

Skrining Beberapa Jenis Spons Sebagai Upaya Pencarian Bahan Bioaktif Antijamur *Aspergillus flavus* dan *Candida albicans*

Azis Rifai, Irene Ulsadriatny, Lilik Maslukah, Elis Indrayanti, Sri Sedjati dan Agus Trianto*

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedharto, SH, Tembalang Semarang. 50275
Email : trianto_telawur@yahoo.co.id

Abstrak

Spons telah diketahui sebagai sumber bahan bioaktif dengan berbagai bioaktivitas seperti antikanker, antivirus, antibakteri dan antijamur. Potensi spons sebagai bahan bioaktif belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data berbagai jenis spons yang berpotensi sebagai sumber bahan bioaktif anti jamur, maka dilakukan skrining terhadap *Aspergillus flavus* dan *Candida albicans*. Sampel dikoleksi dari perairan Bandengan dan Empurancak, Jepara dengan SCUBA diving dan *skin diving* pada bulan April 2003. Sampel selanjutnya diekstrak dengan menggunakan metanol. Uji antijamur dilakukan dengan metoda *disk diffusion agar* menurut Kirby-Bauer dengan konsentrasi 100, 200 dan 400 µg disk⁻¹. Rendemen ekstrak metanol pada spons berkisar antara 0.04% sampai dengan 7.34% dari berat basahnya. Seluruh ekstrak spons yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* dan *A. flavus* pada konsentrasi 200 dan 400 µg disk⁻¹. Ekstrak spons *Reniera* sp mempunyai bioaktivitas yang tertinggi yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat sebesar 12.58-14.93 mm terhadap *C. albicans* dan 6,94 -10,79 mm terhadap *A. flavus* pada konsentrasi uji.

Kata kunci : spons, bahan bioaktif, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, ekstrak

Abstract

Sponges have been known as sources of bioactive substances with various bioactivities such as anticancer, antivirus, antibacterial dan antifungal. The objective of this study was to get data of the potential sponges as a source of antifungal substance, a screening against *Aspergillus flavus* dan *Candida albicans*. The sponges samples were collected from Bandengan and Empurancak water Jepara by SCUBA and skin diving on April 2003. Then the samples were extracted with methanol. Antifungal assay was conducted by agar disc diffusion method according to Kirby-Bauer with concentration 100, 200 and 400 µg disc⁻¹ respectively. The methanol extract yield weight ranged between 0.04% and 7.34% from the wet weight sponges. All of the sponges extract could inhibited the growth of *C. albicans* and *A. flavus* at 200 and 400 µg disc⁻¹. Based on the efficacy against the fungal, *Reniera* sp is the most potential spongs as a source of antifungal substances. The *Reniera* sp inhibition zone were 12.58-14.93 mm and 6,94 -10,79 mm against *C. albicans* and *A. flavus* respectively.

Keywords: sponges, bioactive substances, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, extract

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai *center of biodiversity* mempunyai perairan yang sangat kaya akan keanekaragaman biota laut (Wallace, 2000). Spons merupakan organisme multiseluler yang termasuk dalam Filum Porifera yang banyak terdapat di perairan Indonesia (Collin and Arneson, 1995). Spons mencari makanan dengan menyaring makanan yang tersuspensi dalam air

atau disebut *filter feeder*. Sebagai *filter feeder*, spons mampu mengurangi berbagai patogen yang banyak terdapat di air laut dengan menghasilkan bahan bioaktif. Spons bersifat *sessil* dan tidak mempunyai pertahanan diri secara fisik, sehingga spons membutuhkan bahan bioaktif sebagai alat pertahanan diri dari kompetitor dan predator (Hooper, 2000). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa senyawa bioaktif mempunyai potensi

*) Corresponding author
laboska_undip@yahoo.com

<http://ejournal.undip.ac.id/index.php/buloma>

Diterima/Received : 20-07-2013
Disetujui/Accepted : 30-07-2013

sebagai antikanker, antioksidan, antivirus, antibakteri dan antijamur (Mayer *et al.*, 2009).

Sampai saat ini, penelitian tentang bahan bioaktif dari spons yang dilakukan oleh ilmuwan Indonesia masih sangat sedikit. Beberapa kendala yang dijumpai antara lain kurangnya tenaga ahli untuk mengambil sampel spons, rendahnya pengetahuan tentang spons itu sendiri dan tingginya biaya untuk penelitian (Bell and Barnes, 2002).

Salah satu cara untuk memecahkan masalah tersebut adalah dengan melakukan penelitian tahap demi tahap sehingga dengan biaya yang relatif kecil akan diperoleh *data base* yang akan berguna bagi penelitian selanjutnya. Penelitian ini bertujuan untuk menggali informasi awal tentang potensi spons yang terdapat di perairan Jepara.

MATERI DAN METODE

Kegiatan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi koleksi sampel, ekstraksi sampel, serta uji antijamur.

Koleksi Sampel Spons

Koleksi sampel dilakukan dengan *SCUBA* dan *skin diving* pada kedalaman 1-4 meter di perairan Bandengan dan Empurancak, Jepara pada bulan April 2003. Sebelum diambil, sampel difoto *in situ* terlebih dahulu, kemudian sampel diambil kurang lebih seberat satu kilogram. Setelah sampai di permukaan air, sampel difoto sekali lagi. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium dan segera disimpan di dalam freezer hingga proses ekstraksi (Trianto *et al.*, 2001).

Ekstraksi

Sampel dibersihkan dari pengotor yang menempel dan dipotong kecil-kecil, kemudian dimasukkan ke dalam labu *Erlenmeyer*, lalu diekstrak dengan metanol hingga semua bagian terendam. *Erlenmeyer flask* tersebut ditutup dengan *aluminium foil* rapat-rapat, kemudian disimpan didalam lemari es selama 24 jam. Setelah itu pelarut tersebut kemudian disaring dengan kertas saring *Whatman no.1* hingga habis, kemudian pelarut dipekatkan dengan *rotary evaporator*, hingga semua pelarut teruapkan. Proses ekstraksi diulangi sebanyak tiga kali.

Setelah benar-benar kering, *flask* dikeringkan lagi dengan *vacuum pump* selama sekitar dua jam (Trianto *et al.*, 2001).

Uji Anti Jamur

Kegiatan yang dilakukan dalam rangka uji anti jamur meliputi persiapan media, persiapan stok kultur, dan uji *agar disk diffusion method* (Kirby-Bauer method). Teknik pembuatan media dilakukan sesuai dengan prosedur standar yang ada dalam *Hand book of Microbiological Media* (Parks, 1993).

Uji *agar disk diffusion method*, dilakukan dengan terlebih dahulu menyiapkan media. *Agar plate* yang telah dipersiapkan selanjutnya diinokulasi dengan mikroba uji, dan didiamkan selama 15-30 menit.

Bahan uji sebanyak 100 µg diresapkan pada *paper disk* yang steril dan dibiarkan hingga pelarut teruapkan secara sempurna. Selanjutnya *paper disk* tersebut ditempatkan pada *agar plate* yang telah diinokulasi dengan mikroba uji dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruangan. Apabila ekstrak yang diujikan bersifat antijamur, maka akan timbul zona bening yang tidak ditumbuhi mikroba uji di sekitar *paper disk*. Diameter total zona bening ini diukur dengan jangka sorong. Kontrol negatif dengan menggunakan metanol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah spons yang berhasil disampling di perairan Jepara sebanyak lima jenis yaitu *Reniera* sp., *H. cymaeformis*, *Callyspongia* sp., *Speciospongia* sp. dan satu jenis yang belum diketahui genusnya.

Reniera sp. merupakan spons *macrobenthic* yang mempunyai bentuk koloni *digitate* dengan tipe permukaan *fistule* berbentuk tabung berwarna ungu, dengan tekstur yang kasar dan mudah patah. Habitat alaminya adalah perairan dengan substrat karang pada kedalaman 1 hingga 5 meter. Spons ini sangat mudah dikenali karena biasanya berasosiasi dengan nudibranch *Joruna funebris* yang merupakan predatornya (Rudman, 2008). *J. funebris* juga mengandung senyawa-senyawa yang dihasilkan spons *Reniera* sp. dan beberapa turunannya (Lane *et al.*, 2006).

H. cymaeformis adalah spons dengan koloni *ramose macrobenthic* dengan percabangan berbentuk silindris horisontal, oscula merata dipercabangan dan menghadap ke atas. Spons ini di alam berwarna hijau tua namun setelah diangkat akan berwarna hijau kecoklatan. Habitat alaminya adalah perairan dengan substrat karang pada kedalaman 1 hingga 4 meter. Warna hijau pada spons karena adanya simbiosis dengan alga hijau *Cladophoropsis vaucheriaformis* (Cheng, 2008; Hooper, 2000).

Gelliodes fibulata merupakan spons *macrobenthic* dengan bentuk *arborescent* yang mudah dikenali karena bentuknya yang khas dengan cabang-cabang yang dipenuhi duri-duri tajam. Spons ini berwarna abu-abu dengan tekstur yang kasar dan agak liat. Habitat alaminya adalah perairan dengan substrat karang pada kedalaman 1 hingga 4 meter. Perairan yang jernih, spons ini dapat ditemukan sampai pada kedalaman 15 meter (Colin and Arneson, 1995; Tanaka *et al.*, 2002).

Sphaciospongia sp. adalah demospongia *endolithic* berbentuk masif dengan oscula yang nampak jelas pada seluruh permukaannya. Spons ini berwarna coklat muda dengan tekstur halus

dan keras namun mudah patah. Habitat alaminya adalah perairan dengan substrat berlumpur pada kedalaman 0.5 m hingga 3 m (Cheng, 2008; Collin *et al.*, 2005; Hooper, 2000).

B1 adalah *Demospongia encrusting* dengan oscula pada ujung-ujung lobes. Spons ini berwarna hijau kekuningan dengan tekstur yang kasar dan rapuh. Habitatnya adalah perairan dengan substrat karang mati pada kedalaman 0.5 hingga 3 meter. Adapun berat sampel dan ekstrak masing-masing spons tercantum dalam Tabel 1.

Ekstrak spons tersebut kemudian diujikan terhadap jamur *C. albicans* dan *A. flavus* dengan metoda "Kirby-Bauer". Pada uji ini data yang diperoleh berupa diameter zona bening (zona hambatan) terhadap laju pertumbuhan jamur. Zona hambatan ekstrak spons terhadap laju pertumbuhan *C. albicans* masing-masing dapat dilihat pada Tabel 2, Sedangkan zona hambatan ekstrak spons terhadap laju pertumbuhan pada *A. flavus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Spons merupakan salah satu biota laut yang sangat berpotensi sebagai sumber bahan bioaktif baru. Hal ini telah dibuktikan dengan banyaknya penemuan metabolit sekunder yang sangat

Tabel 1. Berat sampel dan ekstrak dari beberapa jenis spons yang dikoleksi dari perairan Jepara.

Nama/Kode spons	Berat Sampel (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen ekstrak (%)
<i>Reniera</i> sp	31.7	1.4246	4.49
<i>H. cymaeformis</i>	73.7	0.3761	0.51
<i>G. fibulata</i>	35.9	2.6336	7.34
<i>Sphaciospongia</i> sp.	121.7	0.0481	0.04
B-1	179.6	0.0715	0.04

Tabel 2. Rerata dan standar deviasi zona hambatan ekstrak spons terhadap laju pertumbuhan *C. albicans* pada berbagai konsentrasi.

Nama/Kode spons	Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g disk}^{-1}$)			
	K-	100	200	400
<i>Reniera</i> sp	6.00 \pm 0.00	12.58 \pm 0.34	14.33 \pm 0.58	14.93 \pm 0.74
<i>H. cymaeformis</i>	6.00 \pm 0.00	6.11 \pm 0.08	7.47 \pm 0.97	9.75 \pm 0.66
<i>G. fibulata</i>	6.00 \pm 0.00	7.39 \pm 0.11	10.2 \pm 0.86	10.09 \pm 1.22
<i>Sphaciospongia</i> sp.	6.00 \pm 0.00	6.14 \pm 0.08	6.99 \pm 0.42	8.26 \pm 0.58
B-1	6.00 \pm 0.00	6.02 \pm 0.02	6.38 \pm 0.13	9.96 \pm 0.38

Tabel 3. Rerata dan standar deviasi zona hambatan ekstrak spons terhadap laju pertumbuhan jamur *A. flavus*.

Nama/Kode spons	Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g disk}^{-1}$)			
	K-	100	200	400
<i>Reniera</i> sp	6.00 ± 0.00	6.94 ± 0.18	8.07 ± 0.21	10.79 ± 1.24
<i>H. cymaeformis</i>	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	6.75 ± 0.86	7.49 ± 1.31
<i>G. fibulata</i>	6.00 ± 0.00	7.66 ± 0.93	7.94 ± 4.00	8.57 ± 1.19
<i>Spheciospongia</i> sp.	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00
B-1	6.00 ± 0.00	7.70 ± 0.03	8.59 ± 1.04	9.72 ± 0.57

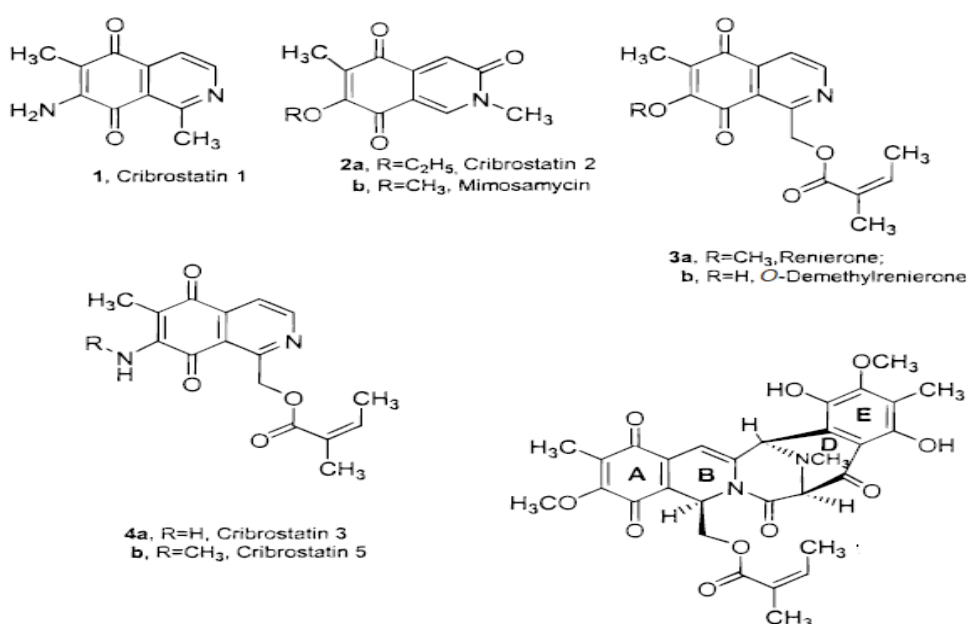
bervariasi pada biota tersebut. Hasil survei lapangan menunjukkan bahwa spons cukup melimpah di perairan Jepara. Pada perairan ini, spons dapat tumbuh di berbagai kondisi dengan ukuran koloni bervariasi.

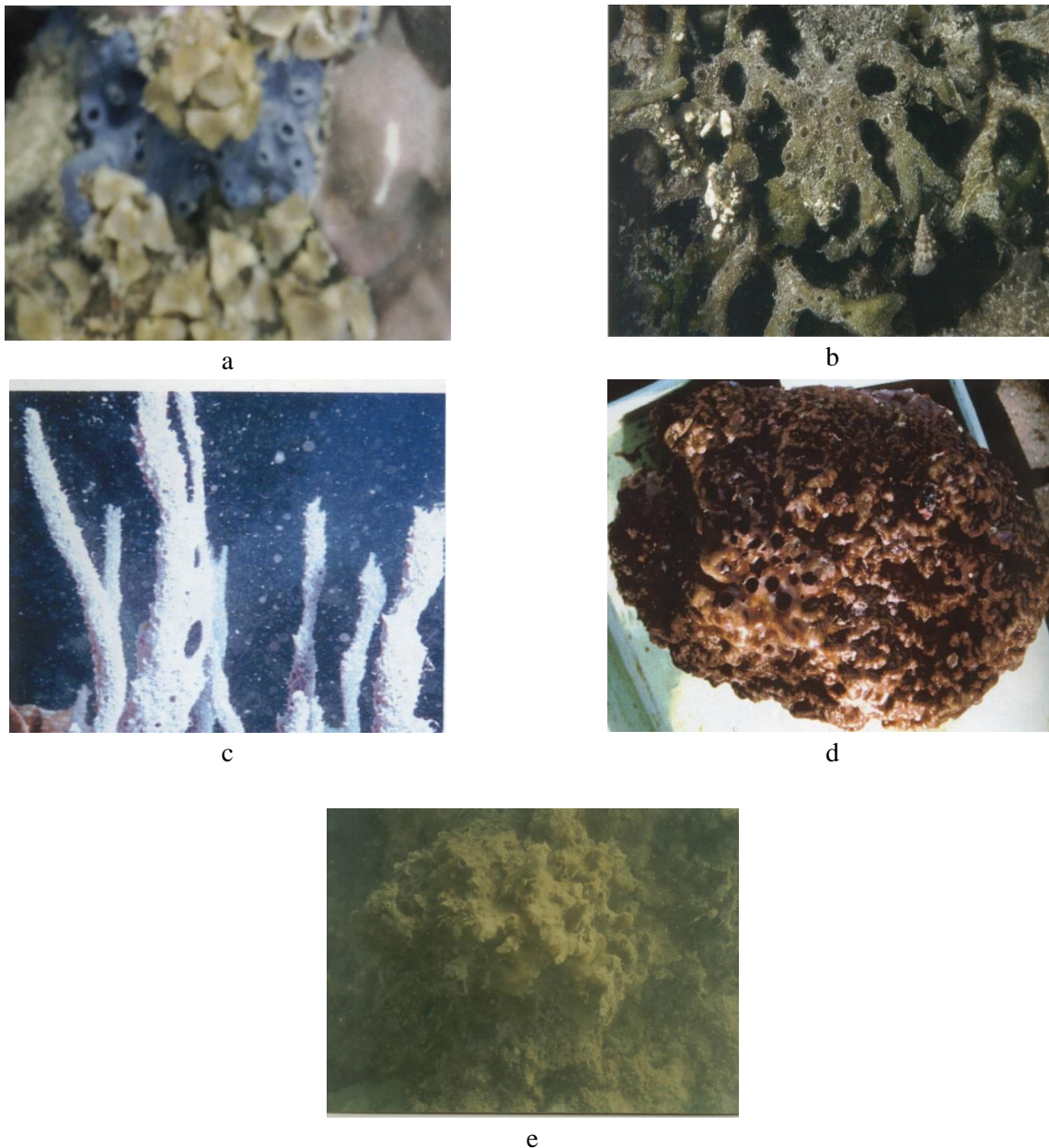
Jumlah spons yang berhasil dikoleksi dalam penelitian ini sebanyak lima jenis yaitu *Reniera* sp, *H. cymaeformis*, *G. fibulata*, *Spheciospongia* sp. dan spons B1. Identifikasi spons berdasarkan pada morfologi dan tekstur dengan membandingkan specimen spons yang telah teridentifikasi dan referensi. Kurangnya literatur spons di Indonesia membuat peneliti mengalami kesulitan dalam menentukan genus satu jenis spons yang berhasil dikoleksi (Gambar 2).

Hasil ekstraksi dengan metanol menunjukkan kandungan ekstrak pada spons

berkisar antara 0.04% sampai dengan 7.34% dari berat basahnya, karena kandungan air pada spons sangat tinggi. Ekstrak yang diperoleh berupa pasta dan minyak yang berwarna coklat tua. Perbedaan rendemen ekstrak sangat dipengaruhi oleh tekstur spons. Spons dengan tekstur jaringan *rubbery* atau didominasi oleh kerangka, umumnya mengandung ekstrak dengan konsentrasi rendah. Spons B1 termasuk spons yang memiliki tekstur jaringan *rubbery*, sedangkan spons *H. cymaeformis* dan *Spheciospongia* sp. termasuk jenis spons yang strukturnya didominasi oleh skeleton.

atas dapat ditarik simpulan bahwa spons *Reniera* sp tersebut mengandung senyawa antijamur dengan potensi paling tinggi. Spons tersebut mengandung senyawa antijamur dalam konsentrasi paling tinggi dibanding spons lainnya.

**Gambar 1.** Struktur kimia senyawa bioaktif pada spons *Reniera* sp.



Gambar 2. Foto sampel spons *Reniera* sp (a), *H. cymaeformis* (b), *G. fibulata* (c), *Spheciospongia* sp (d) dan B-1 (e)

Berdasarkan uji *bioassay*, semua jenis spons mengandung ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* pada $200 \mu\text{g disk}^{-1}$, bahkan ekstrak spons *Reniera* sp mampu menghambat pertumbuhan jamur uji pada $100 \mu\text{g disk}^{-1}$ (Tabel 1). Uji pada jamur *A. flavus* menunjukkan, hanya ekstrak spons *Spheciospongia* sp. yang tidak aktif terhadap jamur uji, sedangkan ekstrak spons lain mampu menghambat laju pertumbuhan jamur uji pada konsentrasi $400 \mu\text{g disk}^{-1}$ (Tabel 2).

Spons *Reniera* sp diketahui mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti mimosamycin,

renieramycin, renieramide, dan renieron yang aktif terhadap berbagai jenis sel kanker (Saito *et al*, 2004; Ciasullo *et al.*, 2002). Senyawa *congener* mimosamycin yaitu cribostatin 2 dilaporkan mampu menghambat *C. albicans* pada konsentrasi $3,12-6,25 \mu\text{g disk}^{-1}$ (Pettit *et al*, 2000).

Berdasarkan penelitian terdahulu diketahui bahwa spons dapat menjadi sumber senyawa antijamur. Sata *et al* (1999), berhasil mengisolasi senyawa Aurantosides A-F dari spons *Siliquariaspongia japonica* yang bersifat aktif terhadap jamur *A. fumigatus* dan *C. albicans*. Sedangkan Clarks *et al* (1998) berhasil

mengisolasi senyawa Cyclolitiisthid A yang mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada dosis 20 µg disk⁻¹ dari spons *Theonella swinhoei* yang dikoleksi dari perairan Indonesia dan Papua Nugini. Bahan aktif dalam proses penghambatan laju pertumbuhan jamur diduga dari kelas senyawa makrolide atau siklopeptida.

Ekstrak *Reniera* sp membentuk zona hambatan yang terbesar terhadap laju pertumbuhan *C. albicans* pada 400 µg disk⁻¹ yaitu sebesar 14.93 ± 0.74 mm, sedangkan terhadap laju pertumbuhan *A. flavus* sebesar 10.79 ± 1.24 mm. Ukuran zona hambatan yang terbentuk dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain; potensi bahan antibiotik, serta konsentrasi dan tingkat difusi bahan uji ke dalam agar (Jenkin *et al in* Haynes and Millar, 1998). Berdasarkan hasil uji di

SIMPULAN

Setiap jenis spons yang digunakan dalam penelitian mempunyai rendemen ekstrak yang berbeda-beda berkisar antara 0.04% sampai dengan 7.34% dari berat basahnya. Semua jenis spons yang digunakan dalam penelitian ini mengandung ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* dan *A. flavus*. Berdasarkan ukuran zona hambatan, ekstrak spons *Reniera* sp adalah yang paling berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber bahan antijamur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami tujukan Daniel, Eka dan Sarles atas kerjasama pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bell, J. J. and D. K. A. Barnes, 2002. Modelling spons species diversity using a morphological predictor: a tropical test of a temperate model, *J. Nat. Conserv.* 10:41–50.
- Cheng, L.S., 2008. A guide to sponss of Singapore, Science Center Singapore, 173 pages.
- Ciasullo, L.; A. Casapullo, A. Cutignano, G. Bifulco, C. Debitus, J. Hooper, L. Gomez-Paloma, and R. Riccio, 2002. Renieramide, a Cyclic Tripeptide from the Vanuatu Spons *Reniera* sp., *J. Nat. Prod.* 65: 407-410.
- Clark, D.P; J. Carrol, S. Naylor, and P. Crews, 1998. Antifungal Cyclodepsipeptide, Cyclolitiisthid A, from the spons *Theonella swinhoei*, *J. Org. Chem.*, page EST :7.5.
- Colin, P.L., and C. Arneson. 1995. Tropical Pacific Invertebrates. Coral Reef Press. California.
- Collin, R.; M. C. Díaz, J. Norenburg, R. M. Rocha, J. A. Sánchez, A. Schulze, M. Schwartz, And A. Valdés, 2005. Photographic Identification Guide to Some Common Marine Invertebrates of Bocas Del Toro, Panama, *Caribbean J. Sci.*, 41(3): 638-707.
- Jenkins, K.M., P.R. Jensen, and W. Fenical. 1998. Bioassay with marine microorganisms. *In* Haynes, K.F., and J.G. Millar (ed.), Kluwer Academic Publishers. assachusetts.
- Hooper, J.N.A., ‘Sponsguide’. Guide To Spons Collection And Identification (August 2000).
- Lane, J.W.; A. Estevez, K. Mortara, O. Callan, J.R. Spencer, and R.M. Williams, 2006. Antitumor activity of tetrahydroisoquinoline analogues 3-epi-jorumycin and 3-epi-renieramycin G, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16:3180–3183.
- Mayer A.M.S.; A.D. Rodríguez, R.G.S. Berlinck, and M.T. Hamann, 2009. Marine pharmacology in 2005–6: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action, *Biochim. Biophys. Acta.* 2009, 1790: 283–308.
- Nontji, A. 1998. Indonesian potention in developing marine biotechnology. *dalam* Soemodihajo dkk (ed.). Prosiding Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I. LIPI. Jakarta.
- Parks, L.C. 1993. Hand book of Microbiological Media. CRC press Inc. Florida.
- Pettit, G.R.; J.C. Knight, J.C. Collins, D.L. Herald, R.K. Pettit, M.R. Boyd, and V.G. Young, 2000. Antineoplastic Agents 430. Isolation and Structure of Cribrostatins 3, 4,

- and 5 from the Republic of Maldives *Cribrochalina* Species, *J. Nat. Prod.* 6: 793-798.
- Rudman, W.B., 2008 (Feb 12). Comment on Young specimen of *Jorunna funebris* by Lawrence Neal. [Message in] Sea Slug Forum. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/21289>
- Saito, N., C. Tanaka, Y. Koizumi, K. Suwanborirux, S. Amnuoypol, S. Pummangurab and A. Kubo, 2004. Chemistry of renieramycins. Part 6: Transformation of renieramycin M into jorumycin and renieramycin J including oxidative degradation products, mimosamycin, renierone, and renierol acetate, *Tetrahedron* 60: 3873–3881.
- Sata, N. U., S. Matsunaga, N. Fusetani, R. V. M. van Soet. 1999. *J. Nat. Prod.* 62. 969-971. ACS and ASP Published on Web.
- Tanaka, J; S. Aoki, T. Higa, M. Kobayashi, R. Rachmat and N.J de Voogd, 2002. Indonesian marine sponss, LIPI-Indonesia and Graduate School of Pharmaceutical, Osaka-Japan, 221 pages.
- Trianto. A; J. Tanaka. and T. Higa, 2001. Structural Elucidation of A New Anticancer Sterol from Marine Gorgonian *Isis hippuris*. *Majalah Ilmiah Imu Kelautan*. Special edition. pp 215-221.
- Wallace AR. 2000. The Malay Archipelago. Periplus, Singapore