteri ini dikenal sebagai patogen oportunistik pada ikan. Review mengenai metabolit jamur laut menunjukkan bahwa senyawa antimikroba dari marine-derived fungi dapat berasal dari berbagai kelompok kimia, termasuk poliketida, alkaloid, terpenoid, peptida, dan senyawa aromatik lain (Wang et al., 2021; Pan et al., 2025). Dengan demikian, aktivitas AFBK 5c kemungkinan berkaitan dengan kombinasi metabolit yang terdeteksi pada ekstrak, meskipun senyawa aktifnya belum dapat ditentukan dari data saat ini.

Perbandingan dengan penelitian terdahulu dari kawasan Bunaken menunjukkan konsistensi bahwa jamur terkait ascidia, termasuk *Aspergillus*, dapat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas terhadap mikroba uji yang relevan. Sumilat et al. (2020) melaporkan aktivitas antimikroba dari Rhopalaea-associated *Aspergillus flavus* strain MFABU9 terhadap beberapa mikroorganisme, termasuk *E. coli*, *S. aureus*, *A. hydrophila*, dan *C. albicans*. Selain itu, laporan mengenai sponge-derived marine fungi di Indonesia juga menunjukkan bahwa jamur laut berpotensi sebagai sumber antibakteri dan inhibitor biofilm (Wigati et al., 2024). Perbedaan intensitas dan spektrum aktivitas antarstudi dapat dipengaruhi oleh strain jamur, jenis inang, media fermentasi, pelarut ekstraksi, konsentrasi ekstrak, serta komposisi metabolit yang terbentuk selama kultur.

Kekuatan utama penelitian ini terletak pada integrasi sumber biologis lokal, data fitokimia, aktivitas antioksidan, aktivitas antimikroba, dan identifikasi molekuler berbasis ITS dalam satu alur bioprospeksi. Nilai kebaruannya tidak perlu dinarasikan sebagai penemuan senyawa baru, tetapi sebagai kontribusi data awal mengenai *Aspergillus* sp. symbion *Sigillina* sp. dari Bunaken sebagai reservoir metabolit bioaktif. Formulasi ini lebih akurat untuk penelitian yang menggunakan ekstrak kasar dan sejalan dengan standar kehati-hatian dalam penelitian bahan alam laut.

Penelitian ini masih mengevaluasi satu isolat utama, menggunakan ekstrak kasar, dan belum mencakup fraksinasi bioassay-guided, karakterisasi senyawa aktif, MIC, MBC, MFC, maupun uji mekanisme biologis lanjutan. Identifikasi molekuler juga masih berbasis ITS tunggal. Oleh karena itu, hasil penelitian dapat dikatakan sebagai skrining awal yang kuat dan relevan untuk pengembangan riset lanjutan mengenai metabolit bioaktif jamur symbion ascidia dari Bunaken.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ascidia *Sigillina* sp. dari perairan Bunaken merupakan sumber potensial jamur symbion kultivabel penghasil metabolit bioaktif. Isolat AFBK 5c berhasil diisolasi, dikultur pada media nasi, dan diekstraksi menggunakan etil asetat hingga menghasilkan ekstrak kering 0,719 g. Ekstrak tersebut mengandung fenolik, flavonoid, triterpenoid, tanin, dan alkaloid, sedangkan steroid dan saponin tidak terdeteksi.

Ekstrak AFBK 5c memperlihatkan aktivitas antioksidan kuat pada skrining DPPH, dengan inhibisi 51,68-71,19% pada konsentrasi 25-125 ppm dan nilai IC₅₀ berada di bawah 25 ppm dalam rentang konsentrasi yang diuji. Aktivitas antimikroba bersifat selektif, terutama terhadap *C. albicans* dengan zona hambat hingga 15 mm dan *A. hydrophila* dengan zona hambat 8-11 mm. Identifikasi molekuler berbasis ITS menghasilkan sekuens 779 bp dengan kemiripan 100% terhadap *Aspergillus* sp.,

sehingga isolat AFBK 5c secara proporsional diidentifikasi sebagai *Aspergillus* sp. sambilan *Sigillina* sp. Temuan ini mendukung potensi AFBK 5c sebagai sumber awal metabolit bioaktif laut, namun penelitian lanjutan melalui fraksinasi, karakterisasi senyawa, uji MIC/MBC/MFC, dan marker molekuler tambahan tetap diperlukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sam Ratulangi atas dukungan pendanaan penelitian melalui Skema RDUU-K1 Tahun 2024 dengan penganggaran dari DIPA No. SP DIPA - 023.17.2.677519/2024, Universitas Sam Ratulangi. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Genetika Science Jakarta atas dukungan analisis molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Baturo-Cieśniewska, A., Pusz, W., & Patejuk, K. (2020). Problems, limitations, and challenges in species identification of Ascomycota members on the basis of ITS regions. *Acta Mycologica*, 55(1), 5512. <https://doi.org/10.5586/am.5512>
- Gülçin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hoang, M. T. V., Irinyi, L., Chen, S. C. A., Sorrell, T. C., & Meyer, W. (2019). Dual DNA barcoding for the molecular identification of the agents of invasive fungal infections. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1647. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01647>
- Li, H., Fu, Y., & Song, F. (2023). Marine *Aspergillus*: A treasure trove of antimicrobial compounds. *Marine Drugs*, 21(5), 277. <https://doi.org/10.3390/md21050277>
- Palit, C., Sumilat, D. A., Rumengan, A. P., Boneka, F. B., Sinjal, C. A. L., & Lalita, J. (2022). Komunitas dan keanekaragaman ascidia di Pesisir Minanga, Malalayang Satu, Kota Manado. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 10(2), 219-225. <https://doi.org/10.35800/jplt.10.2.2022.54995>
- Pan, C., Hassan, S. S. U., Muhammad, I., & Jin, H. (2025). Marine fungi as a goldmine for novel antibiotics: A 2024 perspective. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1538136. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1538136>
- Qi, G., Hao, L., Gan, Y., Xin, T., Lou, Q., Xu, W., & Song, J. (2024). Identification of closely related species in *Aspergillus* through Analysis of Whole-Genome. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1323572. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1323572>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., & Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16), 6241-6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Shahidi, F., & Samarasinghe, A. (2025). How to assess antioxidant activity? Advances, limitations, and applications of in vitro, in vivo, and ex vivo approaches. *Food Production, Processing and Nutrition*, 7, 50. <https://doi.org/10.1186/s43014-025-00326-z>
- Sumilat, D. A., Ginting, E. L., Pollo, G. A. V., Adam, A. A., & Tallei, T. E. (2020). Antimicrobial activities of *Rhopalaea*-associated fungus *Aspergillus flavus* strain MFABU9. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23(1), 1-6.
- Vitale, G. A., Coppola, D., Palma Esposito, F., Buonocore, C., Ausuri, J., Tortorella, E., & de Pascale, D. (2020). Antioxidant molecules from marine fungi: Methodological approaches and perspectives. *Marine Drugs*, 18(12), 645. <https://doi.org/10.3390/md18120645>

- Wang, B., Cai, J., Huang, L., Chen, Y., Wang, R., Luo, M., Yang, M., Zhang, M., Nasihat, Chen, G., Huang, G., & Zheng, C. (2024). Significance of research on natural products from marine-derived *Aspergillus* species as a source against pathogenic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1464135. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1464135>
- Wang, C., Tang, S., & Cao, S. (2021). Antimicrobial compounds from marine fungi. *Phytochemistry Reviews*, 20(1), 85-117. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09705-5>
- Wang, Z., Zhao, M., Li, C., Yu, Y., Gong, Z., Kong, F., & Li, C. (2025). Recent advances in secondary metabolites from marine *Aspergillus*. *Marine Drugs*, 23(10), 400. <https://doi.org/10.3390/md23100400>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322). Academic Press.
- Wigati, D., Setyowati, E. P., Pratiwi, S. U. T., & Nugraha, A. S. (2024). Promising sponge-derived marine fungi as antibacterial and biofilm inhibitors. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 14(4), 14-34. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2024.161885>