

PENAPISAN SENYAWA BIOAKTIF ANTIBAKTERI FUNGI LAUT ENDOFIT ASAL PULAU BUTON SULAWESI TENGGARA

Ismi Isti'anah^{1,2,3}, Kustiariyah Tarman^{1,2*}, Sugeng Heri Suseno¹,
Roni Nugraha¹, Irzal Effendi^{2,4}

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University,
Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor Jawa Barat Indonesia 16680

²Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, Kampus IPB

Jalan Pajajaran Raya Baranangsiang, Bogor Jawa Barat Indonesia 16127

³Program Studi Bioteknologi Perikanan, Politeknik Perikanan Negeri Tual,
Jalan Raya Langgur Sathean Km. 6, Langgur, Maluku Tenggara, Maluku Indonesia 97611

⁴Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University,
Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor Jawa Barat Indonesia 16680

Diterima: 27 September 2023/Disetujui: 16 Mei 2024

*Korespondensi: kustiaz@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Isti'anah, I., Tarman, K., Suseno, S. H., Nugraha, R., & Effendi, I. (2024). Penapisan senyawa bioaktif antibakteri fungi laut endofit asal Pulau Buton Sulawesi Tenggara. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(7), 553-563. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i7.50489>

Abstrak

Fungi laut endofit mengandung senyawa bioaktif alami sehingga memiliki kemampuan sebagai antimikroba, antitumor, antivirus, antikanker, dan antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan potensi senyawa bioaktif yang dimiliki oleh fungi laut endofit dan aktivitas antibakterinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio harveyi*. Penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu isolasi, seleksi, uji antagonis, ekstraksi senyawa aktif, dan uji antibakteri. Isolasi dan seleksi fungi laut endofit dilakukan pada sampel rumput laut dan mangrove yang berasal dari Pulau Buton, Sulawesi Tenggara menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA). Isolat sebanyak 35 diuji antagonis dengan bakteri patogen *V. harveyi* dan menghasilkan zona bening yang berkisar antara 2-21 mm. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak isolat fungi laut *Aspergillus terreus* (WB 1-2) membentuk zona hambat (inhibisi) tertinggi pada bobot 2 mg/mL sebesar 21,8±0,3 mm. Diameter zona hambat ekstrak *A. terreus* tersebut lebih besar dibandingkan dengan kloramfenikol (19 mm) yang digunakan sebagai kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa fungi laut endofit *A. terreus* dapat digunakan sebagai antibakteri alami dalam pencegahan patogen di dalam bidang akuakultur.

Kata kunci: antibiotik, ekstraksi, mangrove, metabolit, patogen

Screening Bioactive Compounds of Marine Endophytic Fungi as Antibacteria from Buton Island, Southeast Sulawesi

Abstract

Marine endophytic fungi harbor inherent bioactive chemicals that exhibit antimicrobial, antitumor, antiviral, anticancer, and anti-inflammatory properties. The aim of this study was to assess the capability of bioactive chemicals found in endophytic marine fungi to prevent the growth of the harmful bacterium *Vibrio harveyi*. This research was carried out using a series of procedures, including isolation, selection, antagonistic testing, extraction of active compounds, and antibacterial testing. The process of isolating and selecting endophytic marine fungi was conducted on seaweed and mangrove samples obtained from Buton Island, Southeast Sulawesi. This was performed using potato dextrose agar (PDA). 35 isolates were subjected to antagonistic testing against the pathogenic bacterium *V. harveyi*, which led to the formation of clear zones with sizes ranging from 2 mm to 21 mm. Extraction was conducted using a maceration technique with ethyl

acetate as the solvent. The resulting extract was then concentrated using a rotary evaporator. The extract derived from the marine fungus *Aspergillus terreus* (WB 1-2) showed the largest inhibitory zone, measuring 21.8 ± 0.3 mm, when tested at a dosage of 2 mg/mL. The diameter of the inhibitory zone of the *A. terreus* extract was greater than that of the positive control, chloramphenicol (19 mm). These findings suggest that the marine endophytic fungus *A. terreus* can be used as a natural antibacterial agent to inhibit the growth of infections in aquaculture.

Keywords: antibiotics, extraction, mangrove, metabolites, pathogens

PENDAHULUAN

Eksplorasi senyawa aktif biologis yang berasal dari alam banyak dilakukan, terutama senyawa yang dapat bekerja secara efisien pada target di tingkat seluler. Studi difokuskan pada bakteri dan fungi yang diisolasi dari sedimen, air laut, mangrove, ikan, alga, dan sebagian besar ekosistem laut lainnya. Bakteri dan beberapa fungi membentuk simbiosis dengan avertebrata di antaranya spons, moluska, *tunicates*, coelenterata, krustasea, dan terbukti menghasilkan senyawa metabolit sekunder baru (Sarasan *et al.*, 2017). Lingkungan laut dikenal sebagai sumber yang kaya akan senyawa bioaktif dengan banyak manfaat kesehatan. Produk alami laut (*Marine Natural Product*/MNPs) memiliki berbagai bioaktivitas sebagai antibakteri, antibiotik, antivirus, neurodegeneratif, antikanker, serta sifat anti-inflamasi (Prihanto, 2012; Tarman *et al.*, 2013; Imra *et al.*, 2018; Karthikeyan *et al.*, 2022; Hakim *et al.*, 2024).

Sulawesi Tenggara merupakan salah satu provinsi di Indonesia memiliki potensi mangrove yang dapat menunjang sektor perikanan dalam mendukung peningkatan kesejahteraan masyarakat (Kaliu & Fitra, 2019). Pulau Buton merupakan sebuah pulau yang berada di Sulawesi Tenggara. Perairan Buton memiliki sumber daya perikanan yang melimpah. Sumberdaya alam pada kawasan pesisir di Pulau Buton, di antaranya terumbu karang, hutan bakau, padang lamun, dan habitat akuatik lainnya (Alisyukur *et al.*, 2020). Selain itu, rumput laut juga ditemukan di perairan Sulawesi Tenggara yang menjadi komoditas unggulan perikanan masyarakat pesisir (Asaf *et al.*, 2021). Hutan mangrove di Pulau Buton termasuk ke dalam kelompok hutan pesisir yang mampu bertahan pada kondisi salinitas tinggi dan lingkungan ekstrem. Ekosistem mangrove memberikan manfaat secara ekologis sebagai penyedia

nutrien, melindungi garis pantai dari erosi, menyediakan area pembibitan, sumber nutrisi bagi ikan dan krustasea, serta penahan tsunami (Laksananny *et al.*, 2020).

Mikroorganisme laut di antaranya mikroalga, bakteri, dan jamur menjadi sumber bioprospeksi dengan potensi cukup besar yang belum banyak dieksplorasi (Ahmed *et al.*, 2022). Fungi laut dapat menjadi sumber *natural product* yang memiliki peluang besar untuk penemuan biofarmasi baru, yaitu imunomodulator dan obat-obatan antikanker, inflamasi, dan infeksi yang ditimbulkan mikroba patogen. Kemampuan beberapa molekul laut untuk memediasi aktivitas penghambatan spesifik telah ditunjukkan dalam berbagai proses seluler, termasuk apoptosis, angiogenesis, migrasi, dan adhesi sel (Sarasan *et al.*, 2017).

Jenis fungi laut ada yang berupa *marine endophytic fungi* (fungi laut endofit) yang terdapat pada akar, rimpang, dan daun flora laut. Sampel akar dan daun yang diambil kemudian dilakukan teknik isolasi, dan koloni jamur yang diperoleh diidentifikasi dengan morfologi dan analisis molekuler (rRNA sequencing) (Torta *et al.*, 2022). Contoh lain dari fungi laut yang hidup secara endofit, yaitu fungi laut endofit dari makroalga *Marine Algicolous Fungi* (MAF). MAF mengandung senyawa bioaktif sebagai metabolit sekundernya. Senyawa diklasifikasikan menurut aktivitas biologisnya yang dilaporkan, yaitu sifat antikanker, antibakteri, antijamur, dan antioksidan (Sarasan *et al.*, 2017).

Penurunan produksi dan kualitas yang signifikan dalam bidang budidaya dapat disebabkan oleh vibriosis. Penyakit vibriosis disebabkan oleh bakteri patogen *Vibrio harveyi* yang mengakibatkan tingginya tingkat kematian pada produk perikanan (Guo *et al.*, 2019). Peran antibiotik sangat penting dalam pencegahan dan pengobatan penyakit

bakteri pada ikan dan kelas krustasea. Namun, penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat menyebabkan resistensi, ketidakseimbangan ekologis, penurunan sistem kekebalan tubuh, serta menimbulkan residu antibiotik dalam produk perairan yang berpotensi membahayakan kesehatan manusia (Juliana & Yulian, 2020). Pembudidaya banyak yang belum memahami pentingnya menjaga mutu ikan sejak proses produksi sehingga memengaruhi mutu produk yang dihasilkan (Mursit *et al.*, 2022).

Penggunaan antibiotik pada pengobatan penyakit produk hasil perairan juga dapat menurunkan standar mutu produk ekspor (Rochvita & Permadi, 2021). Potensi antibiotik dari senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh fungi laut endofit yang berasal dari sampel rumput laut dan mangrove asal Pulau Buton Sulawesi Tenggara belum dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menentukan potensi senyawa bioaktif yang dimiliki oleh fungi laut endofit dan aktivitas antibakterinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio harveyi*.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan Seleksi Fungi Laut Endofit

Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel dari Pulau Buton, Provinsi Sulawesi Tenggara, kemudian diberi label dan dipreservasi awal dengan cara dikering anginkan, lalu disimpan serta dibawa ke laboratorium untuk diisolasi fungi endofitnya. Sampel disterilisasi permukaan menggunakan dua perlakuan, yaitu sampel direndam dengan akuades selama 1 menit dan perlakuan menggunakan natrium hipoklorit (NaOCl) 5% untuk membersihkan kotoran yang menempel pada permukaannya. Sampel dipotong berukuran 1×1 cm kemudian diletakkan secara aseptis pada medium *potato dextrose agar* (PDA) (Difco™) dan cawan petri diletakkan sebanyak 4 sampai 5 potong. Cawan petri berisi sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama kurang lebih 3-7 hari. Fungi yang telah tumbuh diamati ciri-ciri morfologi koloninya. Jika

koloni yang tumbuh belum murni maka dilakukan purifikasi. Koloni terpilih yang representatif kemudian dipindahkan ke media agar miring untuk penyimpanan.

Uji Antagonis Fungi Laut Endofit dengan Bakteri Patogen *Vibrio harveyi*

Uji antagonis isolat fungi terpilih terhadap bakteri patogen *V. harveyi* dilakukan dengan metode cawan tuang. Suspensi bakteri patogen *V. harveyi* umur 24 jam dengan kepadatan 1×10^7 sel/mL pada media *nutrient broth* (NB), sebanyak 10 mL dicampurkan secara aseptis ke dalam media *nutrient agar* (NA) yang telah steril dalam tabung erlenmeyer sebanyak 250 mL. Selanjutnya, media NA yang telah dicampurkan dengan suspensi bakteri patogen *V. harveyi* dituang secara aseptis pada cawan petri. Fungi endofit laut berdiameter 1 cm disiapkan. Setelah media NA memadat di dalam cawan petri, fungi endofit laut diletakkan pada permukaan media yang telah diinokulasi dengan bakteri patogen *V. harveyi*. Cawan petri uji tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Bakteri patogen yang diinokulasikan ke dalam media NA digunakan sebagai kontrol. Pengujian dilakukan dengan tiga kali ulangan (Papuangan, 2009).

Karakterisasi Molekuler Fungi Laut Endofit

Karakterisasi molekuler dilakukan pada isolat fungi laut endofit dengan zona inhibisi terbesar pada uji antagonis. Identifikasi molekuler menggunakan daerah *internal transcribed spacer* (ITS) pada fungi laut endofit. Primer yang digunakan yaitu primer universal ITS1 dan ITS4 (Umesha *et al.*, 2016). Urutan nukleotida yang terbentuk kemudian disejajarkan dengan urutan sekuen yang tersedia di GenBank menggunakan program BLAST-N. Konstruksi filogenetik dilakukan dengan menggunakan program MEGA X (Istianah *et al.*, 2021).

Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Fungi Laut Endofit

Ekstraksi media kultur fungi menggunakan metode maserasi. Tahap pertama, yaitu pencampuran sampel dalam kultur cair media *potato dextrose broth* (PDB) sebanyak 200 mL dan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1 kemudian dilakukan pengadukan selama 72 jam menggunakan *shaker* (dengan penapisan setiap 24 jam sekali) tanpa proses pemanasan. Proses pengocokan dilakukan selama 3×24 jam dengan asumsi maserasi sudah tidak efektif mengekstrak komponen aktif yang terkandung di dalam sampel. Pemisahan media kultur dan hasil ekstrak etil asetat dilakukan dengan corong pisah dan didiamkan beberapa saat sampai fase antara media kultur dan ekstrak etil asetat memisah dengan jelas.

Pelarut etil asetat digunakan karena memiliki daya larut yang baik terhadap berbagai senyawa organik, termasuk senyawa-senyawa yang mungkin terdapat dalam fungi laut endofit. Hal ini memungkinkan pelarut ini untuk mengekstraksi sejumlah besar senyawa aktif dengan efisien (Morya & Tanna, 2014). Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipisahkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 40°C. Suhu ini digunakan agar ekstrak tidak kehilangan senyawa aktif yang tidak tahan panas (Rahaweman *et al.*, 2016).

Uji Antibakteri Fungi Laut Endofit dengan Bakteri Patogen *Vibrio harveyi*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* terhadap bakteri *V. harveyi*, yaitu dengan penentuan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumur agar (*agar well diffusion*) yang dimodifikasi dari metode Holo *et al.* (1991). Bakteri uji ditumbuhkan dalam media NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri disuspensikan menggunakan media NB steril dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah mencapai *optical density* (OD) 0,5-0,8, sebanyak 20 µL bakteri dimasukkan ke dalam 100 mL media *mueller hinton agar* (MHA), kemudian dituang pada

cawan petri steril secara aseptis. Media MHA yang berisi bakteri uji yang telah memadat kemudian dilubangi sebanyak delapan lubang (sumur), yakni untuk kontrol positif, kontrol negatif, dan tiga konsentrasi ekstrak yang dilakukan secara duplo. Ekstrak fungi endofit dimasukkan ke dalam sumur masing-masing sebanyak 0,5, 1, dan 2 mg per sumur yang terbentuk. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik kloramfenikol sebanyak 300 µg/mL dan kontrol negatif menggunakan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi, yaitu etil asetat sebanyak 20 µL/mL. Cawan petri diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam, selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat di sekeliling lubang menggunakan jangka sorong dengan cara mengurangi diameter zona hambat yang terbentuk dengan diameter lubang sumur (Artanti *et al.*, 2011). Analisis uji hasil zona hambat yang terbentuk dilakukan menggunakan perangkat lunak Microsoft Excel dan OriginLab.

HASIL DAN PEMBAHASAN Isolasi dan Seleksi Fungi Laut Endofit Asal Pulau Buton Sulawesi Tenggara

Isolat murni yang didapatkan yaitu 160 isolat yang terdiri atas 7 isolat dengan kode WB, 32 isolat dengan kode SM, 60 isolat dengan kode LB, 59 isolat dengan kode BM, dan 2 isolat dengan kode KS. Fungi laut endofit dapat diisolasi dari lingkungan perairan (laut) tetapi siklus hidupnya tidak bergantung pada lingkungan perairan sehingga dapat dikultivasi dengan mudah pada skala laboratorium (Angelini *et al.*, 2022). Isolat fungi laut sebanyak 160 yang telah didapatkan dari hasil isolasi kemudian dilakukan tahap selanjutnya, yaitu proses seleksi. Proses seleksi dilakukan agar isolat yang didapatkan merupakan fungi laut endofit terpilih yang memiliki kemampuan antibakteri yang optimal. Selain itu, bioaktivitas dari senyawa alami yang dihasilkan dari biomaterial hasil perairan memiliki aktivitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa yang dihasilkan dari organisme terestrial (Ahmad *et al.*, 2019). Fungi endofit merupakan produsen senyawa bioaktif terbaru yang dapat berperan sebagai antimikroba, antioksidan, antikanker,

dan terlibat dalam proses biotransformasi (Abdel-Azeem *et al.*, 2016).

Uji Antagonis Fungi Laut Endofit dengan *Vibrio harveyi*

Proses seleksi isolat dilakukan pada ke-160 sampel dengan metode seleksi dan purifikasi. Isolat terpilih sebanyak 35 dilanjutkan ke tahap uji antagonis dengan bakteri *V. harveyi*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari 35 isolat fungi endofit terpilih seluruhnya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *V. harveyi*.

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan ditandai dengan adanya zona bening ataupun zona kabut. Terbentuknya zona bening mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri dengan kategori zona hambatnya ditentukan dari besar diameter zona bening yang terbentuk. Zona kabut mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri tetapi sangat lemah. Isolat WB 1-2 (14,0 mm), WB 6-2 (13,0 mm), WB 7-1 (12,3 mm), SM 22-1 (12,3 mm), SM 27-2 (11,0 mm), BM-46 (11,0 mm), dan LB 13-A (11,3 mm) aktif terhadap bakteri *V. harveyi* dengan aktivitas antibakteri yang kuat. Hasil uji antagonis fungi laut endofit dengan *V. harveyi* dapat dilihat pada *Figure 1*.

Uji antagonis menggunakan metode difusi agar tuang. Senyawa antibakteri akan

terdifusi dari sumuran ke dalam media agar yang telah diinokulasikan bakteri uji. Kategori aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran yang diukur menggunakan jangka sorong. Aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dikategorikan berdasarkan nilai zona hambat yaitu zona hambat ≥ 21 mm (sangat kuat), zona hambat 11-20 mm (kuat), zona hambat 6-10 mm (sedang), dan lemah jika zona hambat < 5 mm (Wahyuni *et al.*, 2016).

Hasil zona hambat *in vitro* menunjukkan isolat fungi endofit laut memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab vibriosis, yaitu *V. harveyi*. Hasil yang didapat juga sama dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan fungi laut *Nodulisporium* sp. KT29 mampu meningkatkan zona penghambatan mencapai 9,3–13 mm (Wahjuningrum *et al.*, 2020). Isolat dengan zona hambat tertinggi, yaitu isolat WB 1-2 (*Figure 2*).

Isolat WB 1-2 diidentifikasi sebagai spesies *Aspergillus terreus* ATCC 1012 dengan similaritas 99%. Penelitian lainnya menyebutkan bahwa efek antagonisme dari fungi laut endofit *A. terreus* SHE05 terhadap bakteri patogen pada ikan yaitu *Aeromonas hydrophila* memberikan aktivitas antibakteri

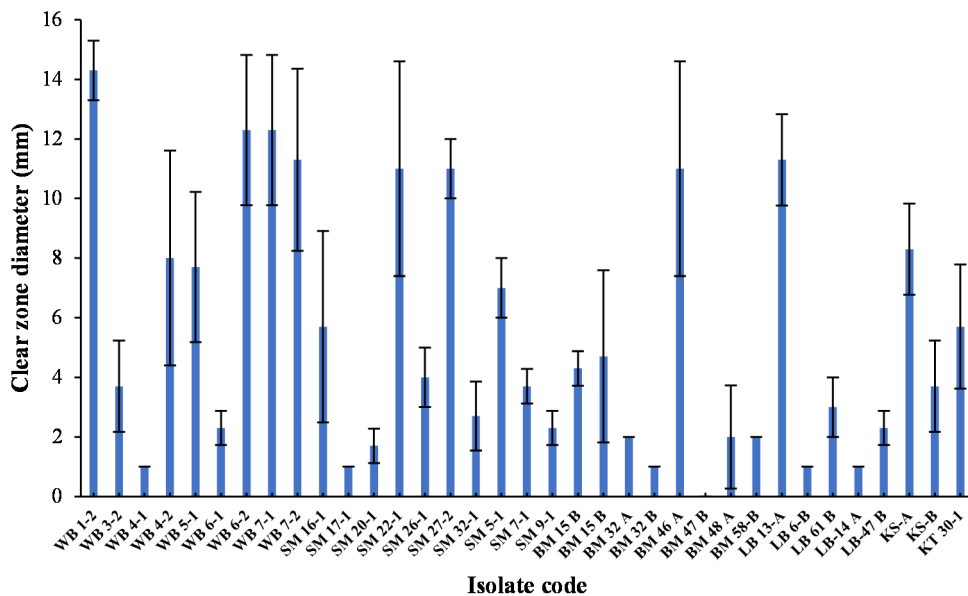


Figure 1 Results of the antagonist test for marine endophytic fungi with *Vibrio harveyi*

Gambar 1 Hasil uji antagonis fungi laut endofit dengan *Vibrio harveyi*

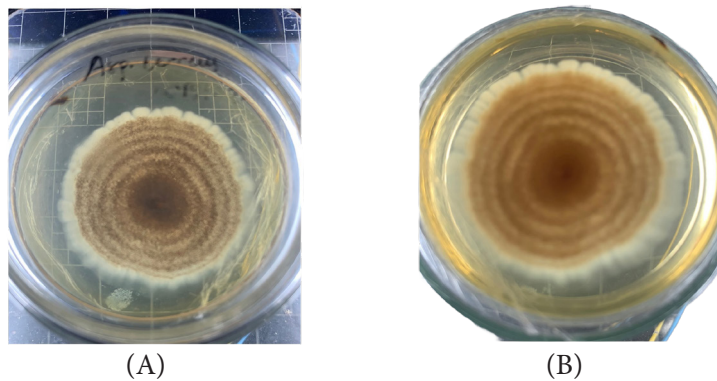


Figure 2 Morphology of WB 1-2 isolates as selected marine endophytic fungi; (A) Upper colony, (B) Lower colony

Gambar 2 Morfologi isolat WB 1-2 sebagai fungi laut endofit terpilih; (A) *Upper colony*, (B) *Lower colony*

tertinggi, yaitu sekitar 14 mm (El-latif *et al.*, 2021). Fungi laut endofit spesies *L. pseudotheobromae* IBRL OS64 juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dalam akuakultur, yaitu *V.owensii* CCB-PG2 dan *V.azureus* CCB-ST2H16 dengan diameter inhibisi zona hambat kurang dari 10 mm (Jalil *et al.*, 2022).

Ekstrak Senyawa Bioaktif dari Fungi Laut Endofit

Proses ekstraksi senyawa aktif digunakan sebagai tahapan awal untuk mengetahui aktivitas antibakteri fungi laut endofit. Kultivasi fungi laut endofit berlangsung selama 21 hari serta waktu

pengamatan dilakukan setiap 3 hari sekali. Selama 21 hari masa pengamatan pada kurva tumbuh, fungi laut endofit mengalami beberapa fase pertumbuhan seperti yang terlihat pada *Figure 3*. Fase yang pertama yaitu fase lag (fase adaptasi), selanjutnya yaitu fase log (eksponensial) dimana terjadi aktivitas pertumbuhan fungi laut endofit yang optimal. Produksi senyawa metabolit meningkat saat memasuki tengah fase eksponensial (Ruiz *et al.*, 2010). Setelah itu, fungi laut endofit akan memasuki fase stasioner saat ketersediaan nutrisi dalam media mulai menipis sehingga untuk bertahan hidup, sel fungi laut endofit akan melepaskan senyawa metabolit sekunder (Rahaweman *et al.*, 2016).

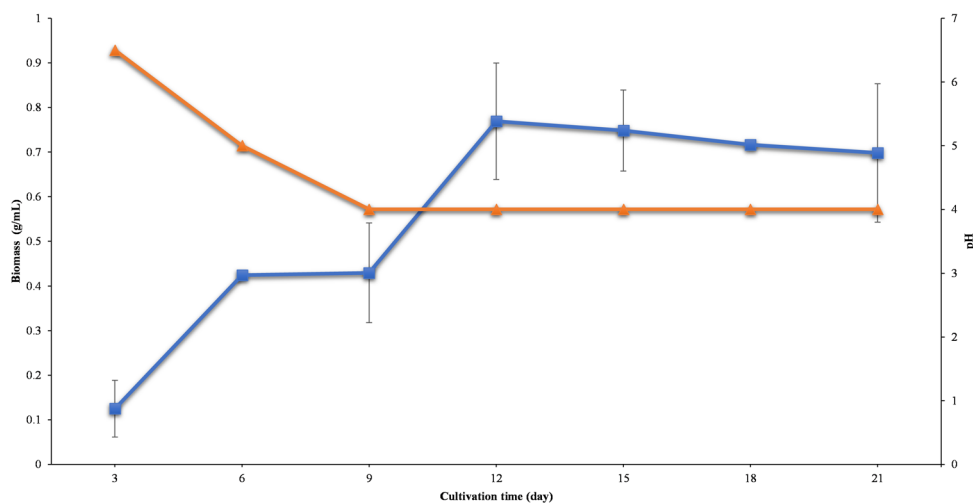


Figure 3 Growth curve of *Aspergillus terreus* isolates; (■) biomass, (▲) pH
 Gambar 3 Kurva pertumbuhan isolat *Aspergillus terreus*; (■) biomass, (▲) pH

Figure 3 menunjukkan bahwa isolat WB 1-2 mengalami fase lag dari hari ke-3 hingga hari ke-6. Fase log/eksponensial dimulai pada hari ke-6 hingga hari ke-12. Setelah hari ke-12, isolat WB 1-2 mengalami fase stasioner. Selanjutnya, pada hari ke-18 hingga hari ke-21, biomassa fungi laut endofit mulai mengalami penurunan yang menandai kultur tersebut telah memasuki fase kematian. Selama pengukuran kurva pertumbuhan juga dilakukan pengamatan terhadap perubahan pH, penurunan pH hingga mencapai pH 4 pada hari ke-9 dikarenakan telah terjadi proses fermentasi di dalam kultur fungi laut endofit tersebut. Nilai pH hingga hari terakhir pengamatan kurva pertumbuhan bertahan di pH 4. Hal ini dikarenakan pada fungi laut *A. terreus*, proses fermentasi optimal terjadi pada kondisi lingkungan yang berada pada pH yang asam (Srinivasan *et al.*, 2022).

Metabolit sekunder dipanen sebagai senyawa bioaktif dan diuji aktivitas antibakterinya. Media kultur diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etil asetat. Ekstrak kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* serta ditimbang bobotnya, kemudian ekstrak kasar digunakan sebagai bahan untuk uji antibakteri (Figure 4). Ekstrak kasar kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen, yaitu *V. harveyi*, *Escherichia coli* ATCC8739, *Staphylococcus aureus* ATCC6538, dan *Candida albicans* ATCC 10231 menggunakan metode difusi kertas cakram metode difusi (Julianti *et al.*, 2019).

Ekstrak fungi laut endofit *A. terreus* diperoleh dari proses maserasi cair-cair antara kultur cair di dalam media PDB dengan pelarut etil asetat. Hal ini dikarenakan senyawa bioaktif pada fungi yang berperan sebagai antibakteri berbentuk cairan. Bobot ekstrak etil asetat dari biomassa fungi laut endofit yang tertinggi pada penelitian ini adalah hari ke-12 dengan berat sebesar 1,80 g yaitu 3% dari bobot awal. Bobot ekstrak tertinggi berada di hari ke-12 karena pada fase eksponensial terjadi akumulasi senyawa aktif yang dihasilkan pada hari sebelumnya dalam media PDB sehingga bobot ekstrak yang dihasilkan lebih tinggi.

Bobot ekstrak mengalami penurunan pada hari ke-15 hingga ke-21 karena kemampuan sel fungi untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder menurun. Penelitian sebelumnya diketahui bahwa fungi laut endofit yang diisolasi dan dilakukan ekstraksi dengan ekstrak etil asetat dari media pertumbuhan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel serta aktivitas antibakteri. Ekstrak kasar dari fungi laut endofit KT31 memiliki aktivitas sitotoksik kuat dengan nilai IC_{50} 1,5 g/mL. Strain fungi laut endofit lainnya (KT29) menunjukkan sifat fungisida terhadap patogen tanaman mentimun yaitu *Cladosporium* sp. (Tarman *et al.*, 2011).

Uji Antibakteri Fungi Laut Endofit dengan *V. harveyi*

Aktivitas antibakteri isolat *A. terreus* terhadap *V. harveyi* yang diuji pada hari

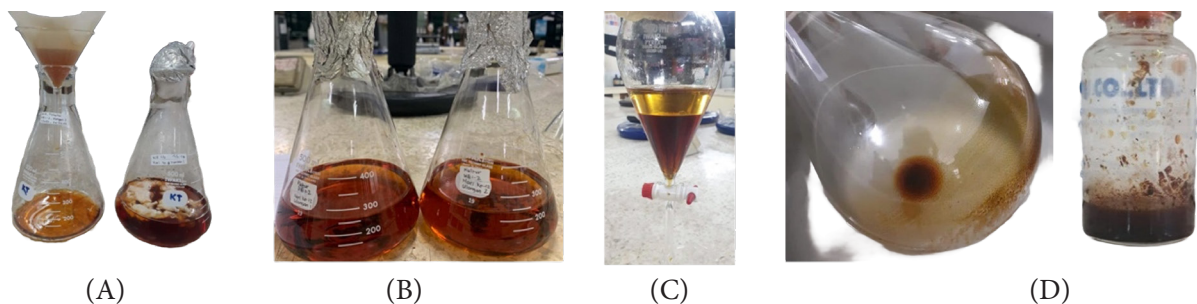


Figure 4 Extraction process for *Aspergillus terreus* isolates; (A) Filtering the liquid culture using filter paper, (B) filtering the liquid culture, (C) separating the extraction results using a separating funnel, (D) concentrating the macerated extract

Gambar 4 Proses ekstraksi isolat *Aspergillus terreus*; (A) Penyaringan kultur cair menggunakan kertas saring, (B) kultur cair hasil penyaringan, (C) pemisahan hasil ekstraksi menggunakan corong pisah, (D) pemekatan ekstrak hasil maserasi

pemanenan menunjukkan aktivitas tertinggi pada hari ke-12. Waktu kultivasi hari ke-12 merupakan fase eksponensial fungi laut endofit *Aspergillus terreus* dilihat dari kurva pertumbuhannya (Figure 3). Fase eksponensial merupakan fase penting pada kehidupan fungi karena terjadi perbanyakan sel yang sangat banyak dan aktivitas sel sangat meningkat (Askari, 2018). Rata-rata zona hambat maksimum yang terbentuk adalah 21,83 mm (konsentrasi ekstrak 2 mg/mL), 20 mm (konsentrasi ekstrak 1 mg/mL), dan 16,43 mm (konsentrasi ekstrak 0,5 mg/mL).

Peningkatan konsentrasi ekstrak akan menyebabkan peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk dengan menghitung diameter zona hambat yang terbentuk setiap hari pengujian tertinggi pada konsentrasi 2 mg/mL dan terendah 0,5 mg/mL hal tersebut sesuai dengan pernyataan Saputri *et al.* (2019) konsentrasi suatu bahan antibakteri yang semakin tinggi dapat menghasilkan aktivitas antibakteri yang semakin kuat. Hasil zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak 2 mg/mL sebesar 21,83 mm termasuk ke dalam kategori sangat kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Standar aktivitas antibakteri ekstrak disesuaikan dengan kemampuan senyawa aktif dalam menghambat bakteri, yaitu 20 mm sangat kuat, 10-20 mm kuat, 5-10 mm sedang, dan 5 mm atau kurang berarti lemah (Davis & Stout, 1971).

Senyawa bioaktif dari fungi laut endofit *A. terreus* dan kemampuan antibakterinya, memiliki mekanisme aksi dalam merusak dinding sel bakteri patogen *Vibrio harveyi* (Isti'annah *et al.*, 2024) dan bersifat sitostatik (Mahmoud *et al.*, 2022). Fungi laut endofit juga memiliki kemampuan untuk sekresi enzim yaitu selulase, amilase, dan protease (Liu *et al.*, 2020) yang memiliki sifat sitoprotektif terhadap patogen (Mahmoud *et al.*, 2022). Beberapa contoh senyawa bioaktif yang dimiliki oleh *A. terreus* di antaranya adalah terremide A, terrein, dan citrinin.

Terremide A merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antikanker. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker secara *in vitro*. Ekstrak fungi laut *A. terreus* juga mengandung

terrein. Terrein adalah senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba dan antitumor. Terrein memiliki efek antimikroba terhadap berbagai patogen (Bao *et al.*, 2020). Citrinin juga merupakan salah satu senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak fungi laut *A. terreus*. Senyawa citrinin sebagai agen antimikroba dan antikanker (Mukherjee *et al.*, 2021).

Aplikasi fungi laut endofit pada bidang akuakultur yaitu menjadi salah satu komponen formulasi pakan yang sangat penting karena mengandung enzim selulase. Pemberian diet pakan menggunakan fermentasi fungi laut endofit menghasilkan kinerja pertumbuhan juvenil ikan lele (*Clarias sp.*) yang jauh lebih tinggi dibandingkan pakan komersil (Ekasari *et al.*, 2023). Senyawa bioaktif fungi laut endofit juga dapat diaplikasikan pada bidang pertanian, kesehatan, dan bioteknologi karena mengandung manfaat terapeutik yang cukup besar untuk menjadi agen biotransformasi baru yaitu imunomodulator dan pengobatan untuk kanker, peradangan, serta gangguan yang disebabkan oleh sistem kekebalan tubuh (Li *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Fungi laut endofit *Aspergillus terreus* yang berasal dari Pulau Buton, Sulawesi Tenggara memiliki potensi sebagai sumber antibakteri alami. Ekstrak isolat *A. terreus* menunjukkan aktivitas antagonis terhadap bakteri patogen *Vibrio harveyi*. Penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam pengembangan strategi baru untuk peningkatan kesehatan di bidang pertanian, perikanan, serta kesehatan melalui pemanfaatan senyawa bioaktif yang dimiliki oleh fungi laut endofit sebagai sumber daya alam yang berkelanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi melalui pendanaan Program Riset Keilmuan skema Penelitian Disertasi Doktor dengan nomor kontrak: 3797/IT3.L1/PT.01.03/P/B/2022 pada tanggal 11 Mei 2022 atas nama Dr. Kustiariyah, S.Pi, M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Azeem, A.M., Salem F.M., Abdel-Azeem, M.A., Nafady, N.A., Mohesien, M.T., & Soliman, E.A. (2016). Biodiversity of the genus *Aspergillus* in different habitats. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*, 3-28. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63505-1.00001-4>
- Abd El-latif, H. H., Hassan, S. W., & Beltagy, E. A. (2021). Optimization and characterization of antimicrobial agents produced by Marine *Aspergillus terreus* SHE05 against *Aeromonas hydrophila* and other Applications. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(4), 2367-2382.
- Ahmad, B., Shah, M., & Choi, S. 2019. Oceans as a source of immunotherapy. *Marine Drugs*, 17(282), 1-37. <https://doi.org/10.3390/md17050282>
- Ahmed, I., Asgher, M., Sher, F., Hussain, S.M., Nazish, N., Joshi, N., Sharma, A., Parra-Saldívar, R., Bilal, M., & Iqbal, H.M.N. (2022). Exploring marine as a rich source of bioactive peptides: challenges and opportunities from marine pharmacology. *Marine Drugs*, 20(208), 1-18. <https://doi.org/10.3390/md20030208>
- Alisyukur, L.O., Sunarto, S., & Marfai, M. A. (2020). Skenario pengelolaan kepesisiran berkelanjutan Kabupaten Buton Selatan, Provinsi Sulawesi Tenggara. *Ecotrophic*, 14(2), 100-110.
- Angelini, P., Abdel-Azeem, A., & Mand-Girometta, C.E. (2022). Editorial: Bioactive compounds with potential medicinal properties derived from fungi: recent and future developments in microbial biotechnology. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1-3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.837586>
- Artanti, N., Tachibana, S., Kardono, L.B.S., & Sukiman, H. (2011). Screening of endophytic fungi having ability for antioxidant and α -glukosidase inhibitor activities isolated from *Taxus sumatrana*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 14(22), 1019-1023.
- Asaf, R., Athirah, A., & Paena, M. (2021). Optimalisasi pengembangan usaha budi daya rumput laut (*Kappaphycus alvarezii*) di Perairan Teluk Kulisusu Kabupaten Buton Utara Provinsi Sulawesi Tenggara. *Jurnal Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan*, 16(1), 39-50.
- Askari, H., Khajepour, A., Khamesee, M. B., Saadania, Z., & Wang, Z. L. (2018). Piezoelectric and triboelectric nanogenerators: Trends and impacts. *Nano Today*, 22, 10-13
- Bao, J., Sun, L., Zhang, X., & Liu, H. W. (2020). Terrein: a bioactive metabolite with therapeutic potential. *Marine Drugs*, 18(11), 543.
- Davis & Stout. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*, 22(4), 39.
- Ekasari, J., Achmadi, F. F., Isti'annah, I., & Tarman, K. (2023). Growth performance and blood figures of African catfish (*Clarias* sp.) fed with marine fungal fermented feed. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1137, No. 1, p. 012041). IOP Publishing.
- Guo, L., Zhang, F., Wang, X., Chen, H., Wang, Q., Guo, J., Cao, X., & Wang, L. (2019). Antibacterial activity and action mechanism of questin from marine *Aspergillus flavipes* HN4-13 against aquatic pathogen *Vibrio harveyi*. *3 Biotech*, 9, 1-7.
- Hakim, S. K., Sudirman, S., Janna, M., Nugroho, G. D., & Sari, D. I. (2024). Aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dari ekstrak etanol selada air (*Nasturtium officinale*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(4), 319-326. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i4.50254>
- Holo, H., Nilssen, & Ness, I. F. (1991). Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. cremoris: isolation and characterization of the protein and its gene. *Journal of Bacteriology*, 38 (12):79-87.
- Imra, Tarman, K., & Desniar. (2016). Aktivitas antioksidan dan antibakteri nipah (*Nypa fruticans*) terhadap *Vibrio* sp. isolat kepiting bakau (*Scylla* sp.). *Jurnal*

- Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 241-250.
- Isti'annah, I., Budiman, M. A., Suseno, S. H., Nugraha, R., Effendi, I., & Tarman, K. (2024). Action Mechanism of Marine Endophytic Fungi *Aspergillus terreus* as Antibacterial Agent Against *Vibrio harveyi*. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 92, p. 02008). EDP Sciences.
- Isti'annah, I., Mubarik, N. R., & Tjahjoleksono, A. (2021). Characterization and application of nitrogen-fixing and indole-3-acetic acid producing bacteria A13 in Oil Palm (*Elaeisguineensis* Jacq.) seedling. *Journal of Microbial Systematics and Biotechnology*, 3(1), 32-40.
- Jalil, M. T. M., Zakaria, N. A., Suhaimi, N. S. M., & Ibrahim, D. (2022). Crude extracts of an endophytic fungus attenuate the growth of pathogenic bacteria in aquaculture. *Iranian Journal of Microbiology*, 14(3), 383-394.
- Juliana, M., & Yulian, M. (2020). Identifikasi kloramfenikol pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) menggunakan high performance Liquid chromatography (hplc). *AMINA*, 2(1), 13-18.
- Julianti, E., Singgih, M., Ikram, M.R., Naufal, A., Putra, M.Y., & Hadi, T.A. (2019, Oktober 24-26). Antimicrobial activity of fungi isolated from the marine sponges collected from Sekotong Beach Lombok, Indonesia. [Conference session] *The First Maluku International Conference on Marine Science and Technology 2018*, Ambon, Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 339, doi:10.1088/1755-1315/339/1/012058.
- Kaliu, S., & Fitra, R. A. (2019). Komposisi vegetasi mangrove dan identifikasi fauna secara vertikal di Pesisir Pantai Kecamatan Pomala Sulawesi Tenggara. *SAINTIFIK: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 5(2), 127-134.
- Karthikeyan, A., Joseph, A., & Nair, B.G. (2022). Promising bioactive compounds from the marine environment and their potential effects on various diseases. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 20(14), 1-38
- Laksananny, S. A., Poedjirahajoe, E., Purwanto, R. H., & Hermawan, M. T. T. (2020). Analisis vegetasi hutan mangrove di Kabupaten Buton Utara (Studi kasus di Kecamatan Kulisusu Barat, Kabupaten Buton Utara, Sulawesi Tenggara). *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 18(3), 515-521.
- Li, Q., Han, W., Yang, C., Si, Y., Xin, M., Guan, H., & Li, C. (2022). Low molecular-weight polyguluronate phosphate: An immunostimulant by activating splenocyte/macrophage in vitro and improving immune response in vivo. *International Journal of Biological Macromolecules*, 216, 510-519.
- Mahmoud, M. M, Abdel-Razek, A. S., Soliman, H. S. M., Ponomareva, L. V., Thorson, J. S., Shaaban, K. A., & Shaaban, M. (2021). Diverse polyketides from the marine endophytic *Alternaria* sp. LV52: Structure determination and cytotoxic activities. *Biotechnology Reports* 33: 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00628>
- Morya, R., & Tanna, B. (2014). Antibacterial potential of marine derived fungi against *Vibrio harveyi*: a causative agent of white spot syndrome in shrimp. *Aquaculture*, 434, 186-190.
- Mukherjee, G., Singh, Y., & Sen, S. K. (2021). In vitro cytotoxicity of citrinin metabolites from *Aspergillus terreus*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11(02), 098-103.
- Mursit, A., Wahyono, A., & Setiawan, Y. (2022). Strategi peningkatan ekspor produk kelautan dan perikanan ke pasar Eropa. *Jurnal Manajemen USNI*, 6(2), 9-24.
- Papuangan, N. (2009). Aktivitas penghambatan senyawa antimikrob *Streptomyces* spp. terhadap mikroba patogen tular tanah secara in vitro dan in planta [Tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Prihanto, A. A. (2012). Perbandingan aktivitas antibakteri *Penicillium notatum* ATCC 28089 dengan *Penicillium* sp. R1M yang diisolasi dari mangrove *Sonneratia caseolaris*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(1): 66-70. <https://doi.org/10.17844/jphpi>

- v15i1.5336
- Rahaweman, A.C, Pamungkas, J., Madduppa, H., Thoms, C., & Tarman, K. (2016, September 12-13). Screening of endophytic fungi from chlorophyta and phaeophyta for antibacterial activity. The 4th *International Conference on ICMMBT 2023*, Bogor, Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 31, 1-7.
- Rochvita, A., & Permadi J. (2021). Agribisnis perikanan new normal: kajian strategi recovery usaha perikanan budidaya masa darurat Covid-19 di Kabupaten Magelang. *AGRIKAN: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 14(2), 622-632.
- Ruiz, B., Chávez, A., Forero, A., GarcíaHuante, Y., Romero, A., & Sánchez, M. (2010). Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source. *Critical. Reviews in Microbiology*, 36: 146–167.
- Sarasan, M., Puthumana, J., Job, N., Han, J., Lee, J., & Philip, R. (2017). Marine algicolous endophytic fungi - a promising drug resource of the era. *J. Microbiol. Biotechnology*, 27(6), 1039-1052.
- Saputri, M. P., Utami, R., Fadhila, J., & Handayani, S. N. (2019). Uji aktivitas antibakteri dan antiinflamasi ekstrak daun *Ageratum conyzoides* L (Bandotan). *Prosiding Program Kreativitas Mahasiswa*, 21.
- Srinivasan, N., Thangavelu, K., & Uthandi, S. (2022). Lovastatin production by an oleaginous fungus, *Aspergillus terreus* KPR12 using sago processing wastewater (SWW). *Microbial Cell Factories*, 21(1), 1-14.
- Tarman K. (2011). Biological and chemical investigations of Indonesian marine derived fungi and their secondary metabolites. Cuvillier Verlag.
- Tarman, K., Purwaningsih, S., & Negara A. A. P. A. P. (2013). Aktivitas antibakteri ekstrak daun bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri penyebab diare. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(3), 249-258. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v16i3.8063>
- Torta, L. Burruano, S.; Giambra, S.; Conigliaro, G.; Piazza, G.; Mirabile, G.; Pirrotta, M.; Calvo, R.; Bellissimo, G.; Calvo, S. (2022). Cultivable fungal endophytes in roots, rhizomes and leaves of *Posidonia oceanica* (L.) delile along the coast of Sicily, Italy. *Plants*, 11, 1139. <https://doi.org/10.3390/plants11091139>
- Umesha, S., Manukumar, H. M., & Raghava, S. (2016). A rapid method for isolation of genomic DNA from food-borne fungal pathogens. *3 Biotech*, 6, 1-9.
- Wahjuningrum, D., Efianda, T. R., Tarman, K., Yuhana, M., Effendi, I., & Saputra, F. (2020). Supplementation of *Nodulisporium* sp. KT29 induced by *Vibrio harveyi* as an immunostimulant for controlling vibriosis in vannamei white shrimp under marine culture system. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 19(2), 95-105.
- Wahyuni S.H., Hasanuddin, & Purba E. (2016). Identifikasi dan antagonisme jamur endofit tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) dalam menghambat *Xanthomonas albilineans* L. penyebab penyakit vaskular bakteri. *Jurnal Pertanian Tropik*, 3(1), 31-42.