

Optimization Of Andalas Endophytic Fungi Fermentation Conditions (*Morus Macroura* Miq.) Isolate CED 3 To Produce Antibacterial Compounds

Optimasi Kondisi Fermentasi Cendawan Endofit Andalas (*Morus Macroura* Miq.) Isolat CED 3 Untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri

Siti Nurayni*, Dezi Handayani

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

*Corresponding author: sitinurayni133@gmail.com

Abstract. Andalas plant is medicinal plants with high potential in producing antimicrobial compounds. The direct use of antibacterial compound from Andalas plants can destroy its existence. Endophytic fungi are known to be able produce the same bioactive compounds as their host. Production antibacterial compounds can be done through the fermentation. The optimum conditions fermentation influenced by factors medium, time, temperature and pH. This reseach aiming to determine the optimum time fermentation, the optimum pH fermentation medium and the optimum temperature fermentation the endophytic fungus isolate CED 3 isolated from the leaves Andalas plant (*Morus macroura* Miq.) in producing antibacterial compounds. Antibacterial activity test by disc diffusion method. This research is a descriptive, held on January 2021 to June 2021 in the research laboratory of the Biology Department, FMIPA UNP. The results showed the optimum fermentation time for endophytic fungi isolate CED 3 was on day 6 against *S. aureus* with an average inhibition zone of 9.6 mm and 9,4 against *E. coli*. Optimizing pH optimum medium on pH 6 against *S. aureus* and pH 7 against *E.coli*. Meanwhile, optimum temperature optimization of isolate CED 3 was at 28°C-30°C against *S. aureus* and *E.coli* optimum at 26°C.

Key words: endophytic fungi, antibacterial compounds, fermentation, fermentation time, pH, temperature

Abstrak. Tumbuhan andalas merupakan salah satu tumbuhan obat berpotensi tinggi dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Pemanfaatan langsung senyawa antibakteri dari tumbuhan dapat merusak keberadaannya. Cendawan endofit diketahui mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya. Produksi senyawa antibakteri dapat dilakukan melalui fermentasi. Kondisi optimum fermentasi dipengaruhi oleh faktor medium, waktu, suhu dan pH. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu optimum fermentasi, pH optimum medium fermentasi dan suhu optimum fermentasi cendawan endofit isolat CED 3 yang diisolasi dari daun tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) dalam menghasilkan senyawa antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, dilaksanakan pada bulan Januari 2021 sampai Juni 2021 di laboratorium penelitian jurusan biologi FMIPA UNP. Hasil penelitian

menunjukkan waktu optimasi fermentasi cendawan endofit isolat CED 3 optimum pada hari ke-6 terhadap *S.aureus* dengan rata-rata zona hambat 9,6 mm dan 9,4 mm terhadap *E.coli*. Pada optimasi pH medium optimum pada pH 6 terhadap *S. aureus* dan *E.coli* optimum pH 7. Sedangkan, optimasi suhu isolat CED 3 optimum pada suhu 28°C-30°C terhadap *S.aureus* dan *E.coli* optimum pada suhu 26°C.

Kata Kunci : Cendawan endofit, senyawa antibakteri, fermentasi, waktu fermentasi, pH, suhu



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. ©2020 by author.

Pendahuluan

Peningkatan jumlah mikroba resistan terhadap antibiotik merupakan penyebab kegagalan dalam proses pengobatan penyakit infeksi. Hal ini mendorong banyak peneliti dalam mengembangkan produk antibiotik baru, salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah dengan memanfaatkan senyawa antibakteri yang terkandung dalam tumbuhan obat. Salah satu tumbuhan obat yang memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa antibakteri adalah tumbuhan Andalus (*Morus macroura* Miq.). Tumbuhan andalus mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan dan antijamur. Tumbuhan andalus memiliki senyawa fenol seperti morasin B, morasin P, mulberosida C dan mulberofuran serta senyawa turunan stilbene yaitu lunularin dan oksiresveratrol (Soekamto, 2005). Pengambilan senyawa bioaktif secara langsung dari tumbuhan membutuhkan biomassa yang banyak, hal tersebut dapat menyebabkan kerusakan sumber daya hayati yang tersedia. Salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah dengan memanfaatkan mikroba endofit yang terdapat dalam jaringan tumbuhan (Haniah, 2008). Salah satu mikroba endofit yang dapat dimanfaatkan adalah cendawan endofit.

Cendawan endofit adalah salah satu jenis mikroba endofit yang mampu memproduksi metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada sistem jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, ranting ataupun akar tumbuhan. Metabolit cendawan endofit yang dihasilkan merupakan senyawa antibiotik yang mampu melindungi tanaman dari serangan mikroorganisme patogen. Senyawa lain yang dapat dihasilkan oleh cendawan endofit berupa senyawa anti kanker, antifungi, antibakteri, dan antivirus (Noverita, 2009). Cendawan endofit juga mampu berperan sebagai agen pengendali hayati yang mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menghasilkan hormon pertumbuhan bagi tumbuhan inangnya (Sunariasih et al., 2014).

Senyawa bioaktif yang dihasilkan cendawan endofit memiliki aktivitas yang sama dengan senyawa bioaktif yang dimiliki inangnya atau berbeda namun aktivitas yang dihasilkan dapat lebih besar dari inangnya. Penelitian yang dilakukan oleh Handayani et al., (2020) berhasil mengisolasi 7 cendawan endofit dari batang tumbuhan andalus. Sementara Oktaviani (2020), berhasil mengisolasi 9 cendawan endofit dari daun tumbuhan andalus yang memiliki aktivitas antibakteri. Isolat cendawan endofit daun 3 (CED 3) adalah salah satu isolat yang berhasil diisolasi dan memiliki aktivitas antibakteri yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh cendawan endofit diproduksi melalui proses fermentasi. Fermentasi akan menghasilkan produk yang maksimal jika berlangsung dalam kondisi yang optimum (Rahmi, 2019). Kondisi optimum suatu fermentasi dipengaruhi oleh keadaan lingkungan yaitu, biologi (jenis bakteri dan senyawa aktif yang dihasilkan), fisik (suhu dan pH), dan kimia (kebutuhan nutrisi) (Brooks et al., 2008). Faktor lingkungan pertumbuhan jamur berpengaruh pada kualitas dan kuantitas senyawa antibakteri yang dihasilkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum fermentasi pada cendawan endofit Andalus isolat CED 3 dalam menghasilkan senyawa antibakteri.

Bahan dan Metode

Isolat Cendawan Endofit

Cendawan endofit yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat CED 3 yang diisolasi dari daun tumbuhan Andalus (Oktavia, 2020). Mikroba uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Peremajaan isolat CED 3

Peremajaan isolat CED 3 dilakukan dengan mengambil 1 potong miselium diletakkan pada medium PDA dalam cawan petri. Selanjutnya cendawan diinkubasi pada suhu ruang.

Peremajaan mikroba uji

Peremajaan mikroba uji dilakukan dengan menginokulasikan 1-2 ose biakan murni bakteri *S.aureus* dan *E.coli* ke dalam medium NA miring. Selanjutnya kultur bakteri di inkubasi pada inkubator (37°C) selama 24 jam.

Optimasi Waktu Fermentasi

Optimasi waktu fermentasi dilakukan dengan memasukkan 2 ptong miselium isolat CED 3 ke dalam 50 mL kaldu dextrose kentang. Selanjutnya kultur di shaker dengan kecepatan 150 rpm dan diinkubasi pada suhu ruang. Selama 7 hari masa inkubasi kultur diambil setiap harinya sebanyak 5 mL dan disaring untuk memisahkan miselium dengan larutan (ekstrak kasar antibakteri). Selanjutnya, sebanyak 20 µL ekstrak ditetaskan pada kertas cakram dan diletakkan di atas medium NA yang sudah diinokulasi dengan bakteri uji. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Zona hambat yang dihasilkan diukur menggunakan jangka sorong.

Optimasi pH fermentasi

Optimasi pH fermentasi dilakukan dengan pengaturan pH medium dengan menggunakan larutan NaOH dan HCl. Optimasi pH medium dilakukan pada pH 5, 6,7, dan 8. Sebanyak 2 potong miselium isolat CED 3 dimasukkan ke dalam 25 mL kaldu dextrose kentang (sudah diatur pH). Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu ruang diatas shaker dengan kecepatan 150 rpm. Kultur dipanen dan disaring pada hari optimum yang telah didapatkan pada optimasi waktu fermentasi. Sebanyak 20 µL ekstrak kasar ditetaskan pada kertas cakram dan diletakkan diatas medium NA yang sudah diinokulasi bakteri uji. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Zona hambat yang dihasilkan diukur menggunakan jangka sorong.

Optimasi suhu Fermentasi

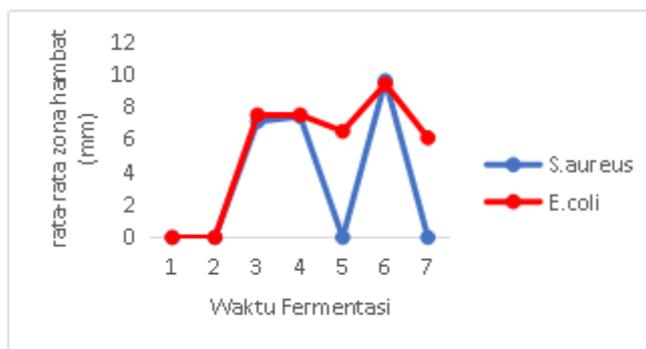
Optimasi suhu fermentasi dilakukan dengan cara sebanyak 2 potong miselium isolat CED 3 dimasukkan ke dalam 25 mL kaldu dextrose kentang (pH medium disesuaikan dengan pH optimum yang didapatkan) dengan suhu ruang (28°C-30°C) dan suhu 26°C. Kultur diinkubasi diatas shaker (150 rpm). Kultur dipanen dan disaring pada hari optimum yang telah didapatkan sebelumnya. Sebanyak 20 µL ekstrak kasar ditetaskan pada kertas cakram dan diletakkan diatas medium NA yang telah diinokulasi bakteri uji. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Zona hambat yang dihasilkan diukur menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Data optimasi Waktu, pH dan suhu fermentasi diolah dalam bentuk ratan-rata diameter zona hambat terbentuk pada masing-masing perlakuan dan waktu pengamatan. Data rata-rata zona hambat dianalisis secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Optimasi fermentasi merupakan kondisi optimum suatu proses fermentasi yang ditandai dengan perubahan kimia dengan bantuan mikroorganisme. Setiap mikroorganisme memiliki kondisi optimum yang berbeda untuk menghasilkan metabolit sekunder. Optimasi kondisi fermentasi cendawan endofit andalas isolat CED 3 untuk menghasilkan senyawa antibakteri dilakukan dengan melihat pengaruh faktor fermentasi yaitu waktu fermentasi, pH medium fermentasi dan suhu fermentasi.



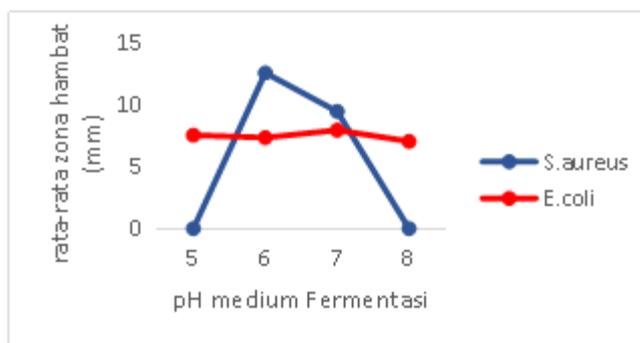
Gambar 1. Pengaruh Optimasi Waktu Fermentasi Cendawan Endofit Andalas isolat CED 3 untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri.

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa waktu fermentasi terbaik terhadap kedua bakteri uji pada hari ke-6 dengan rata-rata zona hambat *S.aureus* 9,6 mm dan *E.coli* 9,4 mm. Sedangkan rata-rata zona hambat terkecil terhadap *S.aureus* 7,1 mm pada hari ke-3 dan rata-rata zona hambat terkecil terhadap *E.coli* 6,1 mm pada hari ke-7. Waktu optimum suatu fermentasi ditandai dengan diproduksi secara maksimal senyawa antibakteri dan

terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan koloni bakteri. Menurut Perez et al., (2002) bahwa setiap mikroba memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendekomposisi substrat. Semakin lama masa inkubasi, maka semakin kompleks senyawa-senyawa yang diubah oleh mikroba menjadi senyawa yang lebih sederhana.

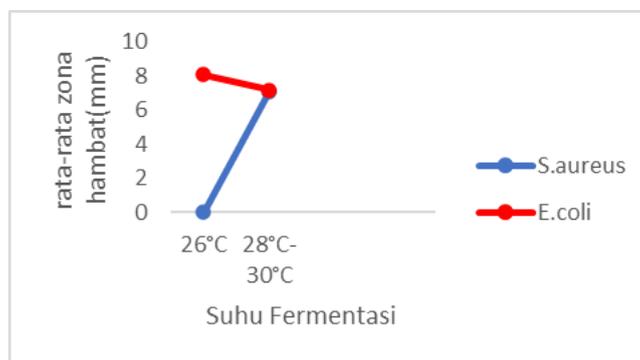
Hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilakukan Intan (2013), aktivitas antimikroba fermentasi cendawan endofit isolat DC-1 terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan waktu optimum pada hari kelima dengan diameter hambatan paling besar (29,25 mm dan 19,25 mm). Pada tabel 1 terlihat bahwa ada pada hari ke-1 dan hari ke-2 tidak terbentuk zona hambat. Menurut Son dan Cheah (2002), zona hambat tidak terbentuk saat uji aktivitas bukan karena cendawan endofit tersebut tidak memiliki kandungan senyawa aktif, namun karena jumlah yang sedikit atau menghasilkan senyawa aktif lain.

pH medium merupakan salah satu parameter yang berpengaruh terhadap pertumbuhan sel dan pembentukan produk. Medium pertumbuhan yang memiliki pH optimum memacu aktivitas produksi senyawa bioaktif. Optimasi pH medium fermentasi dilakukan dengan menggunakan rentang pH 5-8 dengan penambahan HCL atau NAOH sedikit demi sedikit pada medium fermentasi yang digunakan.



Gambar 2. Hasil Optimasi pH medium Fermentasi Cendawan Endofit (*M. macroura* Miq.) untuk menghasilkan senyawa antibakteri

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui optimasi pH medium fermentasi isolat CED 3 menghasilkan pH optimum pada pH 6 untuk bakteri uji *S. aureus* dengan rata-rata zona hambat 12,5 mm, sedangkan untuk bakteri uji *E. coli* optimum pada pH 7 dengan rata-rata zona hambat 7,9 mm. Menurut (Tisnadaja, 2011), perbedaan pH optimum yang dihasilkan terjadi karena setiap isolat menghasilkan antibakteri yang mempunyai pH optimum yang berbeda. Perubahan pH pada media menunjukkan adanya pertumbuhan dan metabolisme selama proses fermentasi berlangsung.



Gambar 3. Hasil Optimasi Suhu Fermentasi Cendawan Endofit (*M. Macroura* Miq.) untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri

Gambar 3 menunjukkan isolat CED 3 menghasilkan senyawa antibakteri paling tinggi pada suhu ruang untuk bakteri uji *S. aureus* dengan rata-rata zona hambat 7,2 mm, sedangkan untuk bakteri uji *E. coli* senyawa antibakteri paling tinggi dihasilkan pada suhu 26°C dengan rata-rata zona hambat 7,8 mm. Setiap mikroba memiliki suhu optimum yang berbeda walaupun dalam satu spesies yang sama. Apabila suhu lingkungan terlalu rendah maupun terlalu tinggi maka aktivitas enzim akan berhenti atau terjadi denaturasi enzim.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa cendawan endofit andalas isolat CED 3 mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Isolat CED 3 menghasilkan senyawa antibakteri optimum pada hari ke-6 fermentasi terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. pH optimum isolat CED 3 dalam menghasilkan senyawa antibakteri

pada hari ke-6 terhadap *S. aureus* dan *E.coli* optimum pada hari ke-7. Isolat CED 3 menghasilkan senyawa antibakteri optimum pada suhu 28°C-30°C terhadap *S.aureus* dan *E.coli* optimum pada suhu 26°C.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih saya tujukan kepada dosen pembimbing atas saran dan masukan, selanjutnya terima kasih kepada semua pihak yang membantu terselesaikannya artikel ini.

Daftar Pustaka

- Brooks, G. F., Butel, J. S., and Morse, S. A., Jawetz, Melnick and Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran (terj.)*. Jakarta: EGC
- Handayani, D., Putri, D. H., Farma, S. A., Annisa, N., Oktaviani, M., dan Rahwani. 2020. Isolation of Endophytic Fungi from Stem of Andaleh (*Morus macroura* Miq.) That Produce Antimicrobial Compound. *Advances in Biological Sciences Research*. Volume 10.
- Haniah, M. 2008. Isolasi jamur endofit dari daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Intan, S. 2013. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum Annuum* L. Var. *Chinensis*) Dan Profil Klt- Bioautografi. *Skripsi*. Makassar : Universitas Hasanuddin.
- Oktaviani, M. 2020. Isolasi Cendawan Endofit Dari Daun Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) dan Potensinya Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Skripsi*. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Perez, L. M., Munos, D. J., Rubia, T., Martinez, J. 2002. Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin. *J Int Microbiol*. 5: 53–63.
- Rahmi, M. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Produk Fermentasi Bakteri Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1. *Skripsi*. Padang : universitas negeri padang.
- Soekamto, N. H., Achmad, S. A., Ghisalberty, E. L., Hakim, E. H., Syah, Y. M. 2005. Lunularin and oxyresveratrol: Two Stilben Derivates from *Morus macroura*. *Indonesian Journal of Chemistry*, 5(3), 207-210.
- Son R. and Cheah Y K. 2002. Preliminary Screening of Endophytic Fungi from Medical Plants in Malaysia for Antimicrobial and Antitumor Activity. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 9 (2): 23 – 33.
- Sunariasih, Ni Putu Linda, I Ketut Suada, Ni Wayan Suniti. 2014. Identifikasi Jamur Endofit dari Biji Padi dan Uji Daya Hambatnya terhadap *Pyricularia oryzae* cav, Secara in vitro. *E-jurnal Agroekoteknologi Tropika*, Vol. 3, NO.2.
- Tisnadjaja, Djadjat. 2011. Efek antibakteri senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh kapang Endofitik AT 32 dari *Artemisia annua*. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, Vol 1, No.1.