

**OPTIMASI FERMENTASI UNTUK PRODUKSI SENYAWA
ANTIMIKROBA OLEH BAKTERI ENDOFIT TUMBUHAN
ANDALAS (*Morus macroura* Miq.) ISOLAT B.J.T.A.2.1**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**OLEH:
NADA NAFION
15032074/2015**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2019**

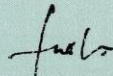
PERSETUJUAN SKRIPSI

**OPTIMASI FERMENTASI UNTUK PRODUKSI SENYAWA
ANTIMIKROBA OLEH BAKTERI ENDOFIT TUMBUHAN ANDALAS
(*Morus macroura* Miq.) ISOLAT B.J.T.A.2.1**

Nama : Nada Nafion
Nim/ BP : 15032074/ 2015
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 28 Januari 2019

Disetujui oleh
Dosen Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

**Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Biologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang**

Judul : Optimasi Fermentasi Untuk Produksi Senyawa
Antimikroba oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas
(*Morus macroura* Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1

Nama : Nada Nafion

NIM/TM : 15032074/2015

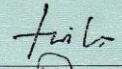


Program Studi : Biologi

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 08 Februari 2019

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed.	1. 
2. Anggota	: Dr. Ramadhan Sumarmin, S.Si., M.Si.	2. 
3. Anggota	: Siska Alicia Farma, S.Pd., M.Biomed.	3. 

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

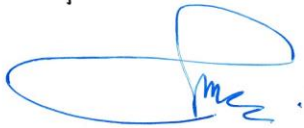
Nama : Nada Nafion
NIM/TM : 15032074/2015
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "Optimasi Fermentasi Untuk Produksi Senyawa Antimikroba oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (*Morus macroua* Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1" adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 08 Februari 2019

Diketahui oleh:
Sekretaris Jurusan Biologi



Dr. Syamsurizal, M. Biomed
NIP. 196709011992031003

Saya yang menyatakan,



Nada Nafion
NIM. 15032074

ABSTRAK

Nada Nafion, 2019. “Optimasi Fermentasi Untuk Produksi Senyawa Antimikroba oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1 ”

Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi suatu masalah serius dalam dunia kesehatan. Dibutuhkan senyawa antimikroba baru yang lebih efektif dalam mengobati penyakit infeksi. Isolat B.J.T.A.2.1 . merupakan bakteri endofit dari tanaman Andalas (*Morus macroura* Miq.) yang diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif antimikroba. Senyawa antimikroba diproduksi melalui proses fermentasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengoptimasi kondisi fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Kondisi fermentasi yang dioptimasi adalah waktu fermentasi, jenis medium, dan konsentrasi *starter*.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Penelitian dilaksanakan dari bulan Desember 2017 - Desember 2018 di Laboratorium Penelitian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Optimasi waktu fermentasi dilakukan selama 48 jam. Medium fermentasi yang digunakan adalah NB, MH, dan LB dengan variasi konsentrasi *starter* (0,1%, 1%, 2,5%, dan 5%). Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi kertas cakram.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu optimum bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa antimikroba adalah saat fermentasi jam ke-20. Medium fermentasi optimum dalam menghasilkan senyawa antimikroba adalah medium MH dengan konsentrasi *starter* 1%.

Kata kunci: bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1, optimasi, medium fermentasi, waktu fermentasi, konsentrasi *starter*

ABSTRAC

Nada Nafion, 2019. “*Fermentation Optimization for the Production of Antimicrobial Compounds by Andalas Plant Endophytic Bacteria (Morus macroura Miq.) Isolate B.J.T.A.2.1*”

Cases of bacterial resistance to antibiotics are a serious problem in the world of health. New antimicrobial compounds are needed which are more effective in treating infectious diseases. Isolate B.J.T.A.2.1. is an endophytic bacterium from Andalas (Morus macroura Miq.) which is known to be able to produce antimicrobial active compounds. Antimicrobial compounds are produced through a fermentation process. The purpose of this study was to optimize the condition of Andalas endophytic bacteria fermentation of B.J.T.A.2.1 isolates in producing antimicrobial compounds. The fermentation conditions optimized were fermentation time, type of medium, and starter concentration.

This research is a descriptive research. The study was conducted from December 2017 - December 2018 at the Research Laboratory of the Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University. Optimization of fermentation time was carried out for 48 hours. The fermentation medium used was NB, MH, and LB with variations in starter concentration (0.1%, 1%, 2.5%, and 5%). The antimicrobial activity test was carried out by paper disc diffusion method.

The results showed that the optimum time of Andalas endophytic bacteria isolates B.J.T.A.2.1 in producing antimicrobial compounds was during the 20th hour fermentation. The optimum fermentation medium in producing antimicrobial compounds is medium MH with a starter concentration of 1%.

Key Word: *Andalas endophytic bacteria isolate B.J.T.A.2.1, optimization, fermentation medium, fermentation time, starter concentration*

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “**Optimasi Fermentasi Untuk Produksi Senyawa Antimikroba oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalus (*Morus macroura* Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1**”. Shalawat beriring salam untuk arwah Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin, S.Si., M.Si. sebagai ketua prodi Biologi.
2. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed. sebagai pembimbing, yang telah memberikan waktu, fikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin, S.Si., M.Si., ibu Sisca Alicia Farma, S.Pd., M.Biomed. tim dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
4. Bapak/Ibu dosen staf jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kepada kedua orang tua tercinta, Ibunda Ardanis Meri dan Ayahanda Yaldi Nafion untuk doa dan dukungan yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis.
6. Keluarga yang senantiasa memberikan doa serta dukungan.
7. Semua teman-teman di grup penelitian Andalas terutama tim optimasi, terimakasih untuk semua bantuan dan dukungannya. Penulis bersyukur bisa berproses bersama kalian semua, yang telah mengajarkan banyak hal pada penulis.
8. Keluarga besar Biologi Sains 2015 yang selalu memberikan dukungan serta doanya.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skrikpsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 28 Januari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
SURAT PERNYATAAN	
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bakteri Endofit Andalas (<i>Morus macroura</i> Miq.) Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba	7
B. Metabolit Sekunder	11
C. Optimasi Fermentasi	14
D. Pertumbuhan Bakteri	17
E. Metode Perhitungan Jumlah Bakteri	20
F. Uji Aktivitas Antimikroba	21
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian	23
B. Waktu dan Tempat Penelitian	23
C. Alat dan Bahan	23
D. Prosedur Penelitian	24
1. Persiapan penelitian	24
2. Pelaksanaan Penelitian	26
E. Analisis Data	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	31
1. Optimasi Waktu Fermentasi	31
2. Optimasi Medium Fermentasi.....	32
3. Optimasi Konsentrasi <i>Starter</i> Fermentasi	33
B. Pembahasan	34
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	39
B. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri endofit dari berbagai jenis tanaman.....	14
2. Komposisi beberapa medium kompleks.....	16
3. Profil optimasi medium fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa antimikroba	33
4. Profil optimasi konsentrasi <i>starter</i> fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa antimikroba.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon Andalas.....	8
2. Kurva tumbuh bakteri.....	18
3. Pengukuran diameter zona hambat.....	30
4. Hubungan pertumbuhan dan kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel nilai <i>Optical Dencity</i> bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 selama optimasi waktu fermentasi	45
2. Tabel diameter zona hambat bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 terhadap <i>S. aureus</i> selama optimasi waktu fermentasi	46
3. Foto diameter zona hambat pada optimasi waktu fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1	47
4. Foto diameter zona hambat pada optimasi medium fermentasi endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1	48
5. Foto diameter zona hambat pada optimasi konsentrasi <i>starter</i> fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1	49

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi suatu masalah serius dalam dunia kesehatan. Penelitian Marhamah (2016) menemukan isolat bakteri *Staphylococcus* sp. yang resisten terhadap 17 jenis antibiotik. Laporan yang dikeluarkan oleh *World Health Organization* (WHO) (2014), melaporkan bahwa ditemukan *Staphylococcus* sp. yang resisten terhadap antibiotik *Meticilin* sekitar 63% pada tahun 2009, persentase ini meningkat menjadi 80% pada tahun 2013. Meningkatnya kasus resistensi bakteri menyebabkan infeksi menjadi salah satu dari 10 penyebab kematian terbesar di dunia. Laporan dari *Centers for Disease Control and Prevention* (Sengupta dan Chattopadhyay, 2012) menyebutkan bahwa 13.300 pasien meninggal akibat infeksi bakteri yang resisten antibiotik di dunia.

Kasus resistensi bakteri mendorong peneliti tertarik 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. Produksi senyawa aktif secara langsung dari tumbuhan membutuhkan biomassa sangat banyak, hal ini dikhawatirkan akan merusak sumber daya hayati yang tersedia. Disamping itu, proses produksi senyawa aktif dari tanaman juga membutuhkan waktu yang lebih lama (Simarmata *et al.*, 2007). Bakteri endofit dapat digunakan sebagai salah satu alternatif cara memperoleh senyawa aktif tanpa harus mengestrak dari tumbuhan secara langsung.

Bakteri endofit adalah bakteri yang seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya menempati jaringan tumbuhan hidup dan tidak menyebabkan infeksi pada tumbuhan (Sturz dan Nowak, 2000). Bakteri endofit dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tumbuhan inangnya dan bahkan dalam jumlah yang relatif tinggi (Radji, 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Afifah *et al.* (2018) telah berhasil mengisolasi bakteri endofit dari batang tumbuhan Andalus (*Morus macroua* Miq.). Tumbuhan Andalus dikenal mengandung senyawa antimikroba dan anti tumor (Syamsuardi *et al.*, 2005). Beberapa jenis senyawa fenol telah ditemukan pada tumbuhan Andalus, seperti *morasin B*, *morasin P*, *mulberosida C*, dan *mulberofuran* (Soekamto *et al.*, 2005).

Hasil penelitian Afifah (2018), berhasil mendapatkan 10 isolat yang mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba. Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing mikroba uji berbeda-beda, tergantung jenis isolat dan waktu pengamatan. Isolat B.J.T.A.2.1 merupakan salah satu isolat yang baik dalam menghasilkan senyawa antimikroba, khususnya terhadap bakteri gram positif. Zona hambat sudah terbentuk dengan baik pada pengamatan hari ke-1 dan semakin menurun pada hari ke-3.

Senyawa antimikroba dari isolat bakteri endofit dapat diproduksi dengan cara menumbuhkannya pada media fermentasi. Walker dan Gingold (1993), berpendapat bahwa fermentasi merupakan segala proses untuk menghasilkan suatu produk dari kultur mikroorganisme. Fermentasi merupakan suatu disimilasi senyawa-senyawa organik yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme. Pada proses ini, senyawa substrat yang digunakan sebagai sumber energi diubah

menjadi senyawa yang lebih sederhana (Smith, 1990).

Fermentasi dipengaruhi oleh banyak faktor, baik faktor internal (kecepatan pertumbuhan) maupun faktor eksternal. 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. Satu jenis media kompleks dapat cukup kaya untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis bakteri (Prescott, 2002). Saat ini banyak tersedia jenis medium kompleks. Masing masing medium kompleks memiliki fungsi dan kandungan nutrisi yang berbeda beda.

Untuk mendapatkan kondisi fermentasi yang optimal kultur *starter* merupakan hal juga yang perlu dipertimbangkan selain medium fermentasi. Konsentrasi inokulum memberikan efek nyata terhadap hasil fermentasi. Konsentrasi inokulum bervariasi untuk kultur *starter* atau fermentasi terkontrol. Hasil penelitian Mojsov (2010), menunjukkan bahwa konsentrasi inokulum 3% optimal untuk fermentasi terendam. Berdasarkan penelitian Hasan *et al.* (2009), diketahui hasil fermentasi maksimum diperoleh dengan inokulum 2%. Peningkatan lebih lanjut dalam konsentrasi inokulum menyebabkan penurunan hasil fermentasi.

Senyawa aktif antimikroba merupakan metabolit sekunder. Senyawa ini dihasilkan oleh bakteri sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan. Senyawa metabolit sekunder biasanya dihasilkan pada saat beberapa nutrisi dalam media pertumbuhan mikroorganisme telah habis sehingga menyebabkan terakumulasinya enzim metabolit sekunder (Pratiwi, 2008). Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi senyawa metabolit sekunder berupa antimikroba dari bakteri, diantaranya adalah *bacitracin*, *polymyxin*, *gramicidin*, *tyrocydine*, *subtilin*, *bacilysin* yang dihasilkan dari berbagai spesies dari kelompok *bacillus* (Hasan *et al.*, 2009). *Munumbicins* juga telah diisolasi dari mikroba endofit *Streptomyces* sp. strain NRRL 3052 dari tanaman obat *Kennedia nigriscans* yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus antharics* dan *Mycobacterium tuberculosis* yang multiresisten terhadap berbagai antibiotik (Castillo *et al.*, 2002).

Metabolit sekunder bakteri dihasilkan pada fase stasioner pertumbuhan. Pada fase ini mulai terjadi persaingan mendapatkan nutrisi sehingga mikroba akan mempertahankan diri untuk tetap hidup. Setiap bakteri memiliki periode waktu adaptasi serta fase stasioner yang berbeda sesuai dengan kondisi lingkungannya masing-masing. Hasil penelitian Wulandari dan Sulistyani (2016), diketahui isolat *Actinomyces* kode AL35 memiliki waktu optimum dalam memproduksi metabolit sekunder sebagai penghasil antibiotik pada hari ke-2. Sulistyani dan Narwanti (2015), berhasil mengisolasi bakteri penghasil antibiotik dari rizosfer tumbuhan padi dengan waktu fermentasi optimum yang lebih lama yaitu pada hari ke-11. Halim *et al.* (2014), menemukan waktu fermentasi yang optimal untuk bakteri endofit yaitu jam ke-120 jam. Perbedaan waktu pertumbuhan bakteri ini akan menyebabkan terjadinya perbedaan waktu optimum bakteri dalam menghasilkan senyawa aktif.

Berdasarkan uraian di atas maka belum diketahui kondisi optimum fermentasi isolat B.J.T.A.2.1, yang sudah diketahui kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian ini akan mengoptimasi kondisi fermentasi bakteri endofit isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Kondisi fermentasi yang dioptimasi dibatasi pada waktu, jenis medium, dan konsentrasi *starter* fermentasi.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana kurva pertumbuhan bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?
2. Kapan waktu fermentasi optimum bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa antimikroba?

3. Apa medium fermentasi terbaik untuk menghasilkan senyawa antimikroba oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?
4. Berapa konsentrasi *starter* fermentasi terbaik untuk menghasilkan senyawa antimikroba oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kurva pertumbuhan bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.
2. Untuk mengetahui waktu fermentasi optimum bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa antimikroba.
3. Untuk mengetahui medium fermentasi terbaik untuk menghasilkan senyawa antimikroba oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.
4. Untuk mengetahui konsentrasi *starter* fermentasi terbaik untuk menghasilkan senyawa antimikroba bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.

D. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi sebagai berikut:

1. Acuan dalam mengembangkan bakteri endofit sebagai kandidat penghasil senyawa antimikroba.
2. Dapat dijadikan sebagai informasi bagi dunia kesehatan untuk mengetahui penggunaan bakteri endofit untuk mengatasi masalah resistennya antibiotik.
3. Menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam bidang mikrobiologi.