

# Karakterisasi Senyawa Bioaktif Kapang Laut *Trichoderma asperellum* MT02 dengan Aktivitas Anti-Extended Spectrum $\beta$ -Lactamase (ESBL) *E. coli*

Mada Triandala Sibero<sup>1,4\*</sup>, Aninditia Sabdaningsih<sup>2</sup>, Ocky Karna Radjasa<sup>3</sup>, Agus Sabdono<sup>1</sup>, Agus Trianto<sup>1</sup> dan Subagiyo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Departemen Sumberdaya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. H. Soedharto, SH, Tembalang, Semarang, Indonesia 50275

<sup>3</sup>Kementerian Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia  
Jl. M. H. Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340

<sup>4</sup>Marine Science Techno Park  
Jl. UNDIP, Desa Teluk Awur, Jepara, Jawa Tengah, 59427  
Email: madatriandala@hotmail.com

## Abstract

### Characterization of Bioactive Compound from Marine Fungi *Trichoderma asperellum* MT02 Exhibiting Anti-Extended Spectrum B-Lactamase (ESBL) *E. coli*

The *Trichoderma asperellum* MT02 has been reported to has antibacterial activity against the Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) *E. coli* based on the screening results through an agar plug method. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of *T. asperellum* MT02 and characterize the composition of the bioactive compounds group possessed in its crude extract. The isolate was cultured in the Malt Extract Broth (MEB) media (static, 27 °C, 15 days). The intracellular metabolites from mycelium were extracted using methanol while extracellular metabolites from broth media were extracted using ethyl acetate. The antibacterial activity of crude extracts was tested using the paper disc diffusion method while bioactive compounds were characterized using the phytochemical method. The results showed that the antibacterial activity of the broth media extract performed a greater activity than the crude extract from the mycelium. The crude extract from mycelia only contained flavonoid and phenol hydroquinone compounds while the crude extract from broth media contains alkaloids, flavonoids, phenols hydroquinone and saponins.

**Keywords:** Antibacterial; bioactives; phytochemical; *Trichoderma*

## Abstrak

Kapang *Trichoderma asperellum* MT02 telah dilaporkan memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri melawan *Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) E. coli* berdasarkan hasil penapisan melalui metode *agar plug*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kasar kapang *T. asperellum* MT02 serta komposisi golongan senyawa bioaktif yang dimiliki. Kapang dikultur pada media *Malt Extract Broth (MEB)* (statis, 27 °C, 15 hari) di mana metabolit intraseluler dari miselium diekstrak menggunakan metanol sedangkan metabolit ekstraseluler dari media kaldu diekstrak menggunakan etil asetat. Aktivitas antibakteri ekstrak kasar diuji menggunakan metode difusi kertas cakram sedangkan senyawa bioaktif dikarakterisasi menggunakan metode fitokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri asal ekstrak media kaldu lebih baik dibandingkan ekstrak kasar asal miselium kapang. Ekstrak kasar kapang asal miselia hanya mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenol hidrokuinon sedangkan ekstrak kasar asal media kaldu mengandung alkaloid, flavonoid, fenol hidrokuinon dan saponin.

**Kata Kunci:** Antibakteri; bioaktif; fitokimia; *Trichoderma*

## PENDAHULUAN

Sumber daya laut diketahui sebagai penyedia bahan aktif yang dapat dimanfaatkan di bidang pangan fungsional, kosmeseutikal maupun farmasi (Suleria *et al.*, 2015; Guillerme *et al.*, 2017). Berbagai penelitian telah membuktikan spons asal laut Indonesia menghasilkan metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan sel mikroba patogen, menghambat kinerja enzim tertentu yang tidak diinginkan hingga kandidat obat kanker yang potensial (Abdul *et al.*, 2017; Ibrahim dan Mohamed, 2017; Maarisit *et al.*, 2017; Zubair *et al.*, 2018). Namun, pengambilan biomassa suatu spesies spons tertentu secara terus menerus dikarenakan senyawa target bioaktif yang dihasilkan sangat sedikit diprediksikan akan menyebabkan ketidakseimbangan ekosistem laut hingga punahnya suatu spesies. Penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim dan Mohamed (2017) hanya memperoleh 2,6 mg senyawa ingenine E yang sangat potensial sebagai antikanker dari 1,3 kg jaringan kering spons *Acanthostrongylophora ingens*. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Ebada *et al.* (2017) hanya mampu mengisolasi 1,7 mg senyawa Nakijiquinone G dari 130 gr jaringan kering spons *Dactylospongia elegans* yang diperoleh dari Ambon. Rendahnya rendemen senyawa yang diperoleh serta tingginya kemungkinan kerusakan lingkungan yang dapat terjadi menyebabkan pergantian pemanfaatan sumber senyawa bioaktif dari spons menjadi mikroorganisme asosiasi spons, salah satunya adalah kapang.

Kapang merupakan anggota dari kingdom fungi yang berukuran mikroskopik, multi seluler dan memproduksi filamen. Kajian mengenai aktivitas biologis dari kapang laut asal spons diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik untuk dikembangkan sebagai antibiotik. Liu *et al.* (2018) berhasil mengisolasi senyawa penicillilactone A asal kapang *Penicillium* sp. LS54 yang merupakan kapang asosiasi spons *Haliclona* sp. Senyawa ini telah dianggap sebagai kandidat antibakteri yang sangat baik melawan patogen udang *Vibrio harveyi* dengan nilai MIC 8 µg/mL. Aplikasi senyawa antibakteri asal kapang melawan bakteri patogen manusia telah dilakukan oleh

Fredimoses *et al.* (2018). Penelitian tersebut melaporkan bahwa senyawa emerixanthone E yang diproduksi oleh kapang *Emericella* sp. SCSIO 05240 mampu melawan bakteri patogen manusia, di antaranya *Escherichia coli* (ATCC 29922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), dan *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606).

Pencarian senyawa antibiotik baru menjadi sebuah topik penting bagi perkembangan ilmu kesehatan dikarenakan sulitnya penyembuhan infeksi bakteri yang sudah resisten terhadap beberapa golongan antibiotik atau lebih dikenal dengan *multi-drugs resistant* (MDR) *bacteria*. Center for Disease Control and Prevention (CDC) mengungkapkan bahwa bakteri MDR dari famili Enterobacteriaceae seperti *Escherichia coli* telah resisten terhadap antibiotik komersial turunan β-laktam seperti penicillins, cephalosporins, dan monobactam aztreonam yang dikenal dengan istilah *extended spectrum β-lactamase* (ESBL) di mana hal ini akan mempersulit penyembuhan pasien yang terinfeksi oleh bakteri ini (CDC, 2018). Bakteri ESBL *E. coli* dilaporkan sebagai patogen yang mengakibatkan diare pada beberapa kasus kesehatan di kota Surabaya (Wasito *et al.*, 2017). Kitagawa *et al.* (2018) juga melaporkan bahwa bakteri ESBL *E. coli* merupakan patogen dominan yang menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK) pada pasien di rumah sakit Dr. Soetomo, Surabaya. Bakteri ini juga diketahui sebagai penyebab infeksi lain seperti pneumonia, abses, sepsis hingga infeksi kulit dan tulang (Natalia *et al.*, 2018). Bakteri ini sangat berbahaya karena mampu menyebar melalui vektor lain seperti makanan dari hewani yang berasal dari rumah potong yang telah terkontaminasi. Hasil penelitian Sudarwanto *et al.* (2017) pada rumah potong hewan di Bogor mendapatkan bahwa dari seluruh total bakteri yang diisolasi diketahui bahwa 14,3% diantaranya merupakan bakteri ESBL *E. coli*. Penelitian ini meneruskan kajian sebelumnya yang telah melaporkan potensi kapang laut fakultatif *Trichoderma asperellum* MT02 asal spons *Cinachyrella* sp. yang menunjukkan potensi antibakteri melawan bakteri ESBL *E. coli* yang diisolasi dari pasien rumah sakit Dr. Kariadi Semarang

(Sibero *et al.*, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kasar kapang *T. asperellum* MT02 serta komposisi golongan senyawa bioaktif yang terdapat di ekstrak kasar asal miselium dan media kaldu (*broth*).

## MATERI DAN METODE

Kapang *T. asperellum* MT02 merupakan isolat koleksi dari Divisi Kapang Laut, Laboratorium Bioteknologi Laut Tropis, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Kapang ini diisolasi dari spons *Cinachyrella* sp. asal perairan Pulau Panjang, Jepara (Sibero *et al.*, 2017). Kapang diremajakan dari stok kultur menggunakan media *Malt Extract Agar* (MEA) dari HiMedia pada suhu ruangan (27°C) selama 7 hari. Morfologi koloni kapang hasil peremajaan selanjutnya dibandingkan dengan foto morfologi stok, koloni yang memperlihatkan kemiripan yang sesuai sehingga isolat ini dilanjutkan untuk digunakan pada penelitian ini.

### Kultivasi kapang

Sebanyak 4 potong dengan ukuran 1×1cm<sup>2</sup> kapang *T. asperellum* MT02 yang berusia 5 hari dari media MEA dipindahkan ke dalam media *Malt Extract Broth* (MEB) bervolume 100 mL dalam Erlenmeyer dengan tiga ulangan. Kapang dikultivasi dengan keadaan statis (*stand culture*) selama 15 hari pada suhu ruang (27°C) (Sibero *et al.*, 2018<sup>1</sup>).

### Ekstraksi senyawa bioaktif

Senyawa bioaktif diekstrak menggunakan metode ekstraksi tunggal, di mana setiap sumber diekstraksi hanya menggunakan satu jenis pelarut. Kapang yang telah dikultivasi selama 15 hari selanjutnya dipisahkan antara media kaldu (*broth*) dan miseliumnya menggunakan kertas saring. Miselium kapang yang diperoleh selanjutnya dikeringkan menggunakan desikator yang berisi gel silika selama 3 × 24 jam kemudian ditambahkan pelarut methanol sebesar 100 mL dan diagitasi menggunakan *shaker* (120 r.p.m.; 24 jam). Selanjutnya miselia dan pelarut dipisahkan menggunakan kertas saring.

Pelarut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-35 °C. Ekstraksi senyawa bioaktif dari media kaldu dilakukan dengan penambahan pelarut etil asetat dengan rasio 3:1 (pelarut:media kaldu) kemudian diagitasi menggunakan *shaker* (120 r.p.m.; 24 jam). Media kaldu dan pelarut dipisahkan menggunakan corong pisah (*separatory funnel*), selanjutnya fase pelarut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (*Eyela*) pada suhu 30-33 °C. Ekstrak kasar yang diperoleh selanjutnya dikeringkan menggunakan gas nitrogen dan ditimbang untuk mendapatkan bobotnya. Ekstrak selanjutnya disimpan menggunakan pelapis aluminium foil pada suhu -20 °C untuk menjaga kestabilan senyawa bioaktif dalam ekstrak kasar (Sibero *et al.* 2018<sup>1</sup>)

### Uji aktivitas antibakteri

Bakteri ESBL *E. coli* merupakan isolat klinis diisolasi dari pasien rumah sakit Dr. Kariadi Semarang. Bakteri diremajakan pada media MacConkey (*HiMedia*) selama 24 jam sebelum digunakan dalam uji antibakteri. Tahap ini mengacu pada standar pengujian yang diberikan oleh CLSI (2016). Bakteri uji diencerkan menggunakan garam fisiologis hingga mencapai kekeruhan 0,5 McFarland selanjutnya diinokulasikan menggunakan *cotton swab* steril pada seluruh permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) (*Merck*). Sediaan ekstrak dibuat dengan cara melarutkan ekstrak kasar menggunakan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) (*Merck*) menjadi konsentrasi 500 µg/mL, 350 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL dan 50 µg/mL. Sebanyak 15 µL dari setiap konsentrasi sediaan ekstrak diinjeksikan ke dalam kertas cakram berukuran 8 µm (*Advantec*) kemudian dikering anginkan lalu diletakkan ke atas media MHA yang telah diinokulasikan bakteri uji, kertas cakram yang berisi antibiotik Amoxicillin 10 µg/cakram (*Oxoid*) digunakan sebagai kontrol positif sedangkan DMSO tanpa ekstrak sebagai kontrol negatif. Tahapan ini dilakukan dengan empat pengulangan. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk merupakan indikator keberadaan senyawa bioaktif sebagai antibakteri. Diameter zona hambat yang terbentuk selanjutnya diukur dengan jangka sorong untuk mengetahui efektivitas konsentrasi (Sibero *et al.* 2018<sup>1,2</sup>).

### Fitokimia

Kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak kasar kapang *T. asperellum* MT02 dilakukan menggunakan metode fitokimia (Hidayat dan Nurjanah, 2016). Modifikasi yang dilakukan berupa ekstrak dilarutkan dalam DMSO dan akuades (1:5) untuk uji.

### Alkaloid

Masing-masing sebanyak 300  $\mu$ L larutan ekstrak dimasukkan ke dalam sumur uji kemudian sebanyak 2 tetes  $H_2SO_4$  2N ditambahkan beserta reagen Dragendorff, Meyer dan Wagner. Hasil positif pada Dragendorff akan memberikan endapan berwarna jingga hingga merah, endapan putih kekuningan pada reagen Meyer dan endapan cokelat untuk reagen Wagner.

### Flavonoid

Sebanyak 0.1 mg bubuk Magnesium (Mg), 350  $\mu$ L amil alkohol (dibuat dengan cara menambahkan HCl 37% dan etanol 95% dengan perbandingan 1:1), dan 350  $\mu$ L alkohol kedalam sumur uji yang berisi 300  $\mu$ L larutan sampel. Hasil positif diperlihatkan dengan munculnya warna merah, kuning maupun jingga pada lapisan amil alkohol.

### Fenol hidrokuinon

Larutan ekstrak ditambahkan 2 tetes larutan  $FeCl_3$  5%, perubahan warna menjadi hijau menandakan keberadaan senyawa fenol pada ekstrak kapang.

### Saponin

Sebanyak 1 mg ekstrak kasar ditambahkan ke dalam 5 mL akuades selanjutnya dipanaskan dan diaditasi secara vertikal. Munculnya busa yang stabil selama 30 menit menunjukkan hasil positif pada uji ini.

### Steroid/Terpenoid

Sebanyak 1 mg ekstrak kasar dilarutkan dalam 1 mL kloroform, kemudian ditambahkan 5 tetes asetat anhidrat dan 3 tetes  $H_2SO_4$  pekat. Munculnya warna merah dan berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan hasil positif pada uji ini.

Seluruh data diolah menggunakan perangkat lunak SPSS *Statistic* 21. Pengaruh konsentrasi ekstrak kasar kapang terhadap aktivitas antibakteri melawan ESBL *E. coli* diolah menggunakan rancangan acak

tunggal dengan selang kepercayaan 95% ( $P < 0,05$ ). Uji lanjut yang digunakan adalah *Duncan test*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kapang laut merupakan kapang yang diduga berasal dari lingkungan darat maupun perairan tawar yang terbawa ke lingkungan laut, namun kapang ini tidak dapat tumbuh dan berkembang pada lingkungan laut yang bersalinitas. Salah satu kapang laut yang berhasil diisolasi dari penelitian sebelumnya adalah *T. asperellum* MT02 (Sibero *et al.*, 2017). Kapang ini menjadi koleksi isolat yang dipreservasi menggunakan air steril selama 3 bulan pada suhu 4 °C. Penumbuhan isolat ini pada media *Malt Extract Agar* (MEA) selama 7 hari memperlihatkan bahwa morfologi koloni kapang hasil penumbuhan kembali memiliki kesamaan identik dengan morfologi koloni kapang sebelum dipreservasi (Sibero *et al.*, 2017). Kapang ini memiliki karakteristik khas koloni berupa adanya pola pertumbuhan radial hijau tua dan hijau muda (Gambar 1). Stocco *et al.* (2010) melaporkan bahwa kapang yang dipreservasi menggunakan air steril dapat menyimpan isolat *Trichoderma* hingga umur 12-18 bulan. Selama masa penyimpanan, air akan menjaga bentuk sel konidia kapang dan tidak memicu pertumbuhan konidia menjadi miselium sehingga konidia tidak kering dan mati (Bhai dan Anandaraj, 2014).

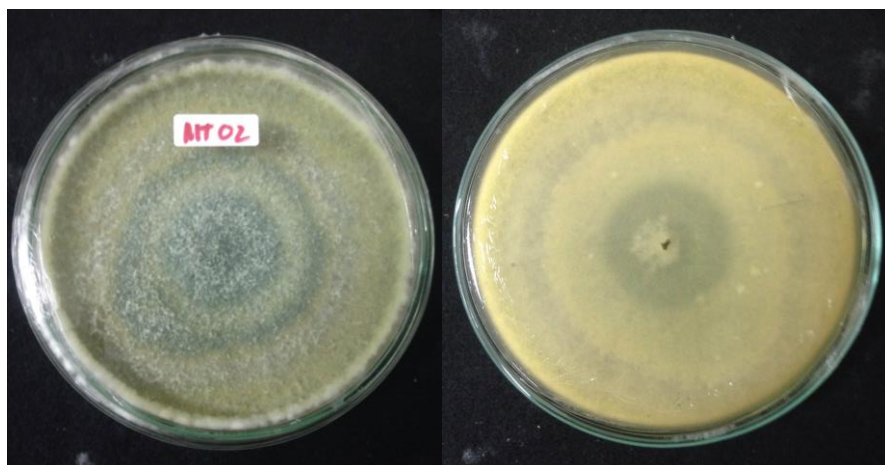
Metode preservasi menggunakan air steril banyak dilakukan untuk spesies kapang dari genus *Trichoderma* (Stocco *et al.*, 2010; Bhai dan Anandaraj, 2014; Iqbal *et al.*, 2017). Kapang *T. asperellum* MT02 selanjutnya dikultivasi pada media kaldu (*broth*) dengan tujuan produksi senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri dari isolat *T. asperellum* MT02 diekstrak dari miselium menggunakan metanol dan media kaldu menggunakan etil asetat. Jumlah rendemen ekstrak dari kedua sumber (Tabel 1). Berdasarkan hasil pengukuran jumlah ekstrak kasar diketahui bahwa miselium yang diekstrak menggunakan metanol menghasilkan rendemen yang lebih banyak ( $7,5309 \pm 3,1305$  b/b %) dibandingkan dengan ekstrak kasar yang dihasilkan oleh media kaldu

(0,0191±0,0078 b/v %). Jumlah rendemen dipengaruhi oleh jumlah senyawa yang dapat diekstrak oleh pelarut organik yang digunakan, etil asetat akan mengekstrak senyawa yang bersifat semi-polar sedangkan metanol akan mengekstrak senyawa polar, sedikit semi-polar dan senyawa non-polar.

Tujuan mengekstraksi miselium dan media kaldu (*broth*) secara terpisah adalah untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri serta mengkarakterisasi golongan senyawa bioaktif yang terkandung pada metabolit yang diproduksi secara intraselular dan ekstraselular. Metabolit intraselular adalah metabolit yang dihasilkan dan disimpan di dalam sel sehingga ekstraksi yang dilakukan bertujuan untuk menarik metabolit agar berpindah dari dalam sel menuju pelarut organik yang digunakan; sedangkan metabolit ekstraselular adalah metabolit yang dihasilkan oleh sel kemudian disekresikan ke lingkungan (luar sel) sehingga ekstraksi yang dilakukan bertujuan untuk memindahkan metabolit dari media kultur ke pelarut organik. Penelitian ini menggunakan pelarut etil asetat untuk mengekstrak senyawa metabolit ekstraselular, hal ini didasari kepolaran etil asetat (4,4) lebih

rendah dibandingkan media kaldu yang terbuat dari air (9,0) dan nilai kelarutan yang rendah di dalam air (8,7%) sehingga selama proses ekstraksi akan terbentuk dua fase organik yang terpisah dan memudahkan peneliti untuk melakukan pemekatan metabolit yang diekstrak (Sadek, 2002). Evaluasi kemampuan *T. asperellum* MT02 dalam menghambat pertumbuhan bakteri ESBL *E. coli* (Gambar 2).

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk maka diketahui bahwa ekstrak kasar yang berasal dari miselium memiliki kemampuan antibakteri yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif Amoxicillin 10 µg/cakram (11,83 ± 0,2 mm). Gambar 2 menunjukkan bahwa ekstrak pada konsentrasi 250 hingga 500 µg/mL memiliki diameter zona hambat yang tidak saling berbeda nyata. Hal ini berarti konsentrasi ekstrak kasar sebesar 250 µg/mL (3,73 ± 0,2 mm) dan 350 µg/mL (3,73 ± 0,2 mm) mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji sama baiknya dengan konsentrasi ekstrak kasar sebesar 500 µg/mL (3,73 ± 1,2 mm). Hal ini berbeda dengan aktivitas antibakteri ekstrak kasar asal media kaldu yang ditunjukkan oleh Gambar 2. Hasil uji



**Gambar 1.** Kloni kapang *T. asperellum* MT02 umur 7 hari pada media MEA

**Tabel 1.** Jumlah rendemen ekstrak kasar kapang *T. asperellum* MT02

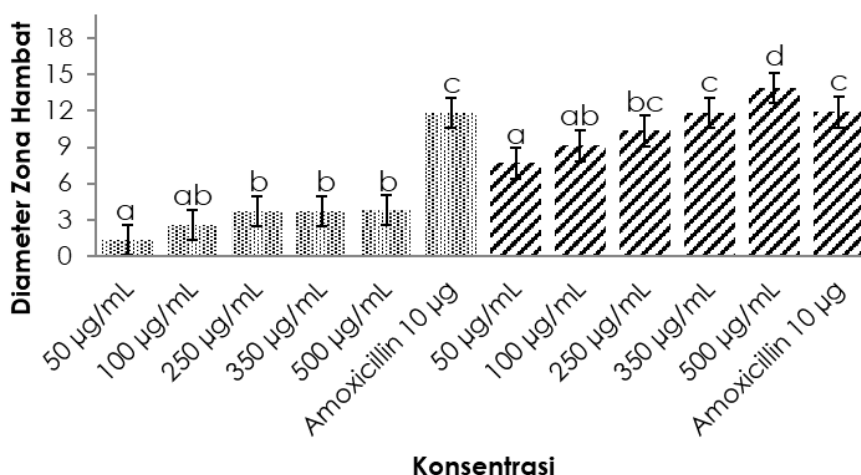
Sumber	Bobot rendemen ekstrak kapang (%)
Miselium	7,5309 ± 3,1305 (b/b)
Media	0,0191 ± 0,0078 (b/v)

(Rata-rata ± standar deviasi; b/b: bobot/bobot; b/v: bobot/volum)

statistik memperlihatkan konsentrasi ekstrak kasar berpengaruh nyata terhadap kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri ESBL *E. coli* ( $P < 0,05$ ).

Ekstrak dengan konsentrasi sebesar 350 µg/mL ( $11,85 \pm 1,9$  mm) memiliki zona hambat yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif, lebih lagi pada konsentrasi 500 µg/mL ( $13,90 \pm 0,6$  cm) diketahui bahwa ekstrak kapang dari media kaldu mampu menghambat bakteri ESBL *E. coli* lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol positif Amoxicillin 10 µg/cakram ( $11,95 \pm 0,1$  cm). Penelitian ini juga menunjukkan bahwa senyawa antibakteri dari kapang *T. asperellum* MT02 lebih banyak dihasilkan

sebagai metabolit ekstraselular yang disekresikan pada media kultur MEB. Hal ini didukung oleh Ismaiel dan Ali (2017) yang menyatakan bahwa senyawa antibakteri 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone dihasilkan oleh kapang *Trichoderma* sebagai metabolit ekstraselular yang dapat diekstrak menggunakan pelarut etil asetat. Senyawa antimikroba lain yang dihasilkan oleh genus *Trichoderma* dan diekstrak dengan etil asetat adalah 6-methylthiochroman-4-one, 6-chlorothiochroman-4-one, dan trichodermidin A-E (Jiao et al. 2018; Pinedo-Rivilla et al. 2018;). Hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa kapang *T. asperellum* MT02 berpotensi dijadikan sumber antibiotik baru untuk menyembuhkan infeksi bakteri patogen ESBL *E. coli*.



**Gambar 2.** Aktivitas antibakteri ekstrak kasar kapang *T. asperellum* MT02 (Keterangan: ■ = Miselia; ▨ = Media)

**Tabel 2.** Hasil analisis fitokimia ekstrak kasar kapang *T. asperellum* MT02

Golongan senyawa	Parameter	Hasil	
		Miselia	Kaldu
Alkaloid			
- Metode Dragendorff	Endapan berwarna oranye hingga merah	-	+
- Metode Mayer	Endapan berwarna putih kekuningan	-	+
- Metode Wagner	Endapan berwarna cokelat	-	+
Fenol hidrokuinon	Perubahan warna menjadi hijau	+	+
Flavonoid	Perubahan warna menjadi jingga hingga merah	+	+
Saponin	Terbentuknya busa stabil selama 30 menit	-	+
Steroid/terpenoid	Perubahan warna dari merah menjadi biru dan kehijauan	-	-

Keterangan: +: Menunjukkan hasil yang sesuai dengan parameter  
 -: Menunjukkan hasil yang tidak sesuai dengan parameter

Hasil karakterisasi golongan senyawa aktif menggunakan metode fitokimia pada Tabel 2 menunjukkan bahwa hanya terdapat dua golongan senyawa bioaktif pada miselium kapang *T. asperellum* MT02 menggunakan pelarut metanol yakni fenol hidrokuinon dan flavonoid. Sedangkan ekstrak kasar dari media kaldu yang diekstrak menggunakan etil asetat mengandung alkaloid, fenol hidrokuinon, flavonoid dan saponin. Beberapa golongan senyawa yang dilaporkan dapat diekstrak oleh pelarut metanol adalah gula, asam amino, senyawa glycoside, senyawa fenolik, flavonoid, antosianin, terpenoid, saponin, tanin, xantoxilin, totarol, quacinoid, lacton, flavone, phenone, dan polifenol (Yu-Lin *et al.*, 2009; Dekharghanian *et al.*, 2010; Widyawati *et al.* 2014). Grup senyawa bioaktif yang sebelumnya dilaporkan dapat diekstrak oleh etil asetat adalah alkaloid, aglicon, dan senyawa glikosida, sterol, terpenoid, dan flavonoid (Dekharghanian *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2011; Widyawati *et al.* 2014). Penelitian ini juga memberikan informasi tambahan bahwa pelarut etil asetat juga mampu menarik senyawa fenol dan saponin dari dalam media kultur kapang.

Senyawa turunan dari golongan alkaloid, fenol dan flavonoid telah banyak dilaporkan sebagai antibakteri yang sangat potensial (Cushnie *et al.* 2015; Xie *et al.* 2015; Paz *et al.* 2018; Wang *et al.* 2019). Selain senyawa dari golongan alkaloid, fenol dan flavonoid, senyawa dari turunan *non-ribosomal peptide* (NRP) dan poliketida (PK) juga banyak dilaporkan sebagai agen antibakteri yang sangat kuat. Kemampuan kapang ini untuk menghasilkan NRP dan PK dapat dilakukan melalui pendeteksian gen *non-ribosomal peptide synthase* (NRPS) serta gen *polyketide synthase* yang menyandikan enzim penghasil senyawa NRP dan PK. Hasil penelitian sebelumnya telah mengkonfirmasi bahwa *T. asperellum* MT02 memiliki gen penyandi NRPS serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen udang yakni *Vibrio harveyi* dan *V. alginolyticus* (Sibero *et al.* 2018<sup>2</sup>), sehingga diduga bahwa kapang ini mampu menghasilkan senyawa antibiotik dari turunan NRP khususnya *peptaibols*. Hal ini diduga sangat berpengaruh atas kemampuan antibakteri ekstrak kapang ini

melawan ESBL *E. coli*. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa senyawa dari golongan alkaloid, fenol, flavonoid, peptaibols dan saponin memiliki potensi lain seperti antifungal, antivirus, antioksidan hingga antikanker (Peralta *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019), sehingga kapang *T. asperellum* MT02 juga diduga menjadi sumber obat masa depan penanganan penyakit menular hingga terapi kanker.

## KESIMPULAN

Ekstrak kasar dari media kaldu kapang *Trichoderma asperellum* MT02 menunjukkan aktivitas antibakteri melawan ESBL *E. coli* yang lebih baik dibandingkan ekstrak dari miseliumnya. Berdasarkan hasil analisis fitokimia diketahui bahwa ekstrak kasar miselium mengandung senyawa dari grup fenol hidrokuinon dan flavonoid, sedangkan ekstrak kasar dari media kaldu mengandung alkaloid, fenol hidrokuinon, flavonoid dan saponin.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi (Kemristekdikti) yang telah membiayai penelitian ini melalui skema hibah riset Program Pendidikan Magister Menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) dengan nomer kontrak 2993-12/UN7.5.1/PG/2016.

## DAFTAR PUSTAKA

- [CDC] Center for Disease Control and Prevention. 2018. Biggest Threats and Data. (Dapat diakses di: [https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest\\_threats.html#ext](https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html#ext)). [Diakses pada 29 Oktober 2018]
- [CLSI] Clinical Laboratory Standard Institute. 2016. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th Ed. CLSI Supplement M100S.
- Abdjul, D.B., Yamazaki, H., Kanno, S., Wewengkang, D.S., Rotinsulu, H., Sumilat, D.A., Ukai, K., Kapojos M.M. & Namikoshi, M. 2017. Furanoterpenes, new types of protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors, from two Indonesian marine

- sponges, *Ircinia* and *Spongia* spp. *Bioorganic and Med. Chem. Lett.* 27(5):1159-1161. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.01.071
- Bhai, R.S. & Anandaraj, M. 2014. Enhancing shelf life of *Trichoderma harzianum* by conidial storage in sterile deionized water. *J. Species Aromatic Crops.* 23(2):243-249.
- Cushnie, T.P.T., Cushnie, B. & Lamb, A.J. 2015. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents* 44(5): 377-386. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- Dehkharghanian, M., Adenier, H. & Vijayalakshmi, M.A. 2010. Analytical methods study of flavonoids in aqueous spinach extract using positive electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry. *Food Chem.* 121: 863-870. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.01.007
- Ebada, S. S., de Voogd, N.J., Kalscheuer, R., Müller, W.E.G., Chaidir & Proksch, P. 2017. Cytotoxic drimane meroterpenoids from the Indonesian marine sponge *Dactylospongia elegans*. *Phytochemistry Letters* 22: 154-158. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2017.09.026>
- Fredimoses, M., Zhou, X., Ai, W., Tian, X., Yang, B., Lin, X., Liu, J., Liu, Y. 2018. Emerixanthone E, a new xanthone derivative from deep sea fungus *Emericella* sp SCSIO 05240. *Natural Product Research* 17: 1-7. DOI: 10.1080/14786419.2018.1487966.
- Guillerme, J.B., Couteau, C. & Coiffard, L. 2017. Application for marine resources in cosmetics. *Cosmetics* 4(35). DOI: 10.3390/cosmetics4030035
- Hidayat, T. & Nurnajah, N. 2016. Chemical compositions, extraction and phytochemical *Cyperus* sp. plant. *Frontiers in Biomedical Sciences* 1(1):7-12.
- Ibrahim, S.R. & Mohamed, G.A. 2017. Ingenine E, a new cytotoxic  $\beta$ -carboline alkaloid from the Indonesian sponge *Acanthostrongylophora ingens*. *J Asian Nat. Prod. Res.* DOI: 10.1080/10286020.2016.1213723
- Iqbal, S., Ashfaq, M., Malik, A.H., ul-Hag I, Khan, K.S. & Mathews, P. 2017. Isolation, preservation and revival of *Trichoderma viride* in culture media. *J. Entomology Zool. Stud.* 5(3): 1640-1646.
- Ismail, A.A. & Ali, D.M.I. 2017. Antimicrobial properties of 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone produced by endophytic strains of *Trichoderma koningii* and its effect on aflatoxin B1 production. *Biologia* 72(12):1403-1415. DOI: 10.1515/biolog-2017-0173
- Jiao, W.H., Khalil, Z., Dewapriya, P., Salim, A. A., Lin, H.W. & Capon, R.J. 2018. Trichodermides A-E: new peptaibols isolated from the Australian termite nest-derived fungus *Trichoderma virens* CMB-TN16. *J. Nat. Prod.* 81(4): 976-984. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b01072
- Kitagawa, K., Shigemura, K., Yamamichi, F., Alimsardjono, L., Rahardjo, D., Kuntaman, K., Shirakawa, T. & Fujisawa, M. 2018. International comparison of causative bacteria and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections between Kobe, Japan and Surabaya, Indonesia. *Japan J. Infectious Disease* 71: 8-13. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2017.233
- Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu, S., & Liu, J. 2011. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry* 126: 261-269. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.014
- Liu, Y., Ding, L., Fang, F. & He, S. 2018. Penicillilactone A, a novel antibacterial 7-membered lactone derivative from the sponge-associated fungus *Penicillium* sp. LS54. *Nat. Prod. Res.* DOI: 10.1080/14786419.2018.1452012
- Maarisit, W., Abdjul, D.B., Yamazaki, H., Kato, H., Rotinsulu, H., Wewengkang, D.S., Sumilat, D.A., Kapojos, M.M., Ukai, K. & Namikoshi, M. 2017. Anti-mycobacterial alkaloids, cyclic 3-alkyl pyridinium dimers, from the Indonesian marine sponge *Haliclona* sp. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27(15): 3503-3506. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.05.067
- Natalia, D., Jo, C.M., Nusatia, A.C.M., & Mayasari, M. 2018. Prevalence and risk factors of extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli*



- among adult inpatients in a secondary hospital. *Adv. Sci. Lett.* 24: 6817-6820. DOI: 10.1166/asl.2018.12854
- Paz, J.E.W., Contreras, C.R., Munguia, A.R., Aguilar, C.N. & Inungaray, M.L.C. 2018. Phenolic content and antibacterial activity of extracts of *Hamelia patens* obtained by different extraction methods. *Brazilian J. Microbiol.* 49:656-661. DOI: 10.1016/j.bjm.2017.03.018
- Peralta, M.A., Ortega, M.G., Cabrera, J.L., & Paraje, M.G. 2018. The antioxidant activity of a prenyl flavonoid alters its antifungal toxicity on *Candida albicans* biofilms. *Food Chem. Tox.* 114:285-291. DOI: 10.1016/j.fct.2018.02.042
- Pinedo-Rivilla, C., Collado, I.G. & Aleu, J. 2018. Metabolism of antifungal Thiochroman-4-ones by *Trichoderma viride* and *Botrytis cinerea*. *J. Nat. Prod.* 81(4):1036-1040. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00298
- Sadek, P.C. 2002. *The HPLC Solvent Guided, 2<sup>nd</sup> Edition*. New York (US): Wiley-Interscience.
- Sibero, M.T., Radjasa, O.K., Sabdono, A., Trianto, A., Triningsih, D.W. & Hutagaol, I.D. 2018<sup>1</sup>. Antibacterial activity of Indonesian sponge associated fungi against clinical pathogenic multidrug resistant bacteria. *J. App. Pharmaceut. Sci.* 8(2):88-94. DOI: 10.7324/JAPS.2018.8214
- Sibero<sup>2</sup>, M. T., Herdikiawan, D., Radjasa, O. K., Sabdono, A., Trianto, A. & Triningsih, D. W. 2018<sup>2</sup>. Antibacterial activity of sponge associated fungi against vibriosis agents in shrimp and its toxicity to *Litopenaeus vannamei*. *AAFL Bioflux* 11(1): 10-18.
- Sibero, M.T., Sabdaningsih, A., Cristianawati, O., Nuryadi, H., Radjasa, O. K., Sabdono & Trianto, A. 2017. Isolation, identification and screening antibacterial activity from marine sponge-associated fungi against multi-drug resistant (MDR) *Escherichia coli*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 55. DOI: 10.1088/1755-1315/55/1/012028
- Stocco, M., Monaco, C. & Cordo, C. 2010. A comparison of preservation methods for *Trichoderma harzianum* cultures. *Revista Iberoamericana de Micologia* 27(4): 213-215. DOI: 10.1016/j.riam.2010.06.001
- Sudarwanto, M.B., Lukman, D.W., Purnawarman, T., Latif, H., Pisestyani, H. & Sukmawinata, E. 2017. Multidrug resistance extended spectrum beta-lactamase and AmpC producing *Escherichia coli* isolated from the environment of Bogor Slaughterhouse, Indonesia. *Asian Pacific J. Trop. Biomed.* 7(8):708-711. DOI: 10.1016/j.apjtb.2017.07.012
- Suleria, H.A.R., Osborne, S., Masci, P. & Gobe, G. 2015. Marine-based nutraceuticals: an innovative trend in the food and supplement industries. *Mar. Drugs* 13(10):6336-6351. DOI: 10.3390/md13106336
- Wang, X. D., Su, G. Y., Zhao, C., Qu, F.Z., Wang, P. & Zhao, Y.Q. 2019. Anticancer activity and potential mechanisms of 1C, a ginseng saponin derivative, on prostate cancer cells. *J. of Ginseng Res.* 42(2): 133-143. DOI: 10.1016/j.jgr.2016.12.014
- Wasito, E.B., Shigemura, K., Osawa, K., Fardah, A. Kanaida, A., Raharjo, D., Kuntaman, K., Hadi, U., Harijono, S., Sudarmo, S.M., Nakamura, T., Shibayama, K., Fujisawa, M. & Shirakawa, T. 2017. *Japan J. Infectious Disease.* 70:378-382. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2016.234
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F. A. & Wijaya, E.L. 2014. Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indicia* Less leaves extracts. *Int. J. Pharmacog. Phytochem. Res.* 6(4):850-855.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., Ren, L. 2015. Antimicrobial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanisms. *Current Medicinal Chemistry* 22: 132-149. DOI: 10.2174/0929867321666140916113443
- Yu-Lin, H., Kuo, Y.H., Lin, Y.L. & Chiang, W. 2009. Antioxidative effect and active component from leaves of lotus (*Nelumbo nucifera*). *J. Agricul. Food Chem.* 57:6623-6629. DOI: 10.1021/jf900950z
- Zhang, X., Li, D., Xue, X., Zhang, Y., Zhang, J., Huang, C., Guo, Z. & Tadesse, N. 2018. First total synthesis of a novel amide alkaloid derived from Aconitum

taipeicum and its anticancer activity. *Nat. Prod. Res.* 32(2): 128-132. DOI: 10.1080/14786419.2017.1340283

Zubair, M. S., Lallo, S., Putra, M. Y., Hadi, T. A. & Jantan, I. 2018. Antibacterial and

cytotoxic activities of sponges collected off the coast of Togean Islands, Indonesia. *Pharmacognosy J.* 10(5): 988-992. DOI: 10.5530/pj.2018.5.168