IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KAPANG LAUT DIISOLASI DARI KORAL LUNAK *FAVITES* SP.

IDENTIFICATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MARINE FUNGI ISOLATED FROM SOFT CORAL *FAVITES* SP.

**Akhmad Zainal Fanani¹, Tisa Ayu Novitasari¹, Siti Choiriah Rofi'ah¹,
Siti Nur Rukhoiyah Dewi¹, Heru Pramono^{2*}**

¹Prodi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga,
Surabaya, Indonesia

²Departemen Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya,
Indonesia

Diterima: 18-02-19; Disetujui: 29-04-19; Diterbitkan: 12-08-19

*Corresponding author: E-mail: heru.pramono@fpk.unair.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat kapang yang berasosiasi dengan koral lunak *Favites* sp. dan mengetahui aktivitas antibakterinya. *Favites* sp. diperoleh dari pemasok koral untuk akuarium. Sampel koral diambil dan dibilas dengan menggunakan air tawar dan akuades sebelum dilakukan proses isolasi kapang pada medium Potato Dextrose Agar. Setelah diperoleh kultur murni, isolat kapang disimpan pada medium PDA miring dan diidentifikasi secara morfologi dengan menggunakan metode kultur slide. Diperoleh enam spesies kapang dan berdasarkan hasil identifikasi morfologi yaitu *Candida* sp., *Fusarium* sp., *Cladophialophora* sp., *Phaeoacremonium* sp., dan *Trichophyton* sp. Kapang telah diuji aktivitas antibakteri dengan metode *overlay* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Phaeoacremonium* sp dan *Trichophyton* sp. menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan potensial diteliti lebih lanjut sebagai kandidat penghasil antibakteri.

Kata Kunci: *Favites* sp., Antibakteri, Kapang laut, Koral lunak

Abstract

The aims of this study was to investigate the antimicrobial activity of fungi associated with coral. The fungi was cultured by streak plate method on potato dextrose agar (PDA) and reisolated with the same medium and were stored in slant agar for identified with morphological approach. Antibacterial activity fungi associated with coral was tested using overlay method against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Based on morphological analysis, five fungi were identified as *Candida* sp., *Fusarium* sp., *Cladophialophora* sp., *Phaeoacremonium* sp., and *Trichophyton* sp. The antibacterial assay showed that *Phaeoacremonium* sp. and *Trichophyton* sp. has antibacterial activity and potential as source of antibacterial for further study.

Key Words: *Favites* sp., Antibacterial, Marine Fungi, Soft Coral

How to Cite: Fanani, A.Z., Novitasari, T.A., Rofi'ah, S.C., Dewi, S.N.R., Pramono, H. (2019). Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Kapang Laut Diisolasi dari Koral Lunak *Favites* sp., *BioLink : Jurnal Biologi Lingkungan, Industri dan Kesehatan*, Vol.6 (1): Hal. 16-24

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan sumber biodiversitas yang tinggi. Biodiversitas organisme dan bahan kimia dari laut merupakan salah satu sumber potensial bagi industri dan kesehatan (Qin *et al.*, 2017). Biodiversitas laut tersebut mayoritas dieksplorasi untuk memperoleh bahan bioaktif laut (Carté 1996, Strobel, 2003, Qin, 2017). Kapang sebagai salah satu organisme laut telah menarik banyak perhatian dewasa ini karena terbukti menghasilkan senyawa bioaktif yang bervariasi, baik secara struktural maupun secara fungsional. Kapang laut juga dinilai sangat potensial sebagai sumber obat antimikroba (Blunt *et al.*, 2014).

Ekosistem karang merupakan lingkungan yang memiliki biodiversitas tinggi pada daerah tropis maupun subtropis. Ekosistem karang juga diketahui lebih kaya secara biodiversitas dibandingkan dengan hutan hujan tropis (Mulhall, 2009). Mikroba yang berasosiasi pada koral memiliki diversitas secara genetik maupun ekologis dan dipercaya sebagai sumber bahan aktif yang menjaga kesehatan koral sebagai inang serta dalam melakukan adaptasi terhadap kondisi ekstrem lingkungan laut (Rosenberg *et al.*, 2007; Qin, 2017). Diversitas mikroba pada koral menjadi landasan dilakukan

eksplorasi sumber metabolit dari kapang laut.

Studi eksplorasi bahan bioaktif dari mikroba berasosiasi pada koral telah dilakukan dewasa ini. Komponen seperti asperazin, spiciferons A, spiciferons B, serta antibiotika telah ditemukan terdapat pada mikroba berasosiasi dengan koral dan diketahui mampu mempertahankan inang dari serangan penyakit (Raghukumar, 2008; Blunt *et al.*, 2015). Kapang laut sebagai sumber bahan bioaktif tumbuh pada berbagai lingkungan laut seperti sedimen, air laut, tanaman laut, invertebrata, vertebrata, dan bebatuan (Jones, 2011). Beberapa studi sebelumnya berfokus pada isolasi dan identifikasi kapang dari ekosistem laut (Qin *et al.*, 2017, Da Silva *et al.* 2008, Xu *et al.* 2011,). Penelitian lain juga telah melaporkan bahwa dari 31 taksa, 123 isolat kapang yang diperoleh dari Laut Cina Selatan terdapat 31 isolat yang memiliki aktivitas antimikroba (Xu *et al.*, 2018). Meskipun demikian, penelitian isolasi kapang dan uji aktivitas antimikroba kapang berasosiasi dengan karang *Favites* sp. belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah melakukan isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antimikroba kapang yang berasosiasi dengan koral *Favites* sp. dari Jawa Timur.

METODE PENELITIAN

Koleksi sampel

Sebanyak lima buah sampel dengan jenis *Favites* sp. dibeli dari penjual karang hias di Pasar Ikan Gunung Sari, Surabaya, Indonesia. Karang jenis *Favites* yang telah dibeli dibawa ke laboratorium beserta dengan air laut yang digunakan untuk memelihara karang. Sampel kemudian dicuci dengan air kran sebanyak dua kali untuk menghilangkan kotoran yang menempel, serta dilanjutkan dengan membilas dengan akuades steril sebelum dilakukan proses isolasi kapang.

Isolasi kapang

Sampel karang *Favites* sp. yang telah dibilas dengan akuades steril dihancurkan menggunakan mortar dan alu steril dan sebanyak 0.1 mikroliter ditebar ulas pada permukaan medium Potato Dextrose Agar (PDA, HiMedia, India) yang telah disuplementasi dengan 1% NaCl. Plate tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 5-7 hari. Kapang yang telah tumbuh kemudian disubkultur berdasarkan makromorfologi (warna koloni, tekstur, bentuk percabangan miselia, dan pigmen terlarut) pada media PDA salin yang baru. Setelah diperoleh kultur murni, isolat ditumbuhkan pada media PDA miring dan disimpan pada suhu 4°C hingga dilakukan uji lebih lanjut (Xu *et al.*, 2018).

Identifikasi kapang

Kapang yang telah diperoleh kemudian dilakukan identifikasi secara makroskopis berdasarkan ciri - ciri morfologi dengan melihat secara langsung bentuk dan warna koloni yang tumbuh. Secara mikroskopis identifikasi dengan metode *slide culture*. Cawan petri didalamnya diberikan alas kapas dan diatasnya ada 2 penampang tusuk gigi steril. Objek gelas yang steril diletakkan di atas penampang dan diberi potongan berukuran 1 x 1 cm² medium PDA. Kapang yang telah diperoleh diinokulasi ke medium PDA tersebut kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu 25°C. Slide yang telah ditumbuhi oleh kapang diambil dan morfologi kapang yang tumbuh diamati menggunakan mikroskop binokuler pada perbesaran 1.000x. Hasil identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis dibandingkan dengan buku *identification of pathogenic fungi* (Colin *et al.*, 2013).

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menumbuhkan isolat kapang pada medium PDA kemudian diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu 25°C. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode *overlay* pada media Mueller-Hinton Agar (MHA) *soft agar*. Sebanyak 50 ml MHA *soft agar* yang telah dicampur dengan isolat

bakteri indikator *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebanyak 0,5 ml. Isolat bakteri indikator diencerkan pada NaCl hingga kepadatan McFarland 1. Campuran media MHA dan isolat bakteri kemudian dituang pada media PDA yang telah berisi isolat kapang yang telah tumbuh, dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan zona hambat yang terbentuk. Isolat yang menghasilkan senyawa antibakteri ditunjukkan oleh zona jernih di sekeliling koloni. Data aktivitas antibakteri ditentukan dengan pengukuran diameter zona jernih yang dihasilkan dikurangi diameter koloni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi kapang

Berdasarkan identifikasi kapang didapatkan jumlah isolat kapang dari koral lunak terdapat 6 isolat. Isolat tersebut telah berhasil diidentifikasi berdasarkan morfologi, baik makroskopis maupun mikroskopis dan diketahui isolate tersebut yaitu JC 2-2 *Candida* sp., JC3-6 *Candida* sp., JC 3-7 *Fusarium* sp., JC4-1 *Cladophialophora* sp., JC6-1 *Phaeoacremonium* sp., JC6-2 *Trichophyton* sp. Karakteristik isolat tersebut ditunjukkan oleh Tabel 1. *Candida* sp. merupakan jenis kapang yang memiliki sel-sel yang membentuk koloni putih

berbentuk kubah yang halus. Koloni dapat terlihat berbentuk bintang, cincin, kerutan tidak teratur, topi, *stipple*, dan *fuzzy* (Sudberry *et al.*, 2004). *Candida* ditemukan di tanah maupun perairan, namun apabila ditemukan di laut menunjukkan adanya kontaminasi antropogenik (Kunnen *et al.*, 1971).

Lebih lanjut, kapang *Fusarium* yang ditemukan pada penelitian ini selaras dengan morfologi yang ditunjukkan oleh Trabelsi *et al.*, (2017). *Fusarium* sp. memiliki makrokonodia melengkung, kladidospora yang banyak terdapat pada miselium, dan memiliki struktur dinding sel yang tebal. *Fusarium* dapat dibedakan dari warna miselium dan pigmen yang dihasilkan. *Fusarium* dilaporkan bersimbiosis pada sponge jenis *Tethya aurantium* (Wiese *et al.*, 2011) dan mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder equisetin anti-HIV-1.

Kapang jenis *Cladophialophora* sp. yang ditemukan pada penelitian ini memiliki morfologi yang sama dengan definisi Usui *et al.*, (2016). *Cladophialophora* memiliki koloni *white-rot* yang terdiri atas *hyphomycetes dematiaceous* yang menghasilkan konidiofor sederhana, konidia fusiform yang dibentuk dalam rantai acropetal, bercabang atau tidak.

Tabel 1. Karakter makroskopis isolat kapang yang diisolasi dari *Favites* sp.

Kode Isolat	Makroskopis (PDA, inkubasi 30°C selama 5 hari)	Karakteristik
<i>Candida parapsilosis</i>		berwarna hitam krem, permukaan halus dan terlihat mengkilap
<i>Candida lipolytica</i>		koloni berwarna krem, bagian permukaan menonjol ke atas
<i>Fusarium proliferatum</i>		koloni berbentuk floccose, berwarna putih hingga merah muda.
<i>Cladophialophora bantiana</i>		bentuk koloni menumpuk, permukaan bertekstur bubuk, berwarna hitam.
<i>Phaeoacremonium parasiticum</i>		Bagian permukaan kasar, berbentuk floccose, berwarna putih keabu abuan.
<i>Trichophyton rubrum</i>		Bagian permukaan halus dan bagian tengah menonjol ke atas, berwarna putih ke kuning

Tabel 2. Karakter mikroskopis isolat kapang yang diisolasi dari *Favites* sp.

Kode Isolat	Mikroskopis (Mikroskop perbesaran 400x)	Karakteristik
<i>Candida parapsilosis</i>		Mempunyai pseudohifa bercabang, bagian ujung cabang besar.
<i>Candida lipolytica</i>		mempunyai hifa dan pseudohifa yang sendiri atau berpasangan
<i>Fusarium proliferatum</i>		memiliki conidia, microconidia dan macroconia.
<i>Cladophialophora bantiana</i>		cabang tidak padat, conidia memanjang dengan ujung runcing.
<i>Phaeoacremonium parasiticum</i>		phialid berbentuk oval kecil, cabang conidiophore tebal.
<i>Trichophyton rubrum</i>		Macroconidia tidak ada, microconia jarang, berbentuk klub bulat.

Cladialophora yang ditemukan pada *Favites* sp. pada penelitian ini juga selaras dengan yang disampaikan oleh Prenafeta-Boldú *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa *Cladophialophora* sp. banyak ditemukan pada air dengan pencemaran minyak. *Cladophialophora* sp. diketahui mampu menghasilkan enzim yang mereduksi senyawa aromatis hidrokarbon, serta menghasilkan senyawa metabolit sekunder toluena yang mendegradasi etilbenzena dan xilena.

Phaeoacremonium sp. yang ditemukan pada penelitian ini menunjukkan hifa tunggal dengan warna pucat atau cokelat tua, sesuai dengan

deskripsi yang disampaikan oleh Mostert *et al.*, (2006). Lebih lanjut, *Phaeoacremonium* sp. banyak ditemukan pada kayu atau tanah (Rooney *et al.*, 2001, Crous & Gams, 2000, Dupont *et al.*, 2002). Meskipun demikian, belum dilaporkan terdapat pada ekosistem laut, sehingga terdapat kemungkinan sebagai akibat anthropogenic pada saat koral diambil dan ditransportasi menuju ke lokasi penjualan.

Trichophyton sp. dilaporkan terdapat pada tanah yang terkontaminasi dan mampu menghasilkan enzim keratinase yang mampu mendegradasi keratin (Anbu *et al.*, 2008) dan termasuk dalam kategori patogen (Lee *et al.*, 2010).

Tabel 3. Aktivitas antibakteri isolat kapang yang berasosiasi dengan *Favites* sp.

Isolat	Diameter Zona Hambat (mm) ± standar deviasi	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	0	0
<i>Candida lipolytica</i>	0	0
<i>Fusarium proliferatum</i>	0	0
<i>Cladophialophora bantiana</i>	0	0
<i>Phaeoacremonium parasiticum</i>	3 ± 0.57	1 ± 0.57
<i>Trichophyton rubrum</i>	6 ± 0.28	5 ± 0.51

Keterangan: n=3 replikasi

Berdasarkan hasil identifikasi dan uji aktivitas antimikroba, diketahui bahwa *Phaeoacremonium* sp. dan *Trichophyton* sp. memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian Reátegui *et al.* (2006) menunjukkan bahwa *Phaeoacremonium* sp. menghasilkan senyawa fungisida *phaeofurans* A dan B yang mampu menghambat pertumbuhan kapang, meskipun tidak memiliki aktivitas antibakteri. *Phaeoacremonium* sp. yang diisolasi dari *Favites* sp. menunjukkan

aktivitas antibakteri. Penelitian Powthong *et al.* (2013) menunjukkan bahwa kapang *Phaeoacremonium* diperoleh dari *Sesbania grandiflora*. Pada penelitian lain, *Phaeoacremonium* sp. terdapat pada *Rhizophora mucronata*, jenis tanaman mangrove (Dayarathne *et al.*, 2019). Hal tersebut mengindikasikan bahwa kapang *Phaeoacremonium* sp. umumnya ditemukan organisme yang bervariasi, mulai dari terestrial hingga pantai, dengan

aktivitas yang cukup luas mulai dari antibakteri maupun antifungal.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil identifikasi secara morfologi, diperoleh enam spesies kapang laut yang berasosiasi dengan *Favites* sp., yaitu *Candida parapsilosis*, *Candida lipolytica*, *Fusarium proliferatum*, *Cladophialophora bantiana*, *Phaeoacremonium parasiticum*, dan *Trichophyton rubrum*. Isolat *Phaeoacremonium parasiticum*, dan *Trichophyton rubrum* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anbu, P., Hilda, A., Sur, H.W., Hur, B.K. and Jayanthi, S. (2008). Extracellular keratinase from *Trichophyton* sp. HA-2 isolated from feather dumping soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62(3), pp.287-292.
- Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H., & Prinsep, M. R. (2014). Marine natural products. *Natural product reports*, 31(2), 160-258.
- Carte, B. K. (1996). Biomedical potential of marine natural products. *Bioscience*, 46(4), 271-286.
- Colin, K., Campbell, Elizabeth, M., & David, W. (2013). *Identification of Pathogenic Fungi* Second Edition. USA: Blackwell Publishing, 11-16.
- Dayarathne, M. C., Maharachchikumbura, S. S., Jones, G., Al-Sadi, A. M., Hyde, K. D., & Chomnunti, P. (2019). Sexual morph of *Phaeoacremonium aureum* from *Rhizophora mucronata* collected in southern Thailand. *Phytotaxa*, 387(1), 21-39.
- Dupont, J., Magnin, S., Cesari, C. and Gatica, M., (2002). ITS and β -tubulin markers help delineate *Phaeoacremonium* species, and the occurrence of *P. parasiticum* in grapevine disease in Argentina. *Mycological Research*, 106(10), pp.1143-1150.
- Espagne, E., Lespinet, O., Malagnac, F., Da Silva, C., Jaillon, O., Porcel, B. M., ...& Anthouard, V. (2008). The genome sequence of the model ascomycete fungus *Podospora anserina*. *Genome biology*, 9(5), R77.
- Jones, E. G. (2011). Are there more marine fungi to be described?. *Botanica Marina*, 54(4), 343-354.
- Kunen, S., G., Claus, P., Madri, And L., Peyser. (1971). The Ingestion and Digestion of Yeast-Like Fungiby the Sponge. *Microcionia prolifera*. *Hydrobiologia*, 38 (3-4): 565-576.
- Lee, M. H., Lee, K. B., Oh, S. M., Lee, B. H., & Chee, H. Y. (2010). Antifungal activities of dieckol isolated from the marine brown alga *Ecklonia cava* against *Trichophyton rubrum*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53(4), 504-507.
- Mostert, L., Groenewald, J.Z., Summerbell, R.C., Gams, W. and Crous, P.W., 2006. Taxonomy and pathology of Togninia (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies in Mycology*, 54, pp.1-113.
- Mulhall, M. Saving the Rainforests of the Sea: An Analysis of International Efforts to Conserve Coral Reefs. (2009). In *Duke Environmental Law and Policy Forum* (Vol. 19, pp. 321-at).
- Peter Sudbery, P., Neil, G., and Judith, B. (2004). The Distinct Morphogenic States of *Candida albicans*. *TRENDS in Microbiology*, 1-8.
- Prenafeta-Boldú, F., J., Vervoort, J., Grotenhuis, and J., Groenestijn. (2002). Substrate Interactions during the Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylene (BTEX) Hydrocarbons by the Fungus *Cladophialophora* sp. Strain Ti. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (6): 2660-2665.
- Qin, S., Feng, W. W., Wang, T. T., Ding, P., Xing, K., & Jiang, J. H. (2017). Plant growth-promoting effect and genomic analysis of the beneficial endophyte *Streptomyces* sp. KLBMP 5084 isolated from halophyte *Limonium sinense*. *Plant and Soil*, 416(1-2), 117-132.
- Raghukumar, C. (2008). Marine fungal biotechnology: an ecological perspective.
- Reátegui, R. F., Wicklow, D. T., & Gloer, J. B. (2006). Phaeofurans and sorbicillin analogues from a fungicolous *Phaeoacremonium* species (NRRL 32148). *Journal of natural products*, 69(1), 113-117.
- Rooney-Latham, S., Eskalen, A. and Gubler, W.D., (2005). Teleomorph formation of *Phaeoacremonium aleophilum*, cause of esca and grapevine decline in California. *Plant Disease*, 89(2), pp.177-184.

- Rosenberg, E., Koren, O., Reshef, L., Efrony, R., & Zilber-Rosenberg, I. (2007). The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), 355.
- Silva, G. H., Zeraik, M. L., de Oliveira, C. M., Teles, H. L., Trevisan, H. C., Pfenning, L. H., ... & Saraiva, A. C. (2017). Lactone derivatives produced by a *Phaeoacremonium* sp., an endophytic fungus from *Senna spectabilis*. *Journal of natural products*, 80(5), 1674-1678.
- Strobel, G., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(4), 491-502.
- Trabelsi, R., Manel, C., Radhouane, G., Hanen, S., Sonia, K., Ya^akoub, G., Mariem, D., Mohamed, A., Samira, K., and Aymen, M. (2017). Morphological and Molecular Characterization of *Fusarium* spp. Associated with Olive Trees Dieback in Tunisia. *3 Biotech*, 7:28.
- Usui, E., Yusuke, T., and Kazuhiko, N. (2016). *Cladophialophora inabaensis* sp. nov., a New Species among the Dark Septate Endophytes from a Secondary Forest in Tottori, Japan. *Microbes Environ.*, 31(3): 357-360.
- Wiese, J., Birgit, O., Martina, B., Rolf, S., and Johannes, F. (2011). Phylogenetic Identification of Fungi Isolated from the Marine Sponge *Tethya aurantium* and Identification of Their Secondary Metabolites. *Mar. Drugs*, 9: 561-585.
- Xu, H. B., Tsukuda, M., Takahara, Y., Sato, T., Gu, J. D., & Katayama, Y. (2018). Lithoautotrophical oxidation of elemental sulfur by fungi including *Fusarium solani* isolated from sandstone Angkor temples. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 95-102.