



PENGARUH KOMPOSISI MEDIUM DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI SENYAWA AKTIF BAKTERI ENDOFIT TUMBUHAN ANDALAS (*Morus macroura*. Mic)

Dona Fitri Ani, Dwi Hilda Putri
Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang
Email: dona.f3ani@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan global. Infeksi dapat disebabkan oleh mikroba patogen, salah satunya adalah jamur. Penggunaan agen antijamur yang berlebihan dan tidak terkontrol dapat mengakibatkan resistensi. Sehingga dibutuhkan senyawa aktif baru. Senyawa antimikroba baru bisa didapatkan dari bakteri endofit Andalas melalui proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh komposisi medium dan waktu fermentasi terhadap dalam menghasilkan senyawa aktif. Uji aktivitas antimikroba ekstrak produk fermentasi bakteri endofit Andalas menggunakan metode difusi cakram. Komposisi medium yang diuji adalah 1 komposisi, 1/2, 1/3 dan 1/4 komposisi. Uji aktivitas dilakukan dengan mikroba uji *Candida albicans*. Hasil komposisi medium terbaik dalam menghambat mikroba uji adalah satu komposisi.

Kata kunci: komposisi medium, fermentasi, bakteri endofit

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan global. Infeksi dapat disebabkan oleh mikroba patogen, salah satunya adalah jamur. Penyakit infeksi ini dapat diatasi oleh antijamur. Namun, karena penggunaan agen antijamur yang berlebihan dan tidak terkontrol sehingga mengakibatkan resistensi terhadap antijamur tersebut. Meningkatnya kasus resistensi jamur terhadap agen antijamur mendorong para peneliti untuk mengembangkan dan menemukan senyawa bioaktif baru. Salah satu sumber antijamur baru yang dikembangkan adalah dengan memanfaatkan bakteri endofit. Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis (bakteri dan jamur) yang hidup di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang (Takana *et al.*, 1999). Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan. Bakteri endofit juga dapat memproteksi tanaman dalam melawan mikroba patogen dan serangga (Bhore and Sathisha, 2010).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan Yandila dkk., (2018), berhasil mengisolasi 16 isolat endofit dari akar tanaman Andaleh, dua isolat memiliki aktivitas antijamur. Isolat ATB 10⁻⁶ merupakan salah satu isolat yang memiliki aktivitas antijamur yang tinggi.

Untuk memproduksi senyawa aktif antijamur yang dihasilkan oleh bakteri endofit Andaleh isolat ATB 10⁻⁶ perlu dilakukan proses fermentasi. Fermentasi



merupakan proses perubahan kimia bahan organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme akan tumbuh dan berkembang secara aktif dan menghasilkan produk yang diinginkan selama proses fermentasi (Hidayanto, 2017).

Proses fermentasi harus berlangsung dalam kondisi yang optimum agar mendapatkan produk yang maksimal. Kondisi optimum fermentasi dipengaruhi oleh faktor eksternal dan internal. Kondisi lingkungan berupa suhu, pH, konsentrasi *starter*, komposisi medium dan waktu fermentasi merupakan faktor eksternal yang juga berperan dalam menentukan kondisi optimum proses fermentasi (Hidayat dan Suhartini, 2007). Faktor internal yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu jenis bakteri. Perbedaan jenis bakteri akan mempengaruhi jalur metabolisme dan jenis senyawa aktif yang dihasilkan.

Komposisi medium dan waktu fermentasi dapat mempengaruhi mikroorganisme dalam menghasilkan metabolit sekunder. Selama proses fermentasi, nutrisi diperoleh bakteri dari medium fermentasi. Berdasarkan komposisinya, medium dibedakan menjadi medium kompleks (*complex*) dan medium sintetik (*definated*). Medium sintetik tersusun atas bahan macam dan komposisinya yang diketahui dengan pasti (Prescott, 2002). Sedangkan 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. Anggiastanti, (2019) telah berhasil mengoptimasi medium fermentasi isolat ATB.10⁻⁶ menggunakan medium kompleks seperti NB, LBB, MH, dan LB. Medium terbaik dalam menghasilkan aktivitas antijamur adalah medium LB. Komposisi medium LB terdiri dari ekstrak beef, pepton dan laktosa. Pepton dan ekstrak beef menyediakan nutrisi esensial untuk metabolisme bakteri. Laktosa menyediakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasi untuk organisme.

Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antijamur dari bakteri endofit akar tanaman Andalas Isolasi ATB 10⁻⁶ pada komposisi medium dan waktu fermentasi yang berbeda dalam memperoleh aktivitas antijamur.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Starter

Pembuatan kultur starter dilakukan dengan cara memasukkan 1-2 ose isolat ATB 10⁻⁶ yang akan digunakan ke dalam *erlenmeyer* yang berisi 20 mL medium LB yang sudah disterilkan. Kultur starter diinkubasi di *shaker incubator* pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm selama 12 jam.

Fermentasi Isolasi Bakteri Endofit ATB 10⁻⁶

Starter bakteri endofit isolat ATB 10⁻⁶ dimasukkan pada medium LB dengan komposisi yang berbeda dimulai dari 1 komposisi, 1/2, 1/3 dan 1/4 komposisi, starter



tersebut diencerkan dengan NaCl 0,9 %, sampai kekeruhannya setara dengan *Mcfarland's* 1. Pengukuran *Mcfarland's* 1 menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm. *Mcfarland's* 1 setara dengan dengan *optical density* (OD) 0,14 - 0,18 (setara dengan 3×10^8 CFU/sel). Sebanyak 10% (50 mL) *starter* endofit diinokulasikan ke dalam 500 mL medium (LB_B) sebagai medium fermentasi. Kultur diinkubasi di *shaker incubator* (kecepatan 150 rpm) pada temperatur ruang selama 24 jam dan 48 jam.

Uji Aktivitas dan Pengukuran Optical Density

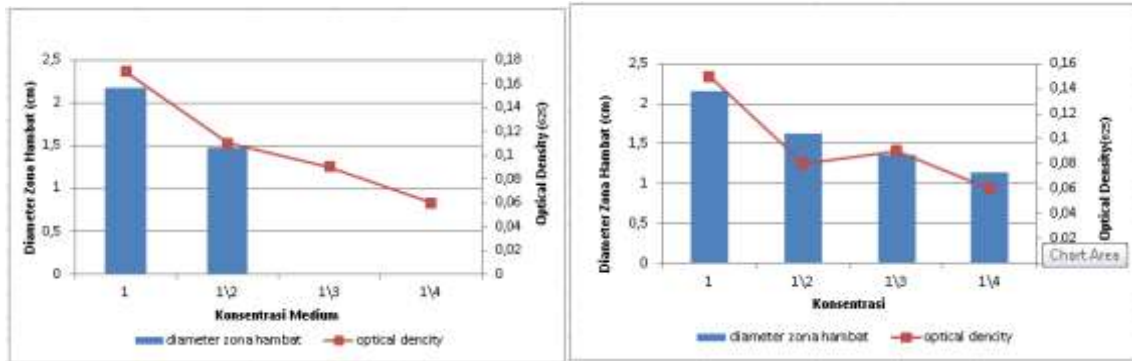
Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram. Pengujian dilakukan dengan mikroba uji *Candida albicans*. Meneteskan 20 μ L masing-masing produk fermentasi bakteri endofit Andalas isolat ATB.10⁻⁶ pada kertas cakram, lalu meletakkan kertas cakram pada medium PDA yang sudah dinokulasikan dengan suspensi *C.albicans*. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

Selanjutnya mengukur *Optical Density* (OD) produk hasil fermentasi menggunakan spektrofotometer. Pengujian dilakukan dengan mengambil 200 μ L hasil fermentasi dan dilarutkan dalam 800 μ L aquades steril. Kemudian diukur dengan panjang gelombang 625 nm.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Produk hasil fermentasi dari isolat ATB 10⁻⁶ akan menghasilkan senyawa antimikroba. 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 lama waktu fermentasi yang berbeda-beda untuk setiap organisme. Komponen media yang berpengaruh adalah struktur kimia media dan konsentrasinya (Sulistiyani dan Narwanti, 2015).

Isolat ATB.10⁻⁶ merupakan bakteri endofit Andalas yang mampu menghasilkan senyawa antijamur sehingga menggunakan mikroba uji *Candida albicans*. Untuk mengetahui aktivitas antijamur dari produk fermentasi tersebut maka diperlukan uji aktivitas dan pengukuran *Optical Density* (OD), pengujian menggunakan metode difusi kertas cakram dan spektrofotometer. Hasil rata-rata diameter zona hambat dan *Optical Density* (OD) bakteri endofit Andalas dengan komposisi medium dan waktu fermentasi berbeda dapat dilihat pada gambar 1.



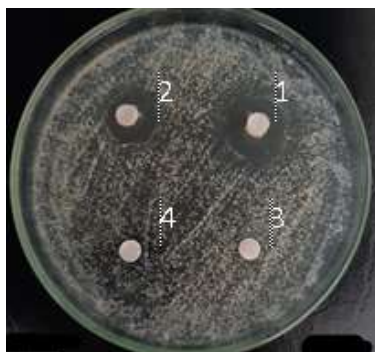
(a)

(b)

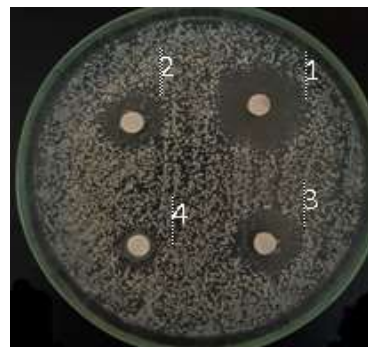
Gambar 1. (a) Pengamatan pada jam ke-24 (b) Pengamatan pada jam ke-48

Berdasarkan gambar 1. Terlihat bahwa konsentrasi medium dapat mempengaruhi produksi senyawa antimikroba. Rata-rata diameter zona hambat produk fermentasi bakteri endofit Andalas ATB 10-6 terhadap mikroba uji *Candida albicans* masing-masing konsentrasi medium berbeda. Pada fermentasi jam ke-24, diameter zona hambat dan *Optical density* tertinggi terdapat pada konsentrasi medium satu komposisi. Rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi medium satu komposisi adalah 2,17cm dengan *Optical density* 0,17. Pada konsentrasi medium 1/3 dan 1/4 komposisi tidak terbentuk zona hambat sehingga konsentrasi ini tidak mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji. Hal ini juga terlihat pada *Optical density* yang juga menurun pada konsentrasi tersebut.

Pada fermentasi jam ke-48 tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara diameter zona hambat dan *Optical density* dengan jam ke-24. Namun, pada fermentasi jam ke-48 terdapat zona hambat pada komposisi medium 1/3 dan 1/4 dengan rata-rata zona hambatnya 1,36 cm dan 1,14 cm. Sehingga dapat dikatakan bahwa komposisi terbaik medium fermentasi bakteri endofit Andalas isolat ATB 10-6 adalah medium dengan satu komposisi. Hasil uji aktivitas produk fermentasi bakteri endofit Andalas ATB.10⁻⁶ dapat dilihat pada gambar 2.



(a)



(b)

Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak terhadap *Candida albicans* (a)



fermentasi jam ke-24, (b) fermentasi jam ke-48.

Keterangan:

1 = Medium satu komposisi

2 = Medium 1/2 komposisi

3 = Medium 1/3 komposisi

4 = Medium 1/4 komposisi

PENUTUP

Sauerkraut dapat diartikan sebagai kubis asam dan secara luas dikonsumsi di Eropa Tengah dan Selatan serta Amerika Serikat. Dalam proses fermentasi asinan kubis, garam akan menyebabkan cairan yang mengandung nutrisi dari sayuran kubis akan keluar dan dapat dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat. Selain itu garam juga berperan menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk maupun patogen.

Dari hasil uji organoleptik dan membandingkan dengan teori yang ada, dapat ditarik kesimpulan bahwa sauerkraut kelompok kami termasuk berhasil. Hasil sauerkraut yang dibuat memiliki rasa asam sesuai dengan kriteria keberhasilan pembuatan sauerkraut. Rasa asam ini dihasilkan oleh bakteri *Leuconostoc Mesenteroides*. Warna sauerkraut adalah keemasan. Warna keemasan ini diperoleh dari serangkaian proses pada saat fermentasi. Aroma dari hasil fermentasi sauerkraut yaitu bau asam seperti aroma asinan sayur pada umumnya, namun masih mengandung aroma kol sebagai bahan bakunya. Tekstur sauerkraut adalah lunak, karena kandungan air yang ada dalam kol terdorong keluar.

REFERENSI

- Anggiastanti, F. (2019). Optimasi Kondisi Fermentasi Bakteri Endofit Andaleh (*Morus macroura* Miq.) Isolat ATB 10^{-6} untuk Menghasilkan Senyawa Antijamur. *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Bhore, S.J. and Sathisha, G. (2010). Screening of Endophytic Colonizing Bacteria for Cytokinin-Like Compounds: Crude Cell-Free Broth of Endophytic Colonizing Bacteria Is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(4), 345-352.
- Hidayanto, A. P. (2017). *Modul Mata Kuliah Teknologi Fermentasi*. Universitas Esa Unggul.
- Hidayat, N dan Suhartini, S. 2007. *Mikrobiologi Industri*. Departemen Tek. Industri Pertanian FTP Univ. Brawijaya. Malang.
- Prescott H. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology Fifth Edition*. USA: The McGraw Hill.
- 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.



- Tanaka M, Sukiman H, Takebayashi M, Saito K, Suto M, Prana MS, dan Tomita F,.1999. Isolation, Screening and Phylogenetic Identification of Endophytes from Plants in Hokaido Japan and Java Indonesia. *Microbes and Environment*,14(4), 237–241.
- Yandila, S., Putri, D. H., Fifendy, M. (2018). Kolonisasi Bakteri Endofit pada Akar Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.). *Bio-site*, 04(2), 41-80.