



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VI

"Pemantapan Riset Kimia dan Asesmen Dalam Pembelajaran
Berbasis Pendekatan Saintifik"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 21 Juni 2014



MAKALAH
PENDAMPING

KIMIA ORGANIK
BAHAN ALAM

ISBN : 979363174-0

Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Jamur Simbion Karang Lunak sebagai Antijamur terhadap Jamur Patogen *Candida Albicans*

Didha Andini Putri^{1*}, Ocky Karna Radjasa¹ and Delianis Pringgenies¹

*Magister Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Indonesia Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698*

E-mail : didhaandiniputri@gmail.com

ABSTRAK

Karang lunak adalah invertebrata laut yang hidup pada terumbu karang yang aktif memproduksi metabolit sekunder yang dapat dijadikan sebagai antibakteri, antijamur, anti-tumor, neurotoxic dan antiinflamatori yang bermanfaat bagi dunia farmasi. Dibandingkan dengan golongan bakteri dan mikroba lainnya, jamur merupakan produser dari beberapa senyawa yang telah lama diabaikan sebagai sebuah grup penghasil produk alami. Jamur *Candida albicans* merupakan salah satu jamur patogen pada manusia yang menyerang pada bagian mukosa mulut, kulit dan pada vagina. Proses ekstraksi jamur simbion dilakukan dengan scale up dan dimaserasi dengan pelarut metanol. uji aktivitas ekstrak kasar jamur simbion dengan kode SCPPB 1.10 dengan jamur patogen *Candida Albicans* menggunakan uji difusi agar. Uji aktivitas antijamur menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi 100 ppm $7,34 \pm 0,367696$. Pengujian senyawa metabolit sekunder menggunakan uji fitokimia

Kata kunci : Karang lunak, Antijamur, Produk alami, *Candida Albicans*, Metabolit Sekunder

PENDAHULUAN

Metabolit sekunder banyak dihasilkan oleh karang lunak yang ditunjukkan dengan

berbagai aktivitas biologi, seperti antifungal, antibakteri, sitotoksik, dan anti-inflamasi (1.1). (1.2) menunjukkan bahwa senyawa kimia aktif yang terdapat pada karang lunak, seperti

Sarcophyton sp. menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri,

Jamur laut diketahui memiliki kontribusi yang penting. Banyak jenis jamur laut yang telah diisolasi dan diketahui menghasilkan sejumlah senyawa antimikroba, seperti alkaloid, makrolid, terpenoid, derivat peptida, dan struktur lainnya yang kini menjadi pilihan baru untuk melawan penyakit infeksius (1.3).

Saat ini jamur laut memiliki kelimpahannya yang tinggi, namun yang sudah diteliti masih kurang dari 5%. Jamur mampu menghasilkan senyawa yang berpotensi yang diaplikasikan dalam dunia kesehatan dan telah dibuktikan memiliki banyak sumber metabolit sekunder aktif yang unik secara struktur (1.4). Jamur itu dapat bersifat obligat, yaitu tumbuh bersporulasi di laut, atau bersifat fakultatif, yaitu berasal dari lingkungan air tawar atau darat yang mampu tumbuh dan juga bersporulasi di lingkungan laut (1.5).

Candida adalah flora normal pada saluran pencernaan, selaput mukosa, saluran pernafasan, vagina, uretra, kulit, dan di bawah kuku. *Candida* ada yang hidup sebagai jamur patogen, yaitu *C. albicans*. Infeksi *C. albicans* dapat mengakibatkan septikemia (radang pada meningen/membran yang mengelilingi otak dan medula spinalis) dan endokarditis (infeksi pada katup jantung)(1.6)

Tingginya tingkat resistensi *C. albicans* terhadap agen antifungi diakibatkan oleh penggunaan agen antifungi yang berlebihan seperti amfoterisin-B dan flukonazol. Oleh sebab itu, sangat diperlukan agen antifungi alternatif yang sangat efektif terhadap

C. albicans (1.7). Alternatif lain yang memungkinkan untuk dikembangkan adalah pemanfaatan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh karang lunak.

Berdasarkan permasalahan diatas, maka dilakukan dan dikembangkan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antifungi dari ekstrak karang lunak

METODE PENELITIAN

Isolasi Jamur simbion dan jamur Patogen

Isolasi jamur simbion dari karang lunak diperoleh dari perairan perairan pulau panjang dengan menggunakan media MEA dan dengan metode dillusi dan kultur jamur patogen didapatkan dari Laboratorium kesehatan semarang.

Uji Kualitatif

Inokulasikan kultur jamur simbion kedalam media MEA laut dengan cara dot inokulasi. Inkubasi selama 2 x 24 jam dengan suhu kamar. Inokulasikan kultur jamur *C. Albicans* kedalam media MEB. Inkubasi selama 1 x 24 jam dengan suhu kamar. Uji ini dilakukan secara kualitatif dilakukan dengan metode uji overlay (1.8). Suspensi bakteri uji yang telah diinokulasi diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam 100 mL soft agar ZoBell 2216E tawar. Selanjutnya soft agar yang telah berisi jamuri uji dituang ke media MEA laut yang telah ditumbuhi isolat jamur simbion., lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 1-2 hari. Isolat jamur simbion yang aktif akan terlihat dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Beri tanda (+) jika terbentuk zona hambat dan tanda (-) jika tidak terbentuk zona hambat.

Kultivasi Jamur dalam media cair 200 ml

Spora dari sample jamur simbion ditumbuhkan selama 2-3 hari. Setelah tumbuh dengan baik sekitar 2-3 hari, spora dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL media MEB. Kultur cair ini selanjutnya dipindah ke dalam erlenmeyer berukuran 200 ml yang berisi MEB. Kultivasi

dilakukan selama 1-2 minggu, suhu 27–29°C, dan dalam kondisi statis.

Sebelum diekstrak, media kultur disaring dengan menggunakan kain kasa. Ekstraksi miselium dilakukan dengan cara sebagai berikut : sebelum diekstrak dengan pelarut, miselium dikeringkan. Miselium yang sudah kering diekstrak dengan pelarut metanol sebanyak 100 mL kemudian disonikasi selama 120 menit. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak miselium kemudian dipekatkan dalam rotavapor vakum hingga diperoleh ekstrak kasar miselium.

Uji aktivitas antijamur

Inokulasi *C. Albicans* ke dalam MEB dan diinkubasi selama 2x24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran kepadatan koloni jamur dalam 1 mililiter dengan McFarland. Menurut (1.9), dalam uji difusi agar inokulasi standar yang diuji adalah sekitar $1-2 \times 10^8$ CFU/mL. Suspensi patogen yang sudah sesuai dengan standar pengujian diambil sebanyak 100µL menggunakan mikropipet dan dituangkan ke media MEA tawar dalam petri dish kemudian diratakan dengan

menggunakan spreader. Inkubasi selama 30-60 menit.

Paperdisc yang sudah steril dimasukan kedalam MEA tawar lalu diteteskan ekstrak karang lunak dengan mikropipet pada konsentrasi 1,10,100 ppm. Setelah itu inkubasi 1x24 jam pada suhu 37 °C.

Uji Fitokimia

Prosedur pemeriksaan senyawa flavonoid

Sebagian lapisan air dari ekstrak yang sudah diencerkan diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1-2 butir logam Mg dan 3 tetes HCl pekat. Tambahkan amyl alkohol dan kocok dengan kuat, biarkan hingga memisah. Warna kuning kemerahan hingga merah menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid

Prosedur pemeriksaan senyawa saponin

Ambil sedikit sampel ekstrak lalu masukkan kedalam tabung reaksi. Masukkan akuades yang sudah dihangatkan kemudian dikocok kuat-kuat dan diamkan selama 10 menit. Sampel positif mengandung senyawa saponin apabila terbentuk busa dan tidak hilang selama waktu 15 menit setelah ditetesi HCl.

Prosedur pemeriksaan senyawa alkaloid

Pemeriksaan senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan 2 pereaksi, yaitu pereaksi dragendorf dan pereaksi mayer yang sudah dibuat sebelumnya. Ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan 2 ml CHCl₃ dan ditambahkan dengan pereaksi Dragendorf. Terbentuknya warna merah/jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Sebagian larutan ekstraksi ditambahkan HCl dengan perbandingan 1:10 sebagai larutan B lalu ditambahkan 5 ml

pereaksi Mayer. Endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya alkaloid.

Prosedur pemeriksaan senyawa steroid dan triterpenoid

Ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan satu tetes CH_3COOH anhidrat dan satu tetes H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna biru sampai ungu menunjukkan sampel positif mengandung senyawa steroid sedangkan warna merah menunjukkan sampel positif mengandung senyawa triterpenoid.

Prosedur Pemeriksaan senyawa Fenolik

Sebanyak satu ml ekstrak kasar ditambahkan FeCl_3 lalu dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna biru sampai biru kehitaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan uji kualitatif dari 37 isolat jamur simbiosis diadaptkan 4 jamur simbiosis yang paling baik dalam menghambat jamur patogen *C.albicans*. Penghambatan pertumbuhan mikroba ditandai dengan adanya zona hambat yang berwarna bening (1.10). Penghambatan pertumbuhan mikroba terjadi karena beberapa faktor diantaranya adalah kompetisi antar mikroba untuk mendapatkan nutrisi yang dibutuhkan untuk melakukan pertumbuhan (1.11). Selain itu penghambatan pertumbuhan juga

dipengaruhi oleh adanya sistem pengeluaran metabolit sekunder dalam bentuk enzim eksternal yang berasal dari jamur simbiosis karang.(1.12) mengemukakan bahwa metabolit sekunder yang terdapat pada organisme laut merupakan suatu respon atau akibat dari adaptasi lingkungan untuk mempertahankan diri dari serangan predator atau patogen.

Hasil ekstraksi dengan metanol menghasilkan ekstrak kasar yang akan digunakan dalam uji antijamur. Adapun berat dan prosentase ekstrak sampel adalah seperti yang tercantum pada tabel 1. **Tabel 1. Hasil Ekstrak dengan Metanol**

Sample	Berat awal	Berat ekstrak
SCPPB 1.10	7,46 gram	2,6532 gram

Proses ekstraksi dengan metanol bertujuan untuk mendapatkan ekstrak kasar yang akan digunakan untuk uji anti jamur. Selain itu karena sifat dari pelarut

metanol yang polar dan mampu untuk mengikat senyawa organik lebih banyak.

Selanjutnya ekstrak metanol tersebut diujikan terhadap jamur *C.Albicans*. adapun hasil zona hambat disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Ekstrak Aktivitas Antijamur

Sample	Konsentrasi	Patogen	Zona Hambat
SCPPB 1.10	100ppm	<i>C. Albicans</i>	7,347812 ± 0,367696
	10 ppm		7,254167 ± 0,255737
	1 ppm		7,00391 ± 0,410122
	+ 100		7,106667 ± 0,697679
	+ 10		5,571667 ± 2,868497
	-		-

Hasil uji ekstrak kasar aktivitas anti jamur menunjukkan adanya perbedaan besarnya zona hambat di masing-masing konsentrasi. Hal ini disebabkan karena semakin besar konsentrasi maka ekstrak semakin pekat dan mempengaruhi dalam proses difusi ekstrak ke dalam paperdisk. Seperti yang telah dijelaskan (1.13) bahwa uji difusi agar dipengaruhi oleh salah satunya faktor kecepatan difusi suatu ekstrak. Pada uji kuantitatif konsentrasi ekstrak metanol mempunyai potensi menghambat pertumbuhan jamur pada konsentrasi minimum 1 ppm sebesar 7,31 ± 0,410122 dan menghasilkan zona hamba terbaik pada konsentrasi 100 ppm 7,347812 ± 0,367696.

Senyawa yang bersifat fungistatik misalnya senyawa fenolik dapat mendenaturasi protein, yaitu kerusakan struktur tersier protein sehingga protein kehilangan sifat-sifat aslinya. Terdenaturasinya protein dinding *C. albicans* akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel tersebut sehingga mudah ditembus zat aktif lainnya yang bersifat fungistatik. Konsentrasi 100,10,1 ppm berkisar antara 7 –

10 mm, menunjukkan ekstrak karang lunak berpotensi sedang dalam menghambat pertumbuhan jamur, sesuai dengan penggolongan (1.13) kekuatan antibiotik atau antibakteri jika zona hambatnya lebih dari 20 mm berarti aktivitasnya sangat kuat, 10 memiliki aktivitas kuat, 5-10 mm memiliki aktivitas sedang, zona hambat di bawah 5 mm atau kurang berarti aktivitas antijamurnya lemah. Selain itu bahwa ukuran penghambatan dipengaruhi oleh sensitivitas organisme, medium kultur, kondisi inkubasi, dan kecepatan difusi agar.

Uji kontrol positif dilakukan untuk mengetahui pengaruh antibiotik komersil terhadap zona hambatan yang terbentuk.

Uji kontrol positif menggunakan antibiotik

Flagystatin yang mengandung Nystatin

dan Metronidazol. Uji kontrol positif dengan antibiotik Flagystatin menunjukkan adanya zona hambatan terhadap jamur uji. Sedangkan hasil uji pelarut (negatif) menunjukkan bahwa uji pengaruh pelarut tidak menunjukkan aktivitas dalam menghambat jamur patogen

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia

Parameter	Ekstrak SCPPB1.10
Alkaloid	-
Saponin	-
Fenolik	+
Triterpenoid	+
Flavanoid	+
Steroid	-

Senyawa flavonoid merupakan turunan dari senyawa fenol. Aktivitas senyawa fenol adalah dengan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme. Membran plasma bersifat

semipermeabel dan berfungsi mengendalikan transpor berbagai metabolit ke dalam dan ke luar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran (1.14).

Senyawa fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel dan membran sel, serta bersifat fungistatik atau fungisidal tergantung konsentrasinya. Pada konsentrasi 0,1-2% fenol merusak membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran metabolit dan selain itu menginaktifkan sejumlah enzim. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran akan mengalami lisis.

Fungsi dari senyawa terpenoid ini adalah antibakteri, antijamur, antivirus, dan dapat digunakan dalam pengobatan dan terapi. Triterpenoid adalah senyawa yang mendominasi senyawa terpenoid dengan jumlah rantai 3 kali rantai terpenoid, yang memiliki aktivitas antimikroba yang terbaik.

KESIMPULAN

Kandungan senyawa diperoleh dari ekstrak berdasarkan uji fitokimia adalah Fenolik, Triterpenoid, Flavanoid. Aktivitas antijamur diperoleh dari ekstrak konsentrasi minimum 1 ppm dengan zona hambat sebesar $7,31 \pm 0,410122$

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap pembimbing dan penguji, juga

kepada Biro Perencanaan dan Kerjasama Luar Negeri (BPKLN) Beasiswa Unggulan Kemendikbud yang telah memberikan beasiswa kepada penulis, serta semua pihak yang telah membantu penulis.

DAFTAR RUJUKAN

- a. Radhika P. 2006. Chemical Constituents and Biological Activities of The Soft Coral of Genus *Cladiella*: A Review Biochemical Systematics and Ecological 34:781-789
 - b. Badria FA, Guirguis AN, Perovic S, Steffen R, Muller WEG, and Schroder HC. 1998. Sarcophytolide: a new neuroprotective compound from soft coral *Sarcophyton glaucum*. *Toxicology*, 131(3):133-143.
- [2] (1.3), Ebel, R. 2010. Terpenes from Marine Derived Fungi. Marine Biodiscovery Centre
- a. Bugni TS, Ireland CM. 2004. Marine-derived fungi: A Chemically and Biologically Diverse Group of Microorganisms. *Nat. Prod. Rep.*, 21:143-63.
 - b. Kohlmeyer J, Kohlmeyer E . 1979. Marine mycology: The Higher Fungi. Academic Press, New York.
 - c. Simatupang, M. M. 2009. *Candida albicans*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan. 17 hlm.

- [3] (1.7). Sukandar, E.Y., A. G. Suganda dan G. U. Pertiwi . 2006. Uji Aktivitas Antijamur Salep dan Krim Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia cattapa L.* pada Kulit Kelinci. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(3) : 123-129.
- [4] (1.8) Terkina, I.A., V.V. Parfenova and T.S. Ahn. 2006. Antagonistic Activity of Actinomycetes of Lake Baikal. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 42:173-176.
- [5] (1.9) Jorgensen, J.H., and Ferraro, M.J. 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infect. Dis.* 49 : 1749-55. Dobrestsov, 2006 (1.10)
- [6] (1.11) Sabdono, A., and O.K. Radjasa. 2006. Anti – Bacterial Property of A Coral-Associated Bacterium *Basillus sp.* Againsts Coral Pathogenic Black Band Disease (BBD). *J.coast.dev*, 9 (3) : 175 – 182.
- [7] (1.12) Proksch, P., R. A. Edrada., and R. Ebel. 2002. Drugs from The Seas - Current Status and Microbiological Implications. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 59 : 125 - 134.
- [8] (1.13) Ernawati. 2007. Penapisan dan Fraksinasi Senyawa Antibakteri dari Rumput Laut Bulu Ayam. Institut Pertanian Bogor, Bogor, 88 hlm.
- [9] (1.14) Tortora, G.J., Funke, B.R., and Case, C.L. 2001. *Microbiology, An Introduction*. Cumming Publishing Company, California.

Tanya Jawab

Pemalakah : Didha Andini Putri
 Penanya : Intan Kurnia Putri
 Pertanyaan : Bagaimana cara isolasi yang saudara gunakan dan jelaskan!

Hasil 37 isolat tersebut apakah hasil akhir sampel yang didapatkan atau sekedar ekstrak kasar?

Jawaban : Cara isolasi sampel dengan metode pengenceran dari 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Hasil 37 isolat adalah jumlah isolate sampel jamur yang akan dilakukan surining selanjutnya.

Pemalakah : Dhida
 Penanya : Enny Fachriyah
 Pertanyaan :

a. Mengapa menggunakan pelarut CH_3OH ?
 b. Metode uji?

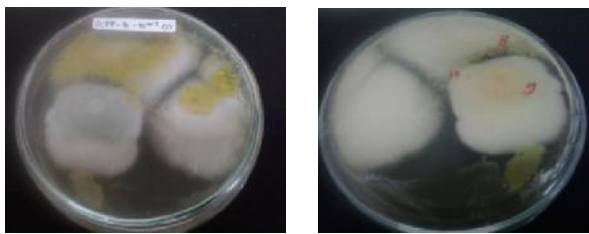
Jawaban :
 a. Karena metunal merupakan senyawa polar yang akan mengikat senyawa organik lebih banyak. Nantinya hasil ekstrak kasar metunal akan difraksinasi senyawa NP dan SP
 b. Metode uji dengan difusi (kertas cakram)

Tabel 1. Karakter Morfologi Jamur yang Bersimbion dengan Karang Lunak

Kode Isolat	Bentuk	Warna	Tekstur
SCPP B 3.1	Bulat dan berserabut	Putih bagian tengah biru	Kasar
SCPP B 3.2	Tidak beraturan	Biru pada bagian tengah sekelilingnya putih	kasar
SCPP B 3.3	Bulat bergerigi dan berserabut	Biru pada bagian tengah berserabut coklat	halus
SCPP B 3.4	Bulat	Kuning pekar	Cembung dan halus
SCPP B 2.5	Bulat, cembung, berhifa	putih	Berserabut
SCPP D 3.6	Tidak beraturan	Putih	Berserabut
SCPP D 3.7	Bulat kecil	Bagian tengah kuning dengan hifa disekeliling	Halus
SCPP B 1.8	Hifa kuning tidak beraturan	Kuning keoklatan	Berserabut

SCPP B 1.9	Bulat bertali	putih	halus
SCPP B 1.10	Bulat kecil	Hijau	Cembung
SCPP D 2.11	Bulat, hifa	Kuning disekeliling hitam	berserabut
SCPP C 3.12	Membentuk kawah	hitam	kasar
SCPP C 1.13	Tidak beraturan	Hitam	Cekung
SCPP C 1.14	Bulat	Putih susu	Cembung
SCPP C 1.15	Bulat , berhifa dan berinti	Bagian inti putih disekeliling biru	Berserabut
SCPP A 1.16	Bulat dan berhifa	Putih, biru	berserabut
SCPP D 1.17	Bulat kecil dan berhifa	Putih	Berserabut
SCPP E 3.18	Tidak beraturan	Putih pekat	Berserabut
SCPP E 1.19	Tidak beraturan	Putih	Berhifa
SCPP A 3.20	Bulat bergerigi	Pink Pekat	Cembung
SCPP E 3.21	Tidak beraturan dan berinti	Putih dibagi inti berwarna pink	Berinti dan halus

Lampiran



Gambar 1. Isolat Jamur Simbion karang Lunak SCPPB 1.10



Gambar 2. Hasil Uji Kualitatif dengan metode Overlay

Gambar 3. Hasil uji Aktivitas Antijamur

