

# Growth Curve of Endophyte Bacteria Andalas (*Morus macroura* Miq.) B.J.T. A-6 Isolate

Mahjani\*, Dwi Hilda Putri

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

\*Correspondence author: [mahjani97@gmail.com](mailto:mahjani97@gmail.com)

## Abstrak

**Tujuan** Laju pertumbuhan bakteri sangat bervariasi menurut jenis bakteri serta kondisi lingkungannya. Setiap bakteri memiliki waktu yang berbeda pada masing-masing fase pertumbuhannya. Laju pertumbuhan dapat ditentukan dengan cara membuat kurva pertumbuhan antara waktu inkubasi dengan absorbansi yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari dan mendapatkan kurva pertumbuhan bakteri endofit Andalas isolat B.J.T A-6.

**Metode** Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yaitu membuat kurva pertumbuhan dengan cara menghubungkan waktu fermentasi dengan absorbansi yang dihasilkan.

**Hasil** Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat B.J.T A-6 terdiri dari 4 fase, yaitu fase adaptasi, logaritmik, stasioner, dan kematian.

**Kesimpulan utama** Berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri endofit andalas isolat B.J.T A-6, fase adaptasi terjadi pada jam pertama. Fase logaritmik terjadi pada jam ke 2 sampai jam ke 7, fase stasioner terjadi pada waktu 4-5 jam. Fase kematian terjadi pada jam ke 20-24 jam hal ini ditunjukkan adanya penurunan terus menerus pada jumlah sel bakteri.

**Kata kunci** *Bakteri endofit Andalas Isolat B.J.T A-6, Kurva Pertumbuhan*

## Pendahuluan

Kasus resisten merupakan permasalahan kesehatan yang bersifat global, menurut data (WHO, 2019) memperkirakan bahwa ada lebih dari 200.000 bayi lahir didunia yang meninggal akibat infeksi. Hasil penelitian (Nurmala, Virgiandhy, Andriani, & Liana, 2015) melaporkan 21 jenis bakteri yang resisten terhadap 40 jenis antibiotik, diantara bakteri tersebut 70,3 % bakteri gram negatif dan 20,9 % bakteri gram positif.

Dengan meningkatnya kasus resistensi ini mendorong para peneliti untuk menemukan senyawa aktif antimikroba baru yang memiliki kemampuan dalam mengobati infeksi. Beberapa peneliti sudah mengembangkan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antimikroba dari ekstrak bahan alam (Gurib-Fakim, 2006; Ichsyani et al., 2017). Kelemahan penggunaan ekstrak alam adalah tidak ramah lingkungan. Oleh karena itu, perlu upaya untuk memanfaatkan bakteri endofit, salah satunya yang diisolasi dari tumbuhan Andalas (*Morus macroura* miq.).

Bakteri endofit Andalas diisolasi oleh (Afifah, Irdawati, & Putri, 2018). Penelitian yang dilakukan, berhasil mengisolasi 10 isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai antimikroba. Aktivitas antimikroba terbaik ditunjukkan pada kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Isolat B.J.T A-6 merupakan salah satu isolat yang menghasilkan senyawa aktif antimikroba yang baik.

Senyawa antimikroba dari bakteri endofit dapat diproduksi melalui proses fermentasi. Keberhasilan proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh pengoptimalan faktor-faktor dari pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Faktor-faktor tersebut akan memberikan kondisi yang berbeda untuk setiap mikroba sesuai dengan lingkungan hidupnya masing-masing sehingga mempengaruhi kinetika dan laju fermentasinya (Haque et al., 2017; Nofion, Putri, & Irdawati, 2018).

Waktu fermentasi merupakan salah satu faktor yang harus dioptimasi untuk mendapatkan suatu metabolit sekunder (antimikroba). Laju pertumbuhan bakteri sangat bervariasi menurut jenis bakteri serta kondisi lingkungannya. Laju pertumbuhan ditentukan dengan cara membuat kurva pertumbuhan antara waktu inkubasi dengan absorbansi yang dihasilkan (Haque et al., 2017; Zhang & Liu, 2016).

Kurva pertumbuhan merupakan suatu informasi mengenai fase pertumbuhan bakteri, fase-fase pertumbuhan bakteri pada umumnya terdiri dari fase lag, eksponensial, stationer, dan fase kematian. Kurva pertumbuhan digunakan untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan sel bakteri serta pengaruh lingkungan terhadap kecepatan pertumbuhan (Brooks, Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2013).

Pembuatan kurva pertumbuhan merupakan bagian yang penting dilakukan, karena dapat menggambarkan karakteristik kolonisasi bakteri. Perhitungan waktu juga diperlukan guna untuk mengetahui prediksi populasi setiap mikroorganisme dalam jangka waktu yang sama dalam proses metabolisme (Brooks et al., 2013). Setiap bakteri memiliki waktu yang berbeda pada masing-masing fase pertumbuhannya, oleh karena itu dilakukan penelitian terhadap bakteri endofit Andalas isolat B.J.T A-6 untuk mempelajari dan mendapatkan kurva pertumbuhan bakteri tersebut.

## Bahan dan Metode

Bakteri endofit Andalas yang digunakan pada penelitian ini berasal dari hasil isolasi (Afifah et al., 2018) yaitu isolat B.J.T A-6.

### Pembuatan Kultur Starter

Pembuatan kultur starter dilakukan dengan cara memasukkan 1 ose isolat B.J.T A-6 yang akan digunakan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 10 mL medium NB yang sudah disterilkan. Kultur starter di inkubasi di shaker inkubator pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm selama 12 jam.

### Fermentasi Bakteri Endofit

Starter bakteri endofit isolat B.J.T A-6 yang telah ditumbuhkan pada medium NB diencerkan dengan NaCl 0,9%, sampai kekeruhannya setara dengan Mcfarland's 1. Sebanyak 2 µL inokulum endofit diinokulasikan ke dalam 200 mL medium cair Mueller Hinton, kemudian di inkubasi di shaker inkubator dengan kecepatan 150 rpm di suhu ruang selama 72 jam. Cuplikan medium fermentasi diambil setiap 1jam, dan 4 jam selama 24 jam

### Perhitungan Optical Density

Sebanyak 200 µl cuplikan kultur fermentasi dimasukkan ke dalam kuvet dan diencerkan dengan menambahkan 1800 µl aquades steril. Nilai OD ditentukan berdasarkan nilai absorbansi pada spektrofotometer dengan panjang

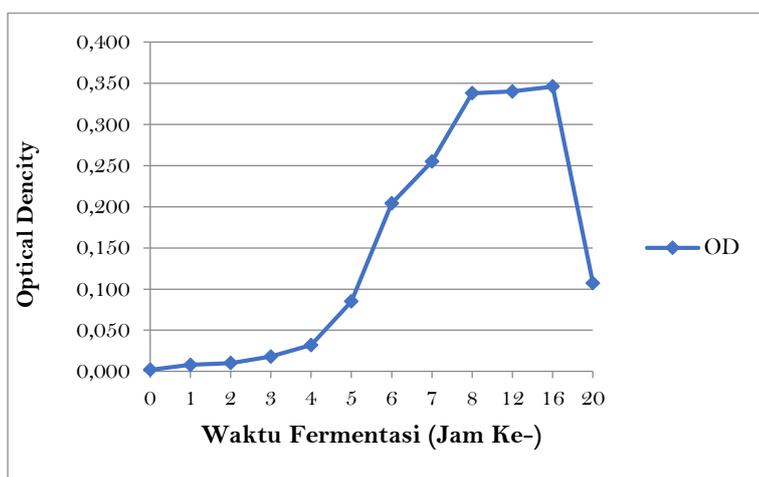
gelombang 625 nm. Sebagai blanko digunakan aquades. Perhitungan nilai OD dilakukan pada masing-masing pengamatan dan ulangan.

### Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan ditentukan dengan cara menghubungkan waktu fermentasi dengan absorban yang dihasilkan.

## Hasil dan Pembahasan

Laju pertumbuhan bakteri endofit isolate B.J.T A-6 dapat diperoleh dengan perhitungan nilai absorban yang dihasilkan dan kurva pertumbuhan sel bakteri dapat ditentukan dengan cara menghubungkan waktu fermentasi dengan nilai absorbsansi yang dihasilkan. Hasil kurva pertumbuhan bakteri endofit Andalas isolat B.J.T A-6 dapat dilihat pada Gambar 1..



**Gambar 1.** Kurva pertumbuhan bakteri endofit andalas isolat B.J.T A-6 dengan waktu fermentasi selama 24 jam.

Pertumbuhan merupakan pertambahan jumlah atau volume serta ukuran sel, bakteri dapat tumbuh dan berkembang biak dengan cepat bila dalam keadaan yang menguntungkan. Pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva yang disebut kurva tumbuh. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi 4 fase yaitu fase adaptasi, fase log, fase stasioner dan fase kematian (Brooks et al., 2013).

Pertumbuhan isolat B.J.T A-6 diawali dengan fase lag (fase adaptasi) yang berlangsung selama 1 jam yaitu dari jam 0-1. Menurut (Haque et al., 2017) fase ini ditandai dengan peningkatan komponen makromolekul, aktivitas metabolik dan kerentanan terhadap zat kimia dan faktor fisik, fase ini ditandai dengan belum adanya penambahan massa sel atau jumlah selnya. Fase adaptasi pada isolat B.J.T A-6 ini berlangsung singkat. Menurut (Brooks et al., 2013), panjang atau pendeknya fase adaptasi sangat ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologis yang sesuai serta media kultivasi yang dibutuhkan.

Pada jam ke 2-7 terjadi fase logaritmik, fase log ini ditandai dengan pertumbuhan yang signifikan dari sel-selnya. Menurut (Sulistijowati, 2012), fase logaritmik menggambarkan sel membelah diri dengan laju yang konstan, masa menjadi dua kali lipat dengan laju sama, aktifitas metabolisme konstan, serta keadaan pertumbuhan seimbang. Menurut (Setyati, Martani, Subagiyo, & Zainuddin, 2015), kecepatan pertumbuhan pada fase ini sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu serta kelembaban udara.

Fase selanjutnya adalah fase stasioner, fase stasioner merupakan fase dimana jumlah pertumbuhan sel sama dengan jumlah kematian sel. Pada fase ini, metabolit sekunder banyak diproduksi karena bakteri saling mempertahankan diri untuk bertahan hidup dengan cara mengeluarkan metabolit sekundernya dan sebagian lagi teracuni oleh kondisi lingkungan yang berubah akibat metabolit yang dihasilkan (Brooks et al., 2013). Isolat Berdasarkan kurva di atas (gambar 1) isolat B.J.T A-6 memasuki fase stasioner pada jam ke 8 hingga jam ke 20.

Fase kematian terjadi pada jam ke 20 dan jam-jam seterusnya, Pada saat ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup dan medium kehabisan nutrisi maka populasi bakteri akan menurun jumlahnya. Menurut (Fardiaz, 1992), bentuk logaritmik fase kematian merupakan penurunan secara garis lurus yang digambarkan oleh jumlah sel-sel hidup terhadap waktu dan jumlah bakteri hidup semakin berkurang dan menurun.

Kurva pertumbuhan bakteri endofit andalas isolat B.J.T A-6 terdiri dari 4 fase, fase adaptasi terjadi pada jam pertama. Fase logaritmik terjadi pada jam ke 2 sampai jam ke 7 ,fase stasioner terjadi pada waktu 4-5 jam. Fase kematian terjadi pada jam ke 20-24 jam hal ini ditunjukkan adanya penurunan terus menerus pada jumlah sel bakteri.

## Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh PNBP Universitas Negeri Padang melalui skema Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT).

## Daftar Pustaka

- Afifah, N., Irdawati, I., & Putri, D. H. (2018). Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from the Andalas Plant Stem ( *Morus macroura* Miq.). *Bioscience*, 2(1), 72–75. <http://doi.org/10.24036/02018219952-0-00>
- Brooks, G. F., Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2013). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. Climate Change 2013 - The Physical Science Basis* (Vol. 53). <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. <http://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008>
- Haque, S., Singh, V., Srivastava, A., Tripathi, C. K. M., Niwas, R., & Pasupuleti, M. (2017). Strategies for Fermentation Medium Optimization: An In-Depth Review. *Frontiers in Microbiology*, 7. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02087>
- Ichsyani, M., Ridhanya, A., Risanti, M., Desti, H., Ceria, R., Putri, D. H., ... Dewi, B. E. (2017). Antiviral effects of *Curcuma longa* L. against dengue virus in vitro and in vivo. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 101). <http://doi.org/10.1088/1755-1315/101/1/012005>
- Nofion, N., Putri, D. H., & Irdawati. (2018). Optimization of Medium Fermentation for Production of Antimicrobial Compounds by Endofit Bacteria Andalas Plant ( *Morus macroura* Miq.) B.J.T.A-6 Isolate, 2(1), 79–84.
- Nurmala, N., Virgiandhy, I., Andriani, A., & Liana, D. F. (2015). Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. *eJournal Kedokteran Indonesia*, 3(1). <http://doi.org/10.23886/ejki.3.4803>.
- Setyati, W. A., Martani, E., Subagiyo, T., & Zainuddin, M. (2015). Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimunjawa, Jepara. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 20 (3)(September 2015), 163–169.
- Sulistijowati, R. (2012). Potensi Filtrat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai Biopreservatif pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. *IJAS*, 2(2012), 58–63.
- WHO. (2019). Antibiotic resistance threats in the United States. *Centers for Disease Control and Prevention*. <http://doi.org/CS239559-B>
- Zhang, Q., & Liu, Y. (2016). The Strategies for Increasing Cordycepin Production of *Cordyceps Militaris* by Liquid Fermentation. *Fungal Genomics & Biology*, 6(1). <http://doi.org/10.4172/2165-8056.1000134>