
**OPTIMIZATION OF MEDIUM FERMENTATION FOR PRODUCTION OF
ANTIMICROBIAL COMPOUNDS BY ENDOFIT BACTERIA ANDALAS PLANT
(*Morus macroura* Miq.) B.J.T.A-6 ISOLATE**

Nada Nafion, Dwi Hilda Putri^{1*}, Irdawati

Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang,
Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Barat Padang, 25131

Email: dwhildaputri.08@gmail.com

Abstract. Cases of bacterial resistance to antibiotics are discussed with serious problems in the world of health. New antimicrobial compounds are needed which are more effective in treating infectious diseases. Isolate B.J.T.A-6 is an endophytic bacteria from Andalus plants (*Morus macroura* Miq.) which is known to be able to produce antimicrobial active compounds. Antimicrobial compounds can be produced by growing them on fermented media. The purpose of this study was to optimize the medium fermentation of Andalus endophytic bacteria of B.J.T.A-6 isolates in producing antimicrobial compounds. While medium fermentation is Nutrient Broth (NB), Muller Hinton (MH), and Luria Bertani Broth (LB). Antimicrobial activity tests were carried out by means of diffusion. The parameters used were the diameter of the inhibition zone against *Staphylococcus aureus* around the disc paper. The profile of medium fermentation optimization was analyzed statistically. The results showed that B.J.T.A-6 isolates could inhibit the highest growth of *S. aureus* by using LB fermentation medium.

Keywords: Endofit, Bacteria, Andalus, fermentation, optimization, medium



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2017 by author and Universitas Negeri Padang.

1. PENDAHULUAN

Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi suatu masalah serius dalam dunia kesehatan. Beberapa bakteri resisten antibiotik sudah banyak ditemukan di seluruh dunia, seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Vancomycin-Resistant Enterococci* (VRE), *Penicillin Resistant Pneumococci*, dan *Multiresistant Mycobacterium tuberculosis* (MDR TB) (Permenkes, 2011).

Kasus resistensi bakteri mendorong banyak peneliti untuk menemukan senyawa baru yang memiliki kemampuan optimal dalam mengobati penyakit infeksi. Eksplorasi potensi tumbuhan obat sebagai sumber senyawa aktif antimikroba merupakan salah satu strategi yang banyak dilakukan. Bakteri endofit dapat digunakan sebagai salah satu

alternatif cara memperoleh senyawa aktif tanpa harus mengestrak dari tumbuhan secara langsung.

Tumbuhan Andalas dikenal mengandung senyawa antimikroba dan anti tumor (Syamsuardi *et al.*, 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Afifah *et al.* (2018) telah berhasil mengisolasi bakteri endofit dari batang tumbuhan Andalas (*Morus macroua* Miq.). Pada penelitian tersebut berhasil didapatkan 10 isolat yang mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba. Sebagian besar bakteri endofit yang ditemukan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*S. aureus*) dan beberapa bakteri endofit memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (*E. coli*). Isolat B.J.T.A-6 merupakan salah satu isolat yang baik dalam menghasilkan senyawa antimikroba, baik bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.

Senyawa antimikroba dari isolat bakteri endofit dapat diproduksi dengan cara menumbuhkannya pada media fermentasi. Medium merupakan salah satu faktor penting pada proses fermentasi. Variasi komposisi medium secara signifikan dapat mempengaruhi hasil fermentasi. Medium adalah nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Setiap bakteri memiliki kebutuhan akan kandungan nutrisi yang berbeda. Berdasarkan penelitian Mangamuri *et al.* (2014), bakteri *Streptomyces gulbargensis* DAS 131 menunjukkan aktivitas antimikroba yang tinggi ketika dikultur pada media dengan glukosa (2%), pepton (1%), NaCl (5%), dan K₂HPO₄ (0,05%). Menurut penelitian Das *et al.* (2016) isolat AM7 menghasilkan antimikroba tertinggi ketika medium fermentasi mengandung sukrosa yang lebih tinggi dibandingkan jenis karbohidrat lainnya. Talluri dan Lanka (2017), juga telah melakukan optimasi parameter kultur dari *Lactobacillus fermentum* dan diketahui dari delapan sumber nitrogen yang digunakan, zona hambat maksimum terdapat pada sumber karbon berupa trypton kemudian *beef extract* dan kedelai.

Optimasi medium fermentasi juga dapat dilakukan dengan menggunakan medium kompleks. Medium kompleks adalah medium yang bahan dasarnya terdiri dari ekstrak jaringan hewan atau bahan tanaman. Beberapa bakteri tidak diketahui dengan pasti kebutuhan nutrisinya sehingga perlu digunakan medium kompleks (Prescott, 2002). Masing-masing medium kompleks memiliki fungsi dan kandungan nutrisi yang berbeda-beda. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi medium fermentasi bakteri endofit isolat B.J.T.A-6 dalam menghasilkan senyawa antimikroba.

2. BAHAN DAN METODE

Bakteri endofit Andalas yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri yang diisolasi oleh Afifah et al. (2018) yaitu isolat B.J.T.A-6 . Mikroba uji yang digunakan yaitu bakteri gram positif (*S. aureus*/ATCC.EC 2592). Beberapa medium yang digunakan pada penelitian ini adalah medium *Nutrient Agar* (NA), *Muller Hinton Broth* (MH), *Nutrient Broth* (NB), dan *Luria Bertani Broth* (LB).

2.1 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 5 mL medium NB yang sudah disterilkan. Kultur *starter* di *shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm selama 12 jam.

2.2 Optimasi Medium Fermentasi

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 250 μ L inokulum endofit diinokulasikan ke dalam setiap 10 mL medium fermentasi (medium LB, NB, MH), kemudian di inkubasi di *shaker inkubator* (kecepatan 150 rpm) pada temperatur ruang selama 48 jam. Cuplikan medium fermentasi diambil setiap 24 jam (masing-masing sebanyak 300 μ L) menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung *appendorf*. Hasil fermentasi disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm, suhu 4°C selama 30 menit untuk memisahkan supernatan dari massa selnya. Supernatan disimpan pada suhu 4°C selanjutnya digunakan untuk uji aktifitas bakteri. Semua perlakuan memiliki tiga kali ulangan dan dilakukan secara aseptik.

2.3 Uji Aktivitas Antimikroba

Bakteri uji yang akan digunakan yaitu *S. aureus* diremajakan terlebih dahulu sebelum digunakan. Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba yaitu medium NA. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram. Mikroba uji, yang kekeruhannya sudah disetarakan dengan skala 0,5 *McFarland's*, dioleskan secara merata menggunakan *cotton bud* yang sudah disterilisasi. Ekstrak kasar fermentasi isolat bakteri endofit yang akan diuji, diambil sebanyak 100 μ L ditetaskan pada kertas cakram steril dan dibiarkan sampai jenuh. Kemudian kertas cakram diletakkan di atas medium NA yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri uji *S. aureus*. Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan kondisi cawan petri dibalikkan. Diameter zona bening disekitar kertas cakram diukur setelah inkubasi selama 24 jam. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat B.J.T.A-6 memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* saat difermentasi dengan medium yang berbeda. Profil optimasi medium terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Profil Optimasi Medium bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A-6 terhadap *S. aureus*

Jenis Medium	Rata-rata Diameter Zona Hambat (cm)	
	Fermentasi Jam ke-	
	24 Jam	48 Jam
MH	0,12	0,23
NB	0,07	0,03
LB	0,25	0,22

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa perlakuan terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* saat fermentasi menggunakan medium LB, dengan rata-rata diameter zona hambat 0,25 cm pada fermentasi jam ke-24, sedangkan perlakuan yang menghasilkan kemampuan senyawa antimikroba terhadap bakteri ini yang paling rendah yaitu perlakuan fermentasi dengan medium NB dengan diameter zona hambat 0,03 cm pada fermentasi jam ke-48.

Zona hambat yang dihasilkan bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A-6 saat difermentasi menggunakan medium berbeda terbentuk pada hari pertama dan cenderung menurun pada hari ke-2 fermentasi. Secara umum senyawa antimikroba yang dihasilkan bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A-6 dengan berbagai perlakuan medium fermentasi yang digunakan mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* yang lebih tinggi saat fermentasi jam ke-24, kemudian mengalami penurunan saat fermentasi jam ke-48.

3.2 PEMBAHASAN

Senyawa antimikroba merupakan metabolit sekunder, yang dihasilkan pada akhir fase eksponensial dan fase stasioner. Produksi senyawa antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya komponen media dan kondisi kultur yang berbeda-beda untuk setiap organisme. Komponen media yang berpengaruh adalah struktur kimia media dan konsentrasinya (Sulistiyani & Narwanti, 2015).

Optimasi medium digunakan untuk mengetahui pada medium manakah isolat B.J.T.A-6 mampu tumbuh dan menghasilkan metabolit sekunder sebagai penghasil senyawa antimikroba yang paling baik. Medium fermentasi berpengaruh sebagai sumber

nutrisi untuk pertumbuhan isolat. Medium pertumbuhan yang baik merupakan medium yang mampu menyediakan sumber karbon dan mineral-mineral lain yang dibutuhkan dalam pertumbuhan maupun aktivitasnya (Todar, 2007).

Dalam uji ini dilakukan optimasi fermentasi isolat B.J.T.A-6 pada beberapa medium kompleks, yaitu medium MH, LB dan NB. Medium ini digunakan karena mempunyai perbedaan komposisi yang akan mempengaruhi pertumbuhan isolat tersebut. Untuk penentuan medium fermentasi optimumnya dilakukan dengan membandingkan besar diameter zona hambat dari ketiga medium. Hasil optimasi medium menunjukkan bahwa adanya perbedaan pertumbuhan yang terjadi pada isolat ini. Perbedaan ini disebabkan karena kemampuan bakteri yang berbeda-beda dalam berkembang biak, tergantung pada media tumbuh serta nutrisi yang ada pada masing-masing medium.

Berdasarkan Tabel 1 diketahui medium optimum untuk isolat ini adalah medium LB. Medium LB mempunyai kandungan sumber karbon dan sumber nitrogen. Sumber nitrogen medium ini berasal dari yeast extract, selain itu medium ini juga mengandung sodium chlorida. Berdasarkan penelitian Shukla et al. (2013), medium fermentasi yang mengandung yeast extract menunjukkan aktivitas antimikroba tertinggi terhadap bakteri uji yang digunakan, bila dibandingkan dengan sumber nitrogen lainnya.

4. KESIMPULAN

Dalam kondisi kultur produksi senyawa antimikroba isolat B.J.T.A-6 yang diisolasi dari bakteri endofit Andalas diketahui isolat ini optimum menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* saat difermentasi menggunakan medium LB. Studi lebih lanjut diperlukan untuk memperkuat pentingnya isolat ini sebagai penghasil senyawa antimikroba yang efisien. Isolat B.J.T.A-6 ini dapat terbukti menjadi kandidat potensial sebagai sumber senyawa antimikroba yang efisien.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Dana PNBP Universitas Negeri Padang Tahun Anggaran 2018 Sesuai dengan Surat Keputusan Rektor UNP No. 071/UN35/KP/2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah N, Putri DH, & Irdawati. 2018. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from the Andalas Plant Stem (*Morus macroura* Miq.). *Bioscience*, 2(1): 72-75.
- Das M P, Bhowmick M, & Reynolds M. 2016. Optimization of Culture Conditions for Production of Antibacterial Metabolite by Marine Bacteria. *Journal Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 38(2), 5.
- Mangamuri UK, Vijayalakshmi M, Poda S, & Agasar D. 2014. Optimization of the cultural parameters for improved production of antimicrobial metabolites by *Streptomyces gulbargensis* DAS 131. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4(9), 1130.
- Pemerintah Indonesia. 2011. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406 Tentang pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Menteri Kesehatan. Jakarta.
- Prescott H. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology Fifth Edition*. USA: The Mc Graw Hill.
- Shukla S, Shukla H, Pandey AK. 2013. Optimization Of Various Parameters For Production Of Antimicrobial Compounds By *Fusarium Roseum* Fgccc61. *Journal of Pharmacy and Pharmacheutical Sciences*, 3(12), 16.
- Sulistiyani N, & Narwanti I. 2015. Aktivitas Cairan Kultur Bakteri Penghasil Antibiotik (Isolat P301) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 13(2): 181-186.
- Syamsuardi, Jamsari, & Jawati S. (2005). *Diversitas Morpologis & Genetik Pohon Andalas (Morus Macroura Miq.), Flora Identitas Sumatera Barat, dan Pemanfaatannya Secara Berkelanjutan*. Paper presented at the Improving Appre Prosiding Workshoop Ciation and Awareness On Concervation Of High Value Indigenous Wood Species of Sumatera, Pekanbaru.
- Talluri P, & Lanka SS. 2017. Optimization of Cultural Parameters for the Production of Antimicrobial Compound from *Lactobacillus Fermentum* (MTCC No. 1745). *Journal of Bacteriology & Mycology*, 4(5), 4.
- Todar K. 2007. *Nutrion and growth of bacteria*. University Wisconsin: Madison Department of Bacteriology.