

Isolasi dan Skrining Antimikroba Jamur Endofit dari Beberapa Spong Indonesia

Suciati, Achmad Faruk Alrosyidi, Rakhmawati dan Noor Erma Sugijanto
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Abstract

Marine organisms such as sponges, algae and tunicate have been known as the source of unique and bioactive metabolites. Unlike other marine organisms, research on marine derived fungi has only been started recently. Marine fungi received increasing interest since they produce many fascinating metabolites with various biological activities, such as antimicrobial activity. This study was aimed to isolate endophytic fungi from marine habitat. Several sponges and algae were collected. The freshly cut sponges and algae specimens were inoculated onto agar media. Three fungi were successfully isolated from two sponges. Antimicrobial assay was carried out for the ethanolic extract of the fungi by using disk diffusion method. The result showed that extract of marine fungus coded F17-5-14-3 inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* at concentration of 1000 ppm and inhibited the growth of *Vibrio cholerae* at 2000 ppm.

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotika untuk penanganan penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur atau bakteri sudah dikenal sejak berabad-abad yang lalu. Pemakaian antibiotika ini semakin meningkat dalam 5 dekade terakhir, hal ini tidak hanya terjadi di Indonesia tapi di negara-negara maju. Munculnya kuman-kuman patogen yang kebal terhadap jenis antibiotika tertentu merupakan permasalahan yang saat ini sedang dihadapi dalam pengobatan penyakit infeksi. Oleh karena itu diperlukan jenis antibiotika baru untuk penanganan penyakit infeksi tersebut.

Jamur telah dikenal sebagai penghasil antibiotika sejak ditemukannya penisilin dari *Penicilium notatum* pada 1928 oleh Alexander Flemming. Sejak penemuan ini, berbagai mikroorganisme lain diteliti untuk kepentingan pengobatan. Beberapa contoh antibiotika lain yang berasal dari jamur adalah griseofulvin dari *penicilium griseofulvum* dan fumagilin dari *Aspergillus* spp. Contoh-contoh antibiotika yang disebutkan diatas semuanya berasal dari habitat terestrial. Potensi jamur dari biota laut (*marine-derived fungi*) sebagai penghasil antibiotika sebenarnya 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. (1; 2)

Sebagai negara tropis dan negara kepulauan, Indonesia juga kaya akan biota laut, bahkan Indonesia diyakini sebagai pusat dan daerah paling kaya akan biota laut di Indo-Pasifik bagian barat. Telah dilaporkan bahwa di negara kita terdapat hampir 830 jenis spong yang diyakini dapat menghasilkan metabolit sekunder yang bervariasi. Beragamnya metabolit sekunder ini sebagai akibat ancaman predator laut juga karena ancaman infeksi mikroba yang tinggi di daerah laut tropis. (3; 4) Biota-biota laut yang telah banyak diteliti kandungannya adalah, spong, alga, Coelenterata, Bryozoans, Moluska, Tunicates (*ascidians*) dan Echinodermata. (5) Penelitian tentang jamur dari biota laut (*marine-derived fungi*) yang berasal dari Indonesia jumlahnya masih sedikit, padahal jika dilihat dari keanekaragaman biota laut di negara kita, potensi *marine-derived fungi* sebagai

penghasil metabolit sekunder juga besar. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan skrining antimikroba dari jamur biota laut yang diambil dari beberapa spong di Indonesia.

Metodologi

Bahan. Beberapa spong diperoleh dari sekitar pulau Barrang Lompo, Makassar, Sulawesi Selatan pada 17 Mei 2014. Sampel diambil dengan cara Scuba diving pada kedalaman 8 – 10 meter.

Isolasi Jamur Endofit. Spong segar yang diperoleh dipotong kecil dan dilakukan sterilisasi permukaan (*surface sterilization*) dengan cara mencuci potongan spong dengan air laut buatan steril. Spong dikultivasi di atas media malt ekstrak atau nutrient agar yang dibuat dengan air laut buatan. Inkubasi dilakukan pada suhu ruangan selama 7-14 hari, jamur yang tumbuh kemudian dimurnikan dengan cara *streak purification* sehingga diperoleh tiga jamur endofit dengan kode F17-5-14-1a, F17-5-14-1b dan F17-5-14-3.

Ekstraksi. Jamur endofit yang telah diisolasi ditumbuhkan pada media malt ekstrak agar yang dibuat dengan air laut buatan. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 6 minggu. Pada akhir minggu ke enam dilakukan ekstraksi pada campuran miselium jamur dan media kultivasi dengan menggunakan etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan ultrasonik 3 x 10 menit tiap ekstraksi. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat dikumpulkan kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental F17-5-14-1a, F17-5-14-1b dan F17-5-14-3 sebanyak masing-masing 389, 326, 397 mg..

Uji antimikroba. Uji aktivitas antimikroba dilakukan pada ekstrak etanol jamur endofit terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Vibrio cholera* dengan metode difusi. Ekstrak diuji pada konsentrasi 1000 dan 2000 ppm. Kontrol positive digunakan ciprofloxacin 5 ppm dan kontrol negative adalah etanol. Aplikasi sampel/kontrol pada paper disk atau sumur masing-masing sebanyak 60 µL. Dibuat replikasi 5 kali untuk sampel, dan untuk kontrol positive/negative 3 kali replikasi. dilakukan pada suhu 37°C, setelah 24 jam inkubasi dilakukan pengamatan zona hambatan. (6)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari dua spong yang dikoleksi telah berhasil diisolasi tiga jenis jamur endofit. Pada spong 17-5-14-1 diamati ada dua jenis jamur endofit yang tumbuh berdasarkan pengamatan secara fisik, yaitu F17-5-14-1a dan F17-5-14-1b. Endofit F17-5-14-1a berwarna hitam dan tumbuh memanjang sesuai goresan dari ose, sedangkan endofit F17-5-14-1b awalnya berwarna putih, namun setelah beberapa minggu berubah menjadi kehitaman. Endofit F17-5-14-1b tumbuh menggerombol membentuk koloni yang berupa bulatan atau lingkaran (Gambar 1).

Dari hasil pengamatan mikroskop jamur endofit F17-5-14-1a dan F17-5-14-1b (Gambar 2) memiliki bentuk koloni yang sama, yaitu berbentuk bulatan-bulatan, namun pengamatan secara visual warna koloni berbeda F17-5-14-1a berwarna putih, sedangkan F17-5-14-1b berwarna hitam. Jamur endofit F17-5-14-3 berwarna putih dan berupa hifa yang memanjang. Identifikasi berdasarkan foto mikroskopis jamur

endofit hanya dapat menyimpulkan bahwa ketiga isolat jamur endofit berasal dari kelas Deuteromycetes. Beberapa jamur dari kelas Deuteromycetes adalah *Penicillium* dan *Aspergillus*, yang dikenal sebagai penghasil antibiotika. Dari pengamatan mikroskopi jamur endofit tersebut belum dapat disimpulkan identitas isolat jamur endofit.

Berdasarkan hasil uji yang disajikan pada Tabel 1 - 3 serta Gambar 3 dapat dilihat bahwa ekstrak etanol jamur endofit F17-5-14-3 pada konsentrasi 1000 dan 2000 ppm menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Pada konsentrasi 2000 ppm ekstrak etanol F17-5-14-3 menunjukkan hambatan terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang setara dengan ciprofloxacin 5 ppm. Endofit F17-5-14-3 juga menghambat pertumbuhan *V. cholerae* pada konsentrasi 2000 ppm. Sedangkan jamur endofit F17-5-14-1a dan F17-5-14-1b tidak menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli* maupun *V. cholerae*.

Jamur endofit pada spong



Spong kode 17-5-14-1

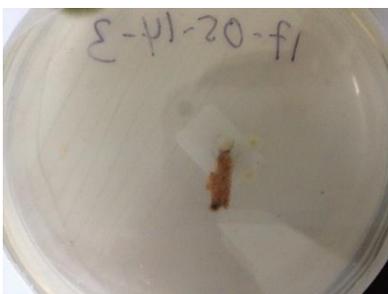
Hasil pemurnian isolat



Endofit F17-5-14-1a



Endofit F17-5-14-1b

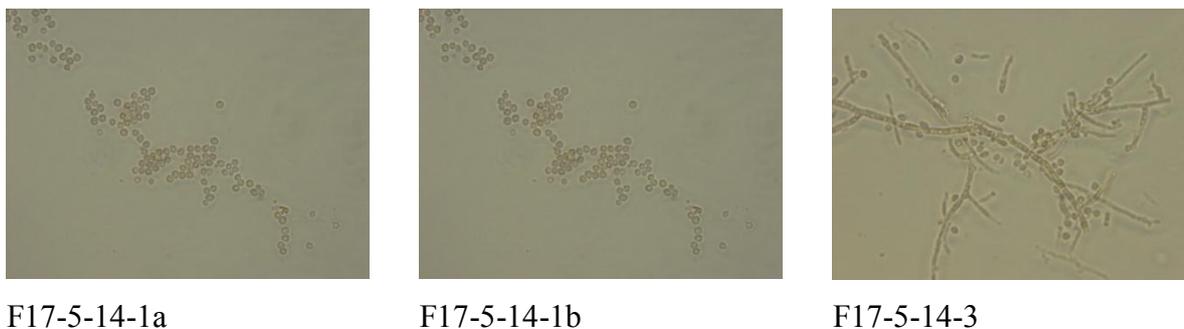


Spong kode 17-5-14-3

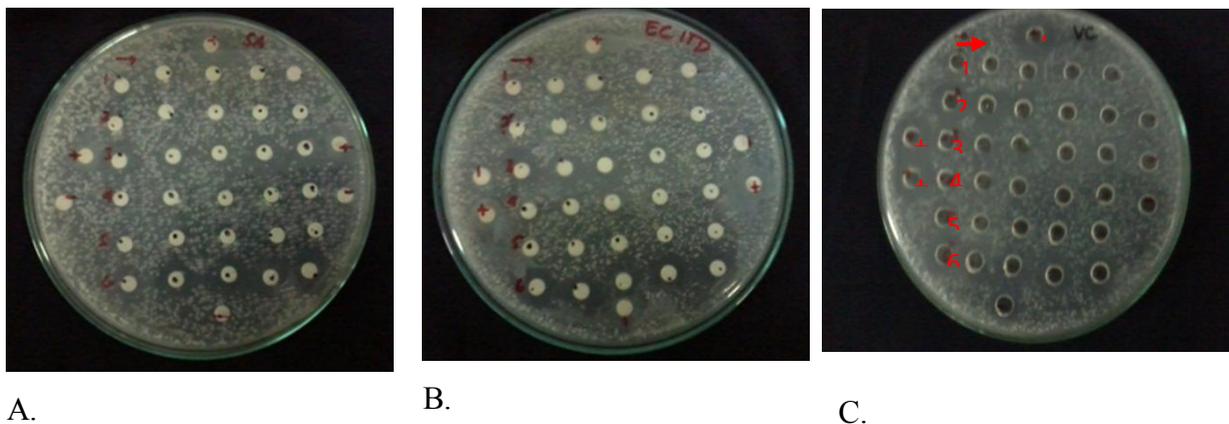


Endofit F17-5-14-3

Gambar 1. Isolat jamur endofit



Gambar 2 Foto mikroskopi endofit pada perbesaran 1000 kali



Keterangan:

1 = Sampel 1a 1000 ppm; 2 = Sampel 1b 1000 ppm; 3 = Sampel 3 1000 ppm; 4 = Sampel 1a 2000 ppm; 5 = Sampel 1b 2000 ppm; 6 = Sampel 3 2000 ppm; + = Ciprofloxacin 5 ppm
- = Etanol

Gambar 3 Hasil uji aktivitas antibakteri sampel terhadap *S. aureus* (A), *E. coli* (B) dan *V. cholerae* (C) pada jam ke-24

Tabel 1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit terhadap *S. aureus*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata2±SD
		I	II	III	IV	V	
F17-5-14-1a	1000	0	0	0	0	0	0±0
	2000	0	0	0	0	0	0±0
F17-5-14-1b	1000	0	0	0	0	0	0±0
	2000	0	0	0	0	0	0±0
F17-5-14-3	1000	11,50	11,00	10,80	10,50	11,20	11,00 ± 0,38
	2000	13,00	14,15	13,70	14,00	13,20	13,61 ± 0,50
Ciprofloxacin	5 ppm	11,80	13,00	12,20	-	-	12,33 ± 0,61
Etanol	-	0	0	0	-	-	0±0

Tabel 2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit terhadap *E. coli*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata2±SD
		I	II	III	IV	V	
F17-5-14-1a	1000	0	0	0	0	0	0±0
	2000	0	0	0	0	0	0±0
F17-5-14-1b	1000	0	0	0	0	0	0±0
	2000	0	0	0	0	0	0±0
F17-5-14-3	1000	11,50	11,40	10,40	10,70	10,00	10,80 ± 0,64
	2000	14,00	13,40	14,20	13,20	13,00	13,56 ± 0,52
Ciprofloxacin	5 ppm	11,30	12,00	13,50	-	-	12,27 ± 1,12
Etanol	-	0	0	0	-	-	0±0

Tabel 3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit terhadap *V. Cholerae*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata ² ±SD
		I	II	III	IV	v	
F17-5-14-1a	1000	0	0	0	0	0	0±0
	2000	0	0	0	0	0	0±0
F17-5-14-1b	1000	0	0	0	0	0	0±0
	2000	0	0	0	0	0	0±0
F17-5-14-3	1000	0	0	0	0	0	0±0
	2000	12,90	13,90	14,50	15,20	14,20	14,4
Ciprofloxacin	2 ppm	18,00	17,30	17,60	-	-	17,63
Etanol	-	0	0	0	-	-	0±0

Kesimpulan. Tiga jamur endofit yang diduga dari kelas Deuteromycetes telah berhasil diisolasi dari dua sampel spong. Ekstrak etanol jamur endofit 17-5-14-3 menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* pada konsentrasi 1000 dan 2000 ppm dan dan penghambatan terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* pada 2000 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Carlile, M. J., Watkinson, S. C. dan Gooday, G. W. *The Fungi*. 2nd ed. London : Academic Press, 2001.
- Deacon, J. *Fungal Biology*. . 4th ed. London : Blackwell Publishing, 2006.
- Van Soest, R. W. M. 1989, Neth. J. Sea Res., Vol. 23, hal. 223-230.
- Proksch, P., Edrada, R. A. dan Ebel, R. 2002, Appl. Environ. Microbiol, Vol. 59, hal. 125-134.
- Blunt, J. W., et al. 2012, Nat. Prod. Rep, Vol. 29, hal. 144 - 222.
- Wikler, M. A., et al. . *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standards*. Wayne : Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009. hal. 8-13. Vol. 29.