

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit akibat infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang. Infeksi dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain, dari hewan ke manusia. Beberapa mikroorganisme penyebab infeksi diantaranya bakteri, virus, jamur dan protozoa. Penggunaan antibiotik dalam mengobati infeksi masih merupakan pilihan utama saat ini, khususnya pada negara-negara berkembang seperti Indonesia. Namun pada kenyataannya, banyak bakteri yang mengalami resistensi terhadap antibiotik. Resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan masalah kesehatan masyarakat di seluruh dunia yang masih terus berkembang. Salah satu penyebabnya karena penyalahgunaan antibiotik (Sulistiyani et al., 2014). Akibat banyaknya kejadian resistensi antibiotik dapat dilakukan eksplorasi antibiotik baru, atau dengan cara modifikasi kimiawi dari antibiotik yang sudah ada, serta dilakukan pengembangan antibiotik yang lebih baik, misalnya antibiotik yang berasal dari alam khususnya laut (Rante et al., 2020).

Sulawesi Selatan merupakan salah satu tempat budidaya rumput laut di Indonesia yang dilatarbelakangi dengan kondisi wilayah geografis, yang dimana sepanjang wilayah kabupaten yang terdapat di Sulawesi Selatan merupakan daerah pesisir pantai, khususnya Kabupaten Bulukumba. Bulukumba merupakan daerah di Sulawesi Selatan yang penduduknya bekerja sebagai nelayan dan melakukan budidaya rumput laut jenis *E. cottonii* (Syarif et al., 2018).

Rumput laut memiliki potensi yang cukup besar dan tersebar di hampir seluruh perairan nusantara (Nurjanna et al., 2011). Beberapa jenis rumput laut dapat dimanfaatkan untuk kesehatan karena mengandung senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis. Senyawa kimia tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antijamur, dan antivirus (Anggraini et al., 2021). Selain itu rumput laut juga memiliki kandungan metabolit primer yang dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik, vitamin, mineral, serat, alginate, dan agar (Triasti et al., 2015).

Rumput laut atau seaweed termasuk kelompok makroalga yang terdiri atas alga hijau (*Chlorophyceae*), alga hijau-biru (*Cyanophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae*), dan alga merah (*Rhodophyceae*). *E. cottonii* termasuk dalam alga merah (Syafitri et al., 2022). Rumput laut yang mengandung senyawa metabolit adalah alga merah dibandingkan dengan alga coklat. Berbagai bahan aktif dari alga merah telah diteliti dan ternyata sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, sitotoksik, dan lain-lain (Syafitri et al., 2022). Salah satu alga merah yang banyak di budidaya di kabupaten Bulukumba adalah *E. cottonii*.



E. cottonii memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, tannin, dan fenol hidrokuinon (Syafitri et al., 2022). Pemanfaatan metabolit sekunder pada alga, misalnya sebagai bahan bioaktif dapat menyebabkan terjadinya kepunahan. Maka dari itu, perlunya metode alternatif yang dapat dikembangkan untuk mengatasi masalah tersebut yaitu dengan memanfaatkan mikroba simbiosis dari *E. cottonii*. Pemanfaatan mikroba simbiosis merupakan salah satu solusi yang baik dalam mengeksploitasi bahan bioaktif yang dihasilkan akibat simbiosis antara bakteri dan alga merah (Ginting et al., 2019).

Mikroba simbiosis memiliki kemampuan yang hampir sama dengan inangnya dalam menghasilkan senyawa bioaktif. Keberadaan mikroba simbiosis pada umumnya untuk melindungi biota yang ditumpanginya dan dirinya sendiri dengan menghasilkan metabolit sekunder. Mikroba simbiosis dapat berupa bakteri ataupun jamur, memiliki khasiat dan kandungan kimia yang sama dengan *E. cottonii* itu sendiri, sehingga dengan mengisolasi mikroba simbiosisnya sudah dapat mewakili karakteristik dari makroalga *E. cottonii* sebagai inang (Linda et al., 2022). Pemanfaatan mikroba simbiosis lebih efektif digunakan dibandingkan mengekstraksi kasar rumput laut karena mudah dikultur di laboratorium sehingga dapat mengurangi penggunaan bahan alam yang berlebihan (Rahmayanti et al., 2019).

Selain itu, *E. cottonii* juga memiliki metabolit primer yang disebut sebagai senyawa *phycocolloid* seperti karaginan, agar, dan alginat. Karaginan merupakan senyawa polisakarida yang dihasilkan dari beberapa jenis alga merah yang senyawa bioaktifnya memiliki aktivitas biologis sebagai antivirus, antifungi, antibakteri, dan antiinflamasi (Octaviani et al., 2020). Hal ini menunjukkan bahwa rumput laut memiliki prospek yang masih terbuka untuk dikembangkan dalam sebuah penelitian terutama sebagai antifungi.

Antifungi merupakan zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba terutama fungi (jamur) yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan jamur, sedangkan toksisitasnya terhadap manusia relatif kecil (Minarni et al., 2020). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Hutaso et al., (2013), *E. cottonii* memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Julyasih et al., (2019) rumput laut yang berpotensi sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* adalah jenis *Padina* sp. dari kelompok Alga coklat (*Phaeophyta*) dengan diameter zona hambat 23 mm.

Penelitian lain oleh Tadjuddin et al., (2013), telah mengisolasi bakteri dari rumput laut *E. cottonii* asal kabupaten Takalar diperoleh 3 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji *ureus* dan *Escherichia coli* dan salah satu isolat bakteri memiliki aktivitas antibiotika dengan daya hambat terbesar terhadap *coli* (9.43 mm). Namun penelitian terkait aktivitas antifunginya sehingga perlunya dilakukan penelitian eksplorasi untuk



mendapatkan isolat fungi simbion yang berasal dari rumput laut *E. cottoni* sebagai penghasil senyawa antifungi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana cara mengisolasi fungi simbion pada Rumput Laut *E. cottoni* ?
2. Apakah fungi simbion yang terdapat pada Rumput Laut *E. cottoni* dapat menghambat pertumbuhan fungi ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui cara mengisolasi fungi simbion pada Rumput Laut *E. cottoni*
2. Untuk mengetahui metabolit sekunder pada Rumput Laut *E. cottoni* yang dapat menghambat pertumbuhan fungi



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu autoklaf (*All American Model 25x-2*[®]), batang pengaduk, botol infus, bunsen, cawan petri, cawan porselen, corong, corong pisah (*Pyrex*[®]), densitometry (*Biosan*[®]), enkas, gelas Beakar, gelas ukur (*Pyrex*[®]), inkubator (*Memmert*[®]), jangka sorong (*Tricle Brand*[®]), kompor listrik (*Memmert*[®]), *Laminator Air Flow* (*Labolytic*[®]), labu Erlenmeyer (*Pyrex*[®]), lumpang, lampu spiritus, lemari pendingin (*Panasonic*[®]), mikropipet (*Dragonlab*[®]), ose bulat, oven (*Memmert*[®]), pinset, rak tabung, sendok tanduk, spoit (*OneMed*[®]), tabung reaksi (*Pyrex*[®]), timbangan analitik (*Acis*[®]), vial, dan vortex .

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *aquadest*, *cotton swab* steril, etil asetat, fungi uji *C. albicans*, kertas saring, larutan NaCl 0,9%, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), medium *Potato Dextrose Broth* (PDB), medium *Yeast Extract*, *paper disc* nystatin, sampel Rumput Laut *E. cottonii*, dan WaterOne.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Penyiapan Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci hingga bersih menggunakan sabun, dibilas menggunakan air mengalir, dikeringkan, kemudian dibungkus dan disterilkan Labu Erlenmeyer, vial, dan tabung reaksi terlebih dahulu diberi sumbat dari kapas dan kasa bersih. Alat yang terbuat dari bahan gelas dan memiliki skala disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat-alat yang tahan terhadap pemanasan dan tidak memiliki skala disterilkan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1 jam

2.2.2 Penyiapan Media

Pada penelitian ini digunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Potato Dextrose Yeast* (PDY) yang terdiri dari *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan *Yeast Extract*, yang dibuat dengan cara serbuk media ditimbang sesuai dengan komposisi yang tertera pada etiket, kemudian dilarutkan menggunakan water one pada labu Erlenmeyer. Kemudian, media dipanaskan hingga larut, lalu disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.



an Sampel

nakan adalah rumput laut *E. cottonii* asal pesisir pantai an Ujungbulu, Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan. an air laut hingga bersih dan dimasukkan ke dalam wadah . Kemudian ditempatkan ke dalam *cool box* dan dibawa ke di isolasi.

2.2.4 Preparasi Sampel

Sampel *E. cottoni* dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, lalu dibilas kembali menggunakan air steril. Sampel dipotong menggunakan pisau bedah steril dan dihaluskan menggunakan lumpang steril. Kemudian, sampel ditimbang sebanyak 1 gram, lalu dimasukkan kedalam 9 mL water one untuk membuat pengenceran bertingkat 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} .

2.2.5 Isolasi dan Pemurniaan Fungi Simbion

Fungi simbion diisolasi menggunakan media PDA dengan metode tuang. Media PDA dituang sebanyak 15 mL pada cawan petri, dibiarkan memadat, kemudian diinokulasikan 1 mL sampel dari pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-3} dan dihomogenkan. Media dibiarkan memadat lalu diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu 25°C. Setelah didapat koloni fungi yang tumbuh dan terpisah baik kemudian diinokulasikan pada media PDA baru hingga diperoleh koloni fungi yang murni.

2.2.6 Penyiapan Fungi Uji

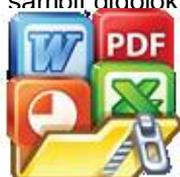
Inokulasikan biakan *C. albicans* kedalam 10 mL medium PDA dalam tabung reaksi dengan cara digoreskan pada agar miring dan diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu kamar 25°C. Fungi uji yang telah diremajakan, disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml, kemudian dihomogenkan dan dibandingkan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL),.

2.2.7 Skrining Aktivitas Antifungi

Uji antagonis dilakukan dengan cara suspensi fungi uji sebanyak 1 mL dituang ke cawan petri yang berisi 15 mL medium PDA dan dihomogenkan. Setelah itu, isolat dari fungi yang telah dimurnikan dipotong dan ditempel pada medium yang berisi fungi uji. Kemudian diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu 25°C. Zona hambat yang terbentuk diamati dan isolat diseleksi berdasarkan diameter zona hambat terbesar dan yang paling besar aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan fungi uji.

2.2.8 Fermentasi Isolat Fungi Simbion

Isolat yang aktif pada uji antagonis dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 200 mL medium PDY. Media difermentasikan selama 12 hari di suhu ruang sambil diagok menggunakan sheker dengan kecepatan 150 rpm.



Hasil Fermentasi

Untuk fermentasi, media fermentasi disaring untuk memisahkan cairan fermentasi. Cairan fermentasi diekstraksi menggunakan air-cair dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah. Setelah 15 menit lalu didiamkan hingga terbentuk dua lapisan.

Lapisan atas atau ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan cara dipindahkan ke wadah kecil kemudian diangin-anginkan hingga diperoleh ekstrak. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya akan diuji aktivitas antifunginya.

2.2.10 Uji Aktivitas Antifungi

Metode yang digunakan pada uji aktivitas antifungi adalah metode difusi cakram menggunakan *paper disc* dan diujikan terhadap fungsi uji *C. albicans*. Media PDA dituang pada cawan petri sebanyak 15 mL, ditunggu memadat lalu diinokulasikan suspensi *C. albicans* pada permukaan medium PDA menggunakan *cotton swab* steril (digores secara bertumpuk). Ekstrak supernatan hasil fermentasi dilarutkan pada etil asetat, lalu dibuat dalam konsentrasi 10% (2 mg/*disc*), 5%, 2,5%, dan 1,25% kemudian dicuplik sebanyak 20 μ L ke *paper disc* menggunakan mikropipet dan kontrol negatif yaitu etil asetat. *Disc* yang berisi ekstrak supernatan dan kontrol negatif didiamkan hingga mengering (selama 1 jam), kemudian diletakkan pada permukaan media PDA dan dimasukkan juga kontrol positif yaitu kertas cakram nistatin (25 μ g/*disc*) lalu diinkubasi pada suhu 25° selama 3 x 24 jam. Kemudian, zona hambat diamati dan diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong (Wibowo et al., 2023).

2.2.11 Analisis Data dan Penarikan Kesimpulan

Data yang telah diperoleh pada penelitian dianalisis kemudian dilakukan penarikan kesimpulan.

