

# Optimization of Starter in Producing Antibacterial Compounds by *Andaleh (Morus macrourea)* Endophytic Bacteria B.J.TA-6 Isolate

Febrina Anggiastanti\*, Dwi Hilda Putri

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

\*Correspondence author: [febrinaanggiastanti10@gmail.com](mailto:febrinaanggiastanti10@gmail.com)

## Abstract

**Aim** Antibacterial resistance has become a serious problem in the health sector, increasing cases of bacterial resistance to antibacterial agents have encouraged researchers to develop and find new bioactive compounds. One source of new bioactive compounds developed is by utilizing endophyte bacteria. B.J.T A-6 isolate is *Andaleh endophyte* bacteria which has antibacterial activity. This study aims to determine the concentration of the best fermentation starter in producing antibacterial compounds by ATB 10-6 isolates.

**Methods** fermentation of B.J.T A-6 isolates for 24 hours with a starter concentration of 2.5% at 38 hours of observation

**Results** The B.J.T A-6 isolate in producing the best antibacterial compound was 24-hour fermentation with a starter concentration of 2.5% at 38-hour observation.

**Main conclusions** Low starter concentration will cause the resulting product is also low, conversely a very high starter concentration will inhibit bacterial growth due to nutritional limitations

**Key words** *Endophyte Bacteria, starter, Fermentasi, Antibakteri*

## Pendahuluan

Resistensi antibakteri menjadi masalah yang serius dalam bidang kesehatan, tercatat 1.049.442 kasus infeksi karena resistensi antibiotik dan 23.000 diantaranya meninggal dunia (WHO, 2019). Penelitian (Nurmala, Virgiandhy, Andriani, & Liana, 2015), menunjukkan bahwa sebanyak 21 isolat bakteri yang diisolasi dari pus di rumah sakit Soedarso resisten terhadap metronidazol, sefalekssin, sefuroksim, oksasilin dan sefadroksil. Penelitian Muttaqin (2013), melaporkan terjadinya peningkatan resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik penisilin dari tahun ke tahun, peningkatan tertinggi terjadi pada 2011 sebanyak 90,2%. Penelitian Marhamah (2016), melaporkan bahwa sebanyak enam jenis antibiotik resisten terhadap bakteri gram positif. Meningkatnya kasus resistensi bakteri terhadap agen antibakteri, menjadi dasar pengembangan dan penemuan senyawa bioaktif baru yang bermanfaat untuk terapi yang lebih baik. Salah satu sumber senyawa bioaktif baru yang dikembangkan adalah dengan memanfaatkan bakteri endofit yang diisolasi dari tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* miq.).

Penelitian sebelumnya, mengisolasi isolat bakteri endofit dari jaringan batang, akar dan daun Andaleh (Afifah, Irdawati, & Putri, 2018; Putri, Fifendy, & Putri, 2018; Yandila, Putri, & Fifendy, 2018). Jaringan batang menghasilkan jumlah isolat yang lebih banyak dibandingkan jaringan lain. Salah satu isolat yang memiliki aktivitas yang baik dalam menghasilkan senyawa antimikroba adalah isolat B.J.T A-6.

Senyawa antibakteri dari bakteri endofit dapat diproduksi melalui proses fermentasi. Menurut (Wijanarka, Ferniah, & Salamah, 2012), proses fermentasi berlangsung dalam kondisi yang optimum agar mendapatkan produk yang maksimal. Menurut (Haque et al., 2017; Nofion, Putri, & Irdawati, 2018; Zhang & Liu, 2016), kondisi optimum fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti medium, waktu, suhu, aerasi dan starter fermentasi.

Konsentrasi starter yang diinokulasikan pada medium fermentasi memberikan pengaruh pada proses optimum fermentasi. Konsentrasi starter yang tinggi memungkinkan sel-sel mengalami pertumbuhan yang tidak sempurna dalam kultur fermentasi. Hal ini, dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti penghambatan nutrisi atau beberapa kondisi yang tidak menguntungkan lainnya (Dada, Kalil, & Yusoff, 2012). Setiap proses fermentasi memerlukan konsentrasi starter yang berbeda, tergantung kepada jenis bakteri dan produk yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi konsentrasi starter pada proses fermentasi oleh bakteri endofit Andaleh isolat B.J.T A-6 dalam menghasilkan senyawa antibakteri terbaik.

## Bahan dan Metode

### Isolat Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat B.J.T A-6 yang diisolasi dari jaringan batang Andaleh (Afifah et al., 2018). Mikroba uji yang digunakan yaitu bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* /ATCC.EC 2592).

### Optimasi Konsentrasi Starter Fermentasi

Kultur starter dibuat dengan cara memasukkan 1 ose isolat B.J.T A-6 ke dalam Erlenmeyer yang berisi 5 mL medium MHB yang sudah steril. Kultur starter diinkubasi di shaker incubator pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm selama 12 jam. Selanjutnya, starter bakteri isolat B.J.T A-6 yang telah ditumbuhkan pada medium MHB diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai kekeruhannya setara dengan Mc Farland's 1. starter dimasukkan ke dalam 10 mL medium fermentasi sesuai dengan variasi konsentrasi starter. Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi berupa 0,1%, 1%, 2,5%, dan 5%. Kultur diinkubasi di shaker incubator pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm selama 72 jam. Cuplikan medium fermentasi diambil setiap 24 jam (masing-masing sebanyak 300 µL) menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan disimpan pada suhu 4°C yang akan digunakan untuk uji aktivitas bakteri. Semua perlakuan memiliki dua ulangan dan dilakukan secara aseptik.

### Uji Aktivitas Antimikroba

Mikroba uji yang digunakan adalah *S. aureus* dibuat dengan pelarut NaCl 0,9%, dengan kekeruhan setara dengan Mc Farland's 0,5. Suspensi selanjutnya diinokulasikan ke dalam medium PDA, dengan cara dioleskan menggunakan *cotton bud* steril. Ekstrak kasar fermentasi isolat B.J.T A-6 yang akan diuji, diambil sebanyak 100 µL, kemudian diteteskan pada kertas cakram steril. Selanjutnya kertas cakram diletakkan di atas medium PDA yang sudah diinokulasi dengan mikroba uji *S. aureus*. Cawan petri diinkubasi secara terbalik pada suhu ruang. Zona hambat disekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong setelah inkubasi 17 dan 38 jam.

## Analisis Data

Data optimasi konsentrasi starter fermentasi diolah dalam bentuk rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing perlakuan dan waktu pengamatan.

## Hasil dan Pembahasan

Optimasi konsentrasi starter fermentasi bakteri endofit isolat B.J.T A-6 diperoleh dengan perhitungan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing perlakuan dan waktu pengamatan. Optimasi konsentrasi starter fermentasi bakteri endofit Andaleh isolat B.J.T A-6 dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Profil optimasi konsentrasi starter fermentasi bakteri endofit Andaleh isolat B.J.T A-6 dalam menghasilkan senyawa antibakteri

Pengamatan jam ke-	Konsentrasi Starter (%)	Rata-rata Diameter Zona Hambat (cm)	
		Fermentasi Jam ke-	
		24 Jam	48 Jam
17	0,1	0,03	0,08
	1	0,18	0,09
	2,5	0,10	0,06
	5	0,11	0,13
38	0,1	0,03	0,08
	1	0,20	0,11
	2,5	0,16	0,06
	5	0,15	0,14

Starter adalah sejumlah mikroba yang sudah ditumbuhkan pada kondisi terbaiknya, setelah sebelumnya mikroba tersebut berada dalam kondisi dorman (Dada et al., 2012). Menurut (Wijanarka et al., 2012), mikroorganisme yang digunakan sebagai starter merupakan mikroorganisme yang sedang dalam fase pertumbuhan dan memiliki aktivitas menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Jumlah atau konsentrasi starter yang diinokulasikan pada medium fermentasi memberikan pengaruh pada proses optimum fermentasi. Kultur starter dibuat menggunakan medium yang sesuai dengan jenis mikroorganisme untuk pertumbuhan atau aktivitas antibakteri. Inkubasi starter dilakukan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Hal ini bertujuan untuk mengantisipasi apabila senyawa yang terkandung dalam starter tersebut mudah terdegradasi.

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa pada konsentrasi starter 0,1% memiliki aktivitas senyawa antibakteri terkecil. Pada konsentrasi starter 1 dan 2,5% memiliki aktivitas senyawa antibakteri tertinggi pada pengamatan ke 38 jam dengan fermentasi 24 jam dan semakin menurun pada pengamatan jam ke-38 dengan fermentasi 48 jam. konsentrasi starter 5% memiliki aktivitas senyawa antibakteri tertinggi pada pengamatan jam ke-38 dengan fermentasi 24 jam dan semakin menurun pada fermentasi 48 jam. Penelitian (Elviasari & Rusli, 2015), diketahui isolat IJEH2 memiliki aktivitas antimikroba terbaik dengan konsentrasi stater 2%. Selanjutnya, (Wijanarka et al., 2012), telah melakukan optimasi konsentrasi starter (5%, 7,5% dan 10%) isolat endofit BAN-1, dan konsentrasi starter yang terbaik adalah 10%.

Berdasarkan hasil optimasi diketahui pada konsentrasi starter 2,5% menghasilkan senyawa antibakteri terbaik. Pada konsentrasi starter 5% senyawa antibakteri yang dihasilkan semakin menurun. Menurut (Wijanarka et al., 2012), konsentrasi starter yang rendah akan menyebabkan produk yang dihasilkan juga rendah, sebaliknya konsentrasi starter yang sangat tinggi akan menghambat pertumbuhan bakteri karena mengalami keterbatasan nutrisi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kondisi optimasi fermentasi bakteri endofit Andaleh isolat B.J.T A-6 dalam menghasilkan senyawa antibakteri terbaik yaitu fermentasi jam ke-24 dengan konsentrasi starter 2,5% pada pengamatan 38 jam. Sedangkan pada fermentasi jam ke-24 dengan konsentrasi starter 5% dan mengalami penurunan aktivitas pada pengamatan 38 jam.

## Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) PNPB Universitas Negeri Padang.

## 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>
- Dada, O., Kalil, M. S., & Yusoff, W. M. W. (2012). Effects of Inoculum and Substrate Concentrations in Anaerobic Fermentation of Treated Rice Bran to Acetone, Butanol and Ethanol. *Bacteriology Journal*, 2(4), 79–89. <http://doi.org/10.3923/bj.2012.79.89>
- Elviasari, J., & Rusli, R. (2015). Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Endofit Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(5), 214–220. <http://doi.org/10.25026/jsk.v1i5.42>
- 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>
- 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>.
- Putri, M. F., Fifendy, M., & Putri, D. H. (2018). Diversitas Bakteri Endofit Pada Daun Muda dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* miq.). *EKSAKTA*, 19(1), 125–130. <http://doi.org/https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss1>
- WHO. (2019). Antibiotic resistance threats in the United States. *Centers for Disease Control and Prevention*. <http://doi.org/CS239559-B>
- Wijanarka, W., Ferniah, R. S., & Salamah, S. (2012). Produksi Inulinase *Pichia alni* DUCC-W4 pada Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd) dengan Variasi Konsentrasi Ammonium Nitrat dan Waktu Inkubasi. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2), 58. <http://doi.org/10.14710/bioma.10.2.58-64>
- Yandila, S., Putri, D. H., & Fifendy, M. (2018). Endophytic Bacteria Colonization on Root Andaleh Plant (*Morus macroura* Miq.). *Bio-Site*, 04(2), 1–7. Retrieved from <https://online-journal.unja.ac.id/BST/issue/view/771>
- 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>