

Isolasi Fungi Tanah Muara Desa Pasir Putih Kabupaten Situbondo serta Penapisan Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

(Isolation of Soil Fungi from Pasir Putih Estuary in Situbondo Regency and Screening of Antibacterial Activity against *Staphylococcus aureus*)

ZIYAN NIHLATUL MILLAH¹, BAWON TRIATMOKO¹, ARI SATIA NUGRAHA^{1*}

¹*Drug Utilisation and Discovery Research Group, Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Jawa Timur, 68121, Indonesia*

Diterima 27 April 2021, Disetujui 4 Juli 2022

Abstrak: Infeksi nosokomial merupakan infeksi bakteri yang sering terjadi di Indonesia dan disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut data *World Health Organization* (WHO) prevalensi infeksi nosokomial di negara berkembang berkisar antara 5,7% hingga 19,1% dengan prevalensi gabungan sebesar 10,1% dan prevalensi infeksi nosokomial di Indonesia sebesar 7,1%. Infeksi merupakan penyakit yang mengancam jiwa, sehingga perlu penanganan cepat dengan pemberian agen antibakteri. Salah satu sumber bahan alam yang berpotensi sebagai agen antibakteri baru yaitu fungi tanah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fungi tanah yang diisolasi dari muara di Desa Pasir Putih, Situbondo, Jawa Timur. Penelitian ini dilakukan dengan menumbuhkan sampel tanah pada media PDA hingga didapat enam isolat yang diberi label IS-B1-A1, IS-B1-A2, IS-B1-T1, IS-B1-T2, IS-B1-B1, dan IS-B1-B2. Semua isolat kemudian difermentasi selama 14 hari dan diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat sebelum dilakukan uji mikrodilusi. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa semua ekstrak dari isolat fungi kode IS-B1-A1, IS-B1-A2, IS-B1-T1, IS-B1-T2, IS-B1-B1, dan IS-B1-B2 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai persen penghambatan sebesar 51,1±2,6%; 84,6±3,1%; 72,7±7,9%; 82,9±7,6%; 65,6±0,8%; dan 88,2±2,8% pada konsentrasi 100 µg/mL.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, fungi tanah, mikrodilusi, *Staphylococcus aureus*

Abstract: Healthcare-Associated Infections (HAIs) is a bacterial infections in Indonesia caused by *Staphylococcus aureus*. According to the World Health Organization (WHO), the prevalence of HAIs in developing countries varies between 5.7% and 19.1% with a combined prevalence of 10.1%. The prevalence of HAIs in Indonesia is 7.1%. Infections caused by bacteria are a life-threatening disease, which needs to be treated immediately by administering antibacterial agents. One of the natural products with potential as new antibacterial agents, such as soil fungi. This research aims to discover the Antibacterial activity of fungi on estuary land at Pasir Putih village, Situbondo, East Java. This research was initiated by growing the soil on the PDA media to isolate six fungi which were labeled as IS-B1-A1, IS-B1-A2, IS-B1-T1, IS-B1-T2, IS-B1-B1, and IS-B1-B2. All the isolated fungi were separately fermented for 14 d and extracted using ethyl acetate before the microdilution test. The result of antibacterial testing showed all extracts from isolated fungi with code IS-B1-A1, IS-B1-A2, IS-B1-T1, IS-B1-T2, IS-B1-B1, and IS-B1-B2 possessed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* with percentage inhibition of 51.1±2.6%; 84.6±3.1%; 72.7±7.9%; 82.9±7.6%; 65.6±0.8%; 88.2±2.8% at a concentration of 100 µg/mL.

Keywords: Antibacterial activity, microdilution, soil fungi, *Staphylococcus aureus*

*Penulis korespondensi
e-mail: arisatia@unej.ac.id

PENDAHULUAN

INFEKSI menjadi sepuluh penyakit penyebab kematian tertinggi di dunia⁽¹⁾. Hingga tahun 2019 angka kematian akibat infeksi bakteri mencapai 1,2 juta orang pertahun dan diperkirakan pada tahun 2050 kematian akibat infeksi bakteri terus meningkat hingga mencapai 10 juta orang pertahun⁽²⁾. Hal inilah yang menjadikan kasus infeksi menjadi salah satu ancaman terbesar di dunia kesehatan⁽³⁾. Salah satu kasus infeksi yang terjadi di Indonesia adalah infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan survei yang dilakukan di Rumah Sakit di Amerika Serikat dari 9,000 pasien dilaporkan meninggal karena mengalami infeksi nosokomial⁽⁴⁾. Selain itu dari data WHO prevalensi infeksi nosokomial pada negara berkembang cukup tinggi berkisar 15,74% dimana jauh lebih tinggi dari negara maju dengan kasus berkisar 4,8% sampai 15,5%⁽⁵⁾. Infeksi tersebut merupakan penyakit yang bersifat *life-threatening* sehingga membutuhkan penanganan cepat, salah satunya yaitu pemberian antibakteri.

Antibakteri merupakan terapi utama yang digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Berdasarkan sejarah antibakteri golongan penisilin ditemukan pada tahun 1928 oleh Alexander Fleming dari fungi *Penicillium notatum*⁽⁶⁾. Penelitian oleh Corral tahun 2018 menyebutkan bahwa *Aspergillus protuberus* yang diisolasi dari tanah sedimen laut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) sebesar 30 µg/mL⁽⁷⁾. Penelitian sebelumnya tentang isolasi dan antibakteri dari fungi dari tanah muara di Kabupaten Situbondo menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*⁽⁸⁾. Dari hasil penelitian tersebut, dilakukan penelusuran fungi tanah muara di daerah Desa Pasir Putih, Kecamatan Bungatan, Kabupaten Situbondo sebagai sumber potensi antibakteri baru. Pada penelitian ini digunakan sampel tanah muara yang diambil di dekat perakaran bakau, karena pohon bakau pada ekosistem muara menjadi sumber karbon dan nitrogen yang baik bagi tanah muara. Ketersediaan bahan organik ini memberikan nutrisi yang baik untuk fungi, sehingga banyak ditemukan spesies fungi di tanah muara⁽⁹⁾. Selain itu, pada muara sungai terdapat perbedaan konsentrasi garam yang menciptakan kondisi ekstrim untuk fungi, sehingga fungi dapat beradaptasi dengan memproduksi metabolit sekunder untuk pertahanan diri⁽¹⁰⁾. Hal inilah yang menjadikan tanah muara sebagai sumber potensi alam yang dapat digunakan sebagai antibakteri baru.

Meskipun memiliki potensi yang cukup besar, namun penelitian fungi tanah sangatlah terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi fungi dari tanah muara dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Tanah muara diambil dari Desa Pasir Putih, Kabupaten Situbondo karena memiliki ekosistem bakau yang baik serta dekat dengan lokasi penelitian. Bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dengan metode mikrodilusi. Metode ini digunakan untuk mengetahui persen penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diamati dengan tingkat kekeruhan koloni bakteri setelah pemberian ekstrak fungi *single concentration*.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel tanah muara sungai Desa Pasir Putih Kecamatan Bungatan Kabupaten Situbondo, air demineralisata (Hydrobatt), *Potato Dextrose Agar* (PDA, Himedia), *Potato Dextrose Broth* (PDB, Himedia), *Mueller Hinton Agar* (MHA, Merck), *Mueller Hinton Broth* (MHB, Himedia), bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, akuades steril, air laut, etil asetat, gentamisin sulfat i.m/i.v (Indofarma), dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 70%, CaCl₂, BaCl₂, dan H₂SO₄.

Alat. Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu neraca analitik (OHAUS), *hotplate* (HEIDOLPH), *vortex* (HEIDOLPH), sentrifus, mikropipet (SOCOREX), autoklaf (B-ONE YX-18LM), *Laminar Air Flow* (THERMO SCIENTIFIC 1300 SERIES A2), spektrofotometer UV-Vis (GENESYS), inkubator, *shaker incubator* (B-ONE), *microplate flat bottom 96 wells* (IWAKI), dan *microplate reader* (Corona SH-1000).

METODE. Pengambilan Sampel Tanah Muara. Sampel tanah diambil pada tanggal 30 Juli 2019 menggunakan pipa paralon ukuran 40 x 2,8 cm. Hasil sampling dibagi menjadi 3 bagian yaitu tanah bagian atas (5 cm di bagian atas pipa), tanah bagian tengah, dan tanah bagian bawah (5 cm bagian bawah pipa). Sampel tanah disimpan dalam freezer dengan suhu -4°C.

Penanaman dan Isolasi Fungi Tanah. Sampel tanah disuspensikan dalam akuades steril, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 100 rpm selama 15 menit. Supernatan diratakan pada media PDA dan diinkubasi pada suhu ± 25 °C. Pada hari ke tujuh, fungi dalam cawan petri diisolasi di media PDA yang baru.

Skrining aktivitas antibakteri. Skrining aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan uji antagonis

antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan isolat fungi dalam media MHA. Media diinkubasi pada suhu $35\pm 2^\circ\text{C}$ selama 18-24 jam.

Fermentasi dan Ekstraksi. Sebanyak 5 potong fungi dengan diameter 0,9x0,9 cm difermentasi dalam 200 mL media PDB. Fermentasi dilakukan dalam *shaker inkubator* selama 14 hari. Hasil fermentasi kemudian disaring dan ditambah etil asetat dengan perbandingan 1:1. Pengadukan dilakukan selama 15 menit dengan *magnetic stirrer*, lalu dituangkan dalam corong pisah. Proses ekstraksi dilakukan 3-4 kali partisi.

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi. Pembuatan media *Cation Adjusted Mueller-Hinton Broth* (CAMHB) dilakukan dengan menambahkan larutan CaCl_2 dan MgCl_2 pada media MHB hingga didapatkan konsentrasi Ca^{2+} dalam media sejumlah 20-25 mg/L dan Mg^{2+} sejumlah 10-12,5 mg/L⁽¹¹⁾. Pembuatan larutan kontrol positif dibuat dengan mengencerkan sediaan injeksi gentamisin sulfat 40 mg/mL (Indofarma) menggunakan media CAMHB sehingga didapatkan konsentrasi 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan kontrol negatif dibuat dengan melarutkan 1 mL DMSO 1% dalam 100 mL media CAMHB. Pembuatan larutan uji dilakukan dengan melarutkan 1 mg ekstrak fungi dengan 100 μL DMSO 100% dan diencerkan dalam media CAMHB hingga didapatkan konsentrasi uji sebesar 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Mikrodilusi. Bakteri diremajakan dan dibuat biakan aktifnya untuk disuspensikan dalam CAMHB, kemudian dibandingkan dengan pembanding 0,5 McFarland agar didapatkan konsentrasi sebesar 1×10^8 CFU/mL⁽¹²⁾. Suspensi selanjutnya diencerkan dalam CAMHB menjadi 100 kalinya hingga didapatkan konsentrasi bakteri 1×10^6 CFU/mL. Setiap sumuran ditambahkan 50 μL suspensi bakteri dan ditambahkan 50 μL kontrol positif, kontrol negatif dan larutan uji. Pada tiap sumuran konsentrasi akhir bakteri sebesar 5×10^4 CFU. Desain mikroplate ditunjukkan pada Gambar 1.

Analisis Data. Nilai persen penghambatan dihitung berdasarkan rumus persamaan sebagai berikut. Persentase penghambatan pertumbuhan bakteri=

$$\left(1 - \frac{(\text{Abs Y} - \text{Abs Z})}{(\text{Abs W} - \text{Abs X})} \right) \times 100\%$$

Keterangan:








W : kontrol negatif ekstrak atau gentamisin
X : kontrol DMSO 1% atau media CAMHB
Y : larutan uji ekstrak atau gentamisin
Z : kontrol ekstrak atau gentamisin
Abs : absorbansi

Data yang didapat dianalisis menggunakan *independent samples t-test*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

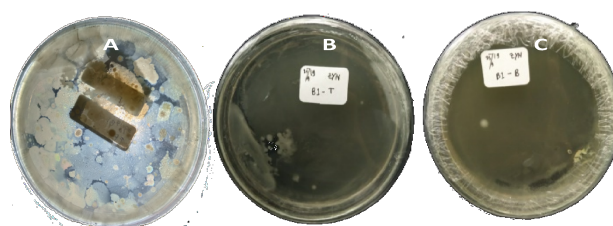
Gambar 1. Desain mikroplate ekstrak etil asetat dengan metode mikrodilusi.

Keterangan:

-  Ekstrak etil asetat fermentasi fungi tanah dalam DMSO 1% 50 μL + bakteri dalam CAMHB 50 μL (sampel uji)
-  Ekstrak etil asetat fermentasi fungi tanah dalam DMSO 1% 50 μL + media CAMHB 50 μL (kontrol ekstrak)
-  Gentamisin 50 μL + media CAMHB 50 μL (kontrol gentamisin)
-  Gentamisin 50 μL + bakteri dalam CAMHB 50 μL (kontrol positif)
-  DMSO 1% dalam media CAMHB 50 μL + media CAMHB 50 μL (kontrol DMSO 1%)
-  DMSO 1% dalam CAMHB 50 μL + bakteri dalam CAMHB 50 μL (kontrol negatif ekstrak)
-  Media CAMHB 100 μL (kontrol media)

HASIL DAN PEMBAHASAN

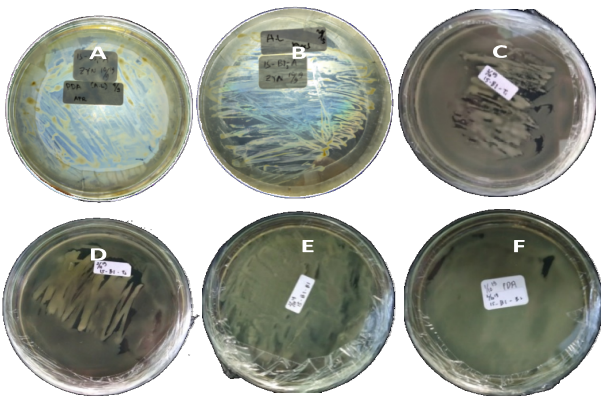
Penanaman dan Isolasi Fungi Tanah. Hasil penanaman dan isolasi fungi dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Hasil penanaman fungi pada hari ke-7 dalam media PDA (A) tanah atas; (B) tanah tengah; dan (C) tanah bawah.

Gambar 2A merupakan hasil penanaman fungi dari tanah atas. Terdapat dua koloni yang berbeda. Koloni pertama menyebar hampir ke seluruh bagian cawan petri, berwarna kecoklatan, serta memiliki permukaan yang halus, sedangkan koloni kedua membentuk bulatan kecil, hanya terdapat pada beberapa titik, berwarna coklat lebih gelap dengan permukaan yang lebih kasar dan tebal. Gambar 2B merupakan hasil penanaman fungi dari tanah tengah. Terdapat dua koloni berbeda, koloni pertama berwarna

putih dan menyebar di seluruh permukaan cawan petri, sedangkan koloni kedua berwarna putih susu dengan koloni membentuk bulatan kecil dan hanya pada satu bagian tertentu di sebelah kiri cawan petri. Gambar 2C merupakan hasil penanaman fungi dari tanah bawah. Terdapat dua koloni yang berbeda, yang pertama yaitu koloni berwarna putih susu yang membentuk satu titik kecil di bagian kiri cawan petri. Koloni yang kedua berwarna putih kekuningan dengan permukaan halus dan menyebar di seluruh bagian cawan petri. Masing-masing dari koloni di tiap bagian tanah kemudian diisolasi tepat pada hari ke tujuh, sehingga didapatkan 6 isolat fungi yang dapat dilihat pada Gambar 3 dan Tabel 1.



Gambar 3. Hasil isolasi fungi (A) IS-B1-A1; (B) IS-B1-A2; (C) IS-B1-T1; (D) IS-B1-T2; (E) IS-B1-B1; dan (F) IS-B1-B2.

Beberapa mikroorganisme yang dapat ditemui di tanah yaitu bakteri, Actinomycetes, dan fungi. Secara makroskopis koloni Actinomycetes berbentuk kasar, berpigmen, berfilamen, dan berbau seperti tanah basah. Koloni bakteri memiliki permukaan halus, berwarna putih, putih kekuningan, kuning, menggerombol, bentuk bundar berpasangan, dan mengkilap⁽¹³⁾. Dari pengamatan makroskopis tersebut, koloni yang tumbuh dipastikan bukan Actinomycetes maupun bakteri dikarenakan koloni tidak memiliki ciri-ciri keduanya.

Berdasarkan perbedaan morfologi terdapat dua jenis fungi, yaitu kapang (*mold*) dan khamir (*yeast*). Kapang merupakan fungi yang memiliki miselium, spora, serta koloni dengan permukaan kasar, berfilamen, bagian tepi berwarna pudar dibandingkan bagian pusat koloni, dan berwarna gelap. Sedangkan khamir merupakan fungi dalam bentuk sel tunggal (*uniseluler*) yang memiliki koloni dengan permukaan halus, tidak berfilamen, tidak mengkilap, warna cenderung mendekati putih dan putih kekuningan seperti koloni bakteri⁽¹⁴⁾. Isolat fungi yang didapatkan pada penelitian ini merupakan fungi jenis khamir dibuktikan dengan hasil pengamatan mikroskopis menggunakan perbesaran 400x seperti pada Gambar

Tabel 1. Nama isolat fungi dan ciri-ciri morfologinya.

Bagian Tanah	Nama Isolat	Ciri-ciri Morfologi
Atas	IS-B1-A1	Warna putih kekuningan, warna dominan kuning, bertekstur, tidak berhifa, dan terdapat bintik-bintik berwarna coklat
Atas	IS-B1-A2	Warna putih kekuningan dengan permukaan yang halus dan tidak berhifa
Tengah	IS-B1-T1	Warna putih kekuningan dan bertekstur, pada bagian yang tidak bertekstur berwarna kekuningan, sedangkan pada bagian yang bertekstur berwarna putih, dan tidak berhifa
Tengah	IS-B1-T2	Warna kekuningan dengan permukaan yang halus dan tidak berhifa
Bawah	IS-B1-B1	Warna putih kekuningan, tidak berhifa, dan bertekstur
Bawah	IS-B1-B2	Warna putih kekuningan dengan permukaan yang halus dan tidak berhifa

4. Ditemukan sel berbentuk bulat (*uniseluler*) serta tidak ditemukan bagian seperti hifa dan miselium, sehingga dapat disimpulkan bahwa fungi termasuk dalam jenis khamir.

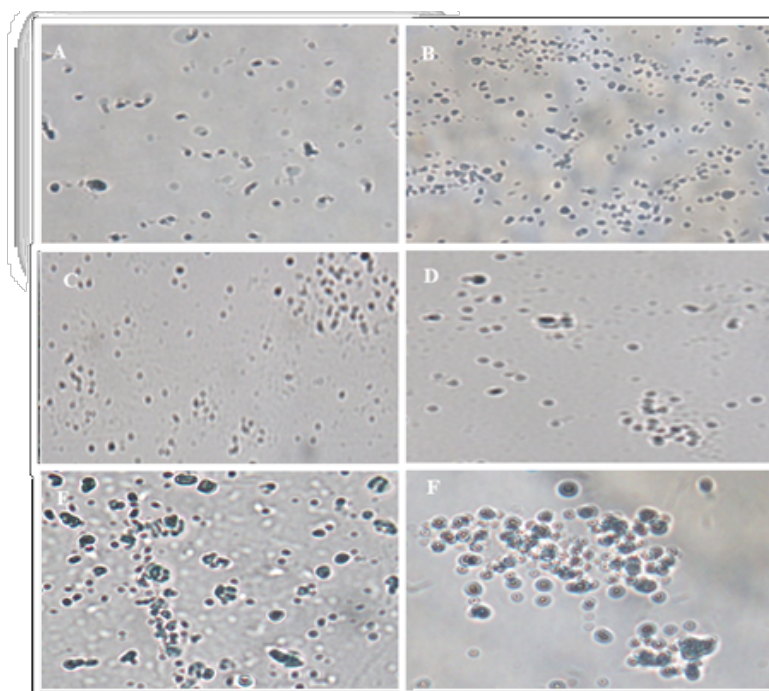
Skrining Awal Aktivitas Antibakteri.

Adanya aktivitas antibakteri dapat diamati dengan terbentuknya zona bening di sekitar fungi yang menandakan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* seperti pada Gambar 5 dan 6. Diameter hambat tertera pada Tabel 2.

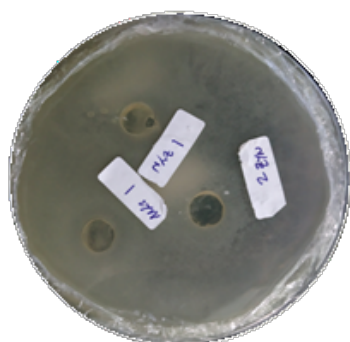
Uji antagonis menganut prinsip metode difusi. Metabolit sekunder dari fungi akan berdifusi pada media yang berisi biakan bakteri. Dari hasil uji antagonis fungi IS-B1-A1 memiliki zona hambat paling besar dilanjutkan dengan IS-B1-T2, IS-B1-B1, IS-B1-T1, dan IS-B1-B2, sedangkan fungi IS-B1-A2 tidak terdapat zona bening yang menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri.

Fermentasi dan Ekstraksi. Volume hasil fermentasi fungi tanah secara *batch process* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil fermentasi dan ekstraksi.



Gambar 4. Hasil mikroskopik fungi (A) IS-B1-A1; (B) IS-B1-A2; (C) IS-B1-T1; (D) IS-B1-T2; (E) IS-B1-B1; (F) IS-B1-B2 dengan perbesaran 400x.



Gambar 5. Tanah Atas (A) dan (B) IS-B1-A1; (C) IS-B1-A2.



Gambar 6. Tanah tengah (A) IS-B1-T1; (B) IS-B1-T2; dan tanah bawah (C) IS-B1-B1; (D) IS-B1-B2.

Tabel 2. Hasil uji antagonis.

Nama Fungi	Hasil uji	Zona Hambat (mm)
IS-B1-A1	+	13,5
IS-B1-A2	-	Tidak ada
IS-B1-T1	+	9,8
IS-B1-T2	+	12,0
IS-B1-B1	+	11,8
IS-B1-B2	+	9,7

Tabel 3. Hasil fermentasi dan ekstraksi.

Nama Fungi	Hasil Fermentasi (mL)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (% g/mL)
IS-B1-A1	174	0,102	0,059
IS-B1-A2	184	0,092	0,050
IS-B1-T1	186	0,107	0,057
IS-B1-T2	186	0,056	0,030
IS-B1-B1	171	0,096	0,056
IS-B1-B2	181	0,190	0,105

Volume hasil fermentasi paling besar didapatkan oleh fungi IS-B1-T1 dan IS-B1-T2. Hal ini dikarenakan saat penyaringan menggunakan corong buchner kedua isolat tidak terbentuk busa, sedangkan saat penyaringan hasil fermentasi isolat fungi IS-B1-A1 dan IS-B1-B1 terbentuk banyak busa dan mengakibatkan volume yang didapat lebih sedikit dibandingkan isolat fungi yang lain.

Fermentasi pada penelitian ini digunakan jenis *batch process* dikarenakan proses dan kontrol media yang lebih sederhana, biaya lebih sedikit, serta

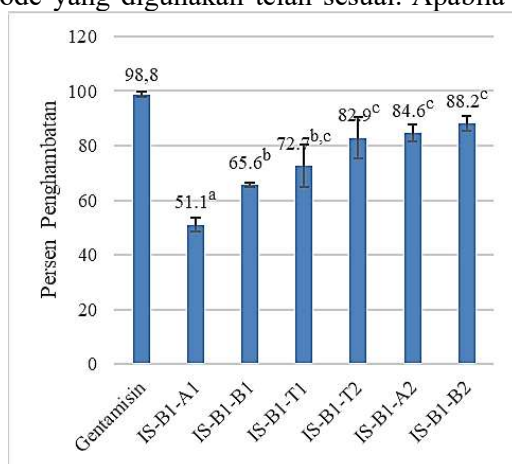
dapat meminimalisir adanya kontaminasi⁽¹⁵⁾. Proses fermentasi dilakukan selama 14 hari agar didapatkan metabolit sekunder dengan jumlah yang maksimal⁽¹⁶⁾.

Hasil fermentasi yang diekstraksi dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat dapat dilihat pada Tabel 3. Rendemen ekstrak paling besar didapatkan oleh fungi IS-B1-B2 dengan %rendemen sebesar 0,105% g/mL.

Pelarut etil asetat dipilih karena dapat menarik metabolit sekunder fungi yang bersifat polar dan nonpolar, serta lebih aman digunakan dibandingkan dengan pelarut lainnya seperti diklorometana dan kloroform⁽¹⁷⁾. Proses ekstraksi dilakukan dalam corong pisah. Hasil campuran antara cairan fermentasi dan etil asetat membentuk dua fase yang tidak saling campur, yaitu fase air dan fase organik. Hal ini menandakan sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian komponen yang lain larut pada fase kedua sesuai dengan tingkat kepolarannya⁽¹⁸⁾.

Uji Aktivitas Antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi didapatkan aktivitas penghambatan terbesar dimiliki oleh fungi IS-B1-B2, dilanjutkan dengan IS-B1-A2, IS-B1-T2, IS-B1-T1, IS-B1-B1 dan IS-B1-A1 sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 7.

Penelitian ini menggunakan gentamisin sebagai kontrol positif. Berdasarkan CLSI, konsentrasi gentamisin yang digunakan pada pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam media CAMHB yaitu sebesar 0,12-1 µg/mL, sedangkan persen penghambatan yang dipersyaratkan sebesar $\geq 80\%$. Hasil rerata persen penghambatan gentamisin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini sebesar 98,8% dan telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan dalam CLSI, sehingga secara teoritis metode yang digunakan telah sesuai. Apabila hasil



Gambar 7. Diagram batang persen penghambatan gentamisin dan ekstrak etil asetat fungi tanah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, hasil analisis menggunakan *independent samples t-test* dengan (a,b,c) huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antar kelompok uji.

persen penghambatan kontrol positif $< 80\%$ ⁽¹⁹⁾, maka terdapat kesalahan dalam pembuatan media CAMHB dan perlu dilakukan penyesuaian kadar Ca^{2+} serta Mg^{2+} dalam media. Ion divalen pada Ca^{2+} dan Mg^{2+} dapat mempengaruhi stabilitas membran sel bakteri, oleh karena itu kadar Ca^{2+} dan Mg^{2+} harus berada pada rentang yang telah dipersyaratkan⁽²⁰⁾.

Sampel ekstrak etil asetat fungi tanah digunakan sebagai kelompok perlakuan. Ekstrak dilarutkan menggunakan bantuan kosolven DMSO. Etanol dan metanol tidak disarankan sebagai kosolven ekstrak dalam pengujian antibakteri, dikarenakan kedua kosolven tersebut memiliki aktivitas bakterisidal terhadap *Staphylococcus aureus*⁽²¹⁾. Pada konsentrasi tinggi DMSO memiliki aktivitas bakteriostatik, sedangkan pada konsentrasi rendah DMSO tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga dipilih konsentrasi DMSO sebesar 1%.

Berdasarkan hasil pengujian ekstrak etil asetat fungi tanah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dinyatakan bahwa aktivitas penghambatan terbesar dimiliki oleh ekstrak fungi IS-B1-B2 dengan rerata persen penghambatan sebesar $88,2\% \pm 2,8\%$, namun hasil ini berbanding terbalik dengan hasil uji antagonis. Pada uji antagonis fungi IS-B1-B2 memiliki zona hambat paling kecil dibandingkan dengan isolat yang lain, yaitu 9,7 mm. Fungi IS-B1-A2 memiliki rerata persen penghambatan sebesar 84,6%, sedangkan pada hasil uji antagonis tidak terdapat zona hambat yang terbentuk. Kedua hal ini dikarenakan adanya perbedaan media yang digunakan pada saat uji antagonis dan mikrodilusi. Saat uji antagonis digunakan media MHA dengan pelarut air sehingga senyawa yang berdifusi pada media cenderung bersifat polar. Sedangkan pada mikrodilusi sampel sudah dalam bentuk ekstrak dimana ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat yang merupakan pelarut semipolar, sehingga senyawa yang bersifat polar dan nonpolar akan ikut terekstrak. Hal ini menyebabkan ekstrak etil asetat fermentasi fungi tanah lebih poten dibandingkan dengan fungi sebelum diekstrak. Selain itu uji antagonis dilakukan ketika fungi berusia 7 hari, sedangkan saat ekstraksi fungi berusia 14 hari. Adanya perbedaan usia tumbuh fungi dapat mempengaruhi jumlah metabolit sekundernya⁽²²⁾.

Senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakteri ekstrak fungi tanah belum diketahui secara pasti, sehingga perlu dilakukan skrining fitokimia serta isolasi dan karakterisasi senyawa aktif fungi. Beberapa metabolit sekunder fungi yang memiliki aktivitas antibakteri antara lain alkaloid dan terpenoid⁽²³⁾.

SIMPULAN

Hasil uji aktivitas antibakteri didapatkan bahwa semua ekstrak etil asetat fungi memiliki aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan rerata persen penghambatan ekstrak terbesar berturut-turut yaitu IS-B1-B2 sebesar 88,2±2,8%; IS-B1-A2 sebesar 84,6±3,1%; IS-B1-T2 sebesar 82,9±7,6%; IS IS-B1-T1 sebesar 72,7±7,9%; IS-B1-B1 sebesar 65,6±0,8%; dan IS-B1-A1 sebesar 51,1 ± 2,6%. Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa fungi yang diisolasi dari tanah muara Desa Pasir Putih, Kabupaten Situbondo dapat digunakan sebagai sumber agen antibakteri dalam penanganan kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Vos T, Lim SS, Afshin A. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019. *The Lancet*. 2020;396:1204-22.
- Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 2022; 399:629–55
- Bloom DE, Cadarette D. Infectious disease threats in the twenty-first century: strengthening the global response. *Frontiers in Immunology*. 2019;10(549):1-12.
- Sartelli M, Mckimm J, Bakar MA. Health care-associated infections an overview. 2018;11:2321-33.
- Sazkiah ER, Ismah, Zata. The epidemiological determination of nosocomial infection in inpatients at Adam Malik General Hospital, Meda. *Placentum*. 2022;10(2):99-111.
- Hess K. Fleming vs florey: It all comes down to the mold. *The Histories*. 2019;2(1):1-18.
- Corral P, Esposito FP, Tedesco P. et al. Identification of a Sorbicillinoid-producing *Aspergillus* strain with antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*: a new polyextremophilic marine fungus from Barents Sea. *Mar Biotechnol*. 2018; 20:502–11.
- Pamungkas FB, Triatmoko B, Nugraha AS. Penelusuran dan isolasi fungi tanah Kabupaten Situbondo serta skrining aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2021;19(1): 73-9.
- Jansa J, Forczek ST, Rozmoš M, Püschel D, Bukovská P, Hršelová H. Arbuscular mycorrhiza and soil organic nitrogen: network of players and interactions. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2019;6(1): 1-10.
- Velez, Patricia. Impact of salinity stress on growth and development of aquatic fungi. In: *Microorganisms in Saline Environments: Strategies and Functions*. Springer. Cham. 2019:155-68.
- Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*. 2009;49(11):1749-55.
- Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, Schuetz AN. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. *Journal of clinical microbiology*. 2021;59(12):e00213-21.
- Jeanson S, Floury J, Gagnaire V, Lortal S, Thierry A. Bacterial colonies in solid media and foods: a review on their growth and interactions with the micro-environment. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6(1284):1-20.
- Murray, Patrick R, Rosenthal, Ken S, Pfaller, Michael A. Fungal classification, structure, and replication. *Medical Microbiology*. 2021;57:572-77.
- Yang Y, Sha MA. Beginner's guide to bioprocess modes—batch, fed-batch, and continuous fermentation. Enfield, CT: Eppendorf Inc. 2019:408:1-16.
- Li HT, Zhou H, Duan RT., et al. Inducing secondary metabolite production by co-culture of the endophytic fungus *Phoma* sp. and the symbiotic fungus *Armillaria* sp. *Journal of natural products*. 2019;82(4):1009-13.
- Joshi DR, Adhikari N. An overview on common organic solvents and their toxicity. *J. Pharm. Res. Int*. 2019;28(3):1-18.
- Zhuang B, Ramanauskaitė G, Koa ZY, Wang ZG. Like dissolves like: A first-principles theory for predicting liquid miscibility and mixture dielectric constant. *Science Advances*. 2021;7(7):7275.
- Wayne Performance Standards for Antimicrobial. Edisi 27. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017. p. 56-63.
- Wang T, Flint S, Palmer J. Magnesium and calcium ions: roles in bacterial cell attachment and biofilm structure maturation. *Biofouling*. 2019;35(9): 959-74.
- Elzain AM, Elsanousi SM, Ibrahim MEA. Effectiveness of ethanol and methanol alcohols on different isolates of *Staphylococcus species*. *J. Bacteriol. Mycol*. 2019;7:71-3.
- Keller NP. Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology*. 2019;17:167–80.
- Devi, Rubee, et al. Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier. 2020:147-61.

