

**OPTIMASI SUMBER NITROGEN ORGANIK DAN KARBON UNTUK
PRODUKSI SENYAWA ANTIBAKTERI 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:
MIFTAHUL FEBRINA
16032015/2016**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2020**

PERSETUJUAN SKRIPSI

OPTIMASI SUMBER NITROGEN ORGANIK DAN KARBON UNTUK PRODUKSI SENYAWA ANTIBAKTERI OLEH BAKTERI ENDOFIT TUMBUHAN ANDALAS (*Morus macroura* Miq.) ISOLAT B.J.T.A.2.1

Nama : Miftahul Febrina
NIM/TM : 16032015/2016
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 4 Februari 2020

Mengetahui:
Ketua Jurusan Biologi

Disetujui Oleh:
Pembimbing

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

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

Optimasi Sumber Nitrogen Organik dan Karbon untuk Produksi Senyawa Antibakteri oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (*Morus Macroura* Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1

Miftahul Febrina

ABSTRAK

Isolat B.J.T.A.2.1 merupakan bakteri endofit tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) yang diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif antibakteri, khususnya terhadap bakteri Gram positif. Senyawa antibakteri diproduksi melalui proses fermentasi. Fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu nya adalah komposisi medium. Medium kultur harus mengandung semua elemen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri, seperti karbon dan nitrogen. Tujuan penelitian ini adalah mengoptimasi jenis dan konsentrasi sumber nitrogen organik dan karbon untuk produksi senyawa antibakteri oleh bakteri endofit B.J.T.A.2.1.

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap faktorial (RAL Faktorial). Optimasi jenis nitrogen organik menggunakan *beef extract*, *yeast extract*, *pepton water*, dan *malt extract*. Konsentrasi yang digunakan 0,5%, 1%, 1,5% dan 2%. Optimasi sumber karbon menggunakan maltosa, laktosa, sukrosa, glukosa dan amilum, dengan konsentrasi 0,5% dan 2%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi kertas cakram.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sumber nitrogen organik yang terbaik untuk produksi senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas (*Morus macroura* Miq) isolat B.J.T.A.2.1 adalah *beef extract* dengan konsentrasi 0,5%. Sedangkan sumber karbon terbaik untuk memproduksi senyawa antibakteri adalah laktosa, sukrosa dan amilum, serta konsentrasi karbon tidak mempengaruhi aktivitas senyawa aktif yang dihasilkan. Tidak terdapat interaksi antara jenis dan konsentrasi sumber nitrogen organik dan karbon.

Kata Kunci: Bakteri Endofit Isolat B.J.T.A.2.1, Sumber Nitrogen Organik, Sumber Karbon, Antibakteri.

Optimization of Organic Nitrogen and Carbon Sources for the Production of Antibacterial Compounds by Andalas Plant Endophytic Bacteria (*Morus macroura* Miq.) Isolate B.J.T.A.2.1

Miftahul Febrina

ABSTRACT

Isolate B.J.T.A.2.1 is an endophytic bacterial plant of Andalas (*Morus macroura* Miq.) Which is known to be able to produce antibacterial active compounds, especially against Gram-positive bacteria. Antibacterial compounds are produced through the fermentation process. Fermentation is influenced by several factors, one of which is the composition of the medium. Culture medium must contain all the elements needed for bacterial growth, such as carbon and nitrogen. The purpose of this study is to optimize the types and concentrations of organic nitrogen and carbon sources for the production of antibacterial compounds by B.J.T.A.2.1 endophytic bacteria.

The design used in this research is a factorial completely randomized design (RAL Factorial). Optimization of organic nitrogen types using *beef extract*, *yeast extract*, *peptone water*, and *malt extract*. The concentrations used were 0.5%, 1%, 1.5% and 2%. Optimization of carbon sources using maltose, lactose, sucrose, glucose, and starch, with concentrations of 0.5% and 2%. Antibacterial activity test was carried out using the paper disc diffusion method.

The results showed that the best organic nitrogen source for the production of antibacterial compounds by Andalas endophytic bacteria (*Morus macroura* Miq) isolate B.J.T.A.2.1 was *beef extract* with a concentration of 0.5%. While the best carbon sources for producing antibacterial compounds are lactose, sucrose and starch, and the carbon concentration does not affect the activity of the active compounds produced. There is no interaction between type and concentration of organic nitrogen and carbon sources.

Keywords: Endophytic Bacteria Isolate B.J.T.A.2.1, Source of Organic Nitrogen, Carbon Source, Antibacterial.

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 Sumber Nitrogen Organik dan Karbon untuk Produksi Senyawa Antibakteri oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (*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. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed. Dosen pembimbing, yang telah memberikan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Drs. Mades Fifendy, M.Biomed dan bu Dezi Handayani, M.Si., Dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Moralitha Chatri, MP Dosen pembimbing akademik (PA) yang telah membimbing dan memberi masukan selama perkuliahan.
4. Pimpinan jurusan bapak/Ibu dosen jurusan biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kepada kedua orang tua tercinta, Ibunda Kamidas dan Ayahanda M.Nasir untuk doa dan dukungan yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis.
6. Kakak, abang dan adik yang senantiasa memberikan doa serta dukungan.
7. Semua teman-teman tim penelitian Andalas, terima kasih untuk semua bantuan dan dukungannya. Penulis bersyukur bisa berproses bersama kalian semua, yang telah mengajarkan banyak hal pada penulis.
8. Giska, Nining, dan Wulan terima kasih sudah menemani penulis dalam menjalani perkuliahan serta doa dan dukungan kepada penulis dalam proses penulisan skripsi.
9. Keluarga besar Biologi Sains 2016 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, Februari 2020

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. Hipotesis penelitian.....	6
E. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bakteri Endofit Andalas Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri	8
B. Optimasi Sumber Karbon.....	11
C. Optimasi Sumber Nitrogen	13
D. Uji Aktivitas Antibakteri.....	15
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	17
B. Waktu dan Tempat Penelitian	17
C. Rancangan Penelitian	17
D. Alat dan Bahan.....	18
E. Prosedur Penelitian	19
1. Persiapan penelitian	19
2. Pelaksanaan Penelitian	21
3. Pengamatan Penelitian	23
F. Analisis Data.....	24
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	25
B. Pembahasan.....	27
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	33
B. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halamar
1. Isolat Bakteri Endofit Andalas yang Berpotensi Menghasilkan Senyawa Antibakteri.....	11
2. Komposisi Sumber Nitrogen Organik.....	13
3. Perlakuan Sumber Nitrogen Organik Medium Fermentasi Bakteri Endofit Isolat B.J.T.A.2.1	18
4. Perlakuan Sumber Karbon Medium Fermentasi Bakteri Endofit Isolat B.J.T.A.2.1.....	18
5. Optimasi Sumber Nitrogen Organik Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (<i>Morus macroura</i> Miq) Isolat B.J.T.A.2.1 Untuk Produksi Senyawa Antibakteri.....	25
6. Optimasi Sumber Karbon Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (<i>Morus macroura</i> Miq) Isolat B.J.T.A.2.1 Untuk Produksi Senyawa Antibakteri.....	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Pohon Andalas.....	9
2.	Pengukuran Diameter Zona Hambat.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Medium Fermentasi Optimasi Sumber Nitrogen Organik.....	40
2. Tabel Diameter Zona Hambat pada Optimasi Sumber Nitrogen Organik Bakteri Endofit Andalas Isolat B.J.T.A.2.1.....	42
3. Foto Diameter Zona Hambat pada Optimasi Sumber Nitrogen Organik Bakteri Endofit Andalas Isolat B.J.T.A.2.1.....	44
4. Analisis Data Statistik Optimasi Nitrogen Organik.....	45
5. Medium Fermentasi Optimasi Sumber Karbon.....	50
6. Tabel Diameter Zona Hambat pada Optimasi Sumber Karbon Bakteri Endofit Andalas Isolat B.J.T.A.2.1.....	51
7. Foto Diameter Zona Hambat pada Optimasi Sumber Karbon Bakteri Endofit Andalas Isolat B.J.T.A.2.1.....	52
8. Analisis Data Statistik Optimasi Sumber Karbon.....	53

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Sejak ditemukannya penisilin pertama kali pada tahun 1940, masalah infeksi oleh bakteri Gram positif masih menjadi masalah serius dalam dunia kedokteran. Bakteri Gram positif diketahui sebagai penyebab beberapa infeksi penting pada manusia, diantaranya adalah infeksi pada saluran kemih, saluran pencernaan, pneumonia, osteomyelitis, endocarditis dan lain-lain (Kulkarni, *et al.*, 2019).

Infeksi oleh bakteri Gram positif semakin menjadi masalah serius, karena meningkatnya kasus resistensi terhadap antibiotik. Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) (2014), ditemukan peningkatan kasus resistensi bakteri *Staphylococcus* sp. terhadap antibiotik metisilin, yaitu dari jumlah kasus 63% pada tahun 2009 menjadi 80% pada tahun 2013. Menurut Kulkarni, *et al.*, (2019), kasus resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap metisilin (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus* /MRSA) di India meningkat menjadi 47% pada tahun 2014. Kasus MRSA juga menjadi pemicu meningkatnya prevalensi resistensi bakteri *Enterococcus* terhadap vancomisin (*vancomycin-resistant enterococci*/VRE). Meningkatnya kasus resistensi bakteri menyebabkan infeksi menjadi salah satu dari 10 penyebab kematian terbesar di dunia.

Meningkatnya kasus resistensi, mendorong para ilmuwan untuk menyelidiki dan menemukan sumber zat baru yang memiliki kemampuan antibakteri yang lebih baik. Salah satu sumber antibakteri baru yang dapat dikembangkan adalah dari bakteri endofit Andalas (*Morus macroura* Miq). Menurut Soekamto *et al.*, (2005), Andalas memiliki beberapa senyawa alkaloida, saponin dan polifenol.

Disamping itu, Andalas juga mengandung fenol seperti *lunularin*, *oksiresveratrol*, *morasin* M, *umbeliferon* dan *B-resolsiladehid*. Senyawa-senyawa ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Menurut Sturz and Nowak., (2000) dan Radji, (2005), bakteri endofit mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tumbuhan inangnya, bahkan dalam jumlah yang relatif tinggi.

Penelitian yang dilakukan oleh Afifah *et al.*, (2018) berhasil mengisolasi bakteri endofit dari batang tumbuhan Andalas. Ada 11 isolat yang mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba, dimana isolat B.J.T.A.2.1 merupakan salah satu isolat yang baik dalam menghasilkan senyawa antibakteri, khususnya terhadap bakteri Gram positif.

Produksi senyawa antibakteri oleh bakteri endofit dilakukan melalui fermentasi. Menurut Smith (1990), fermentasi merupakan suatu disimilasi senyawa-senyawa organik yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme. Pada proses ini, substrat yang digunakan sebagai sumber energi diubah menjadi senyawa yang lebih sederhana.

Fermentasi dipengaruhi oleh aktor internal dan eksternal. Faktor internal yang mempengaruhi proses fermentasi adalah jenis bakteri. Perbedaan jenis bakteri akan mempengaruhi jalur metabolisme dan jenis senyawa aktif yang dihasilkan. Sedangkan faktor eksternal yang mempengaruhi fermentasi terdiri dari suhu, pH, konsentrasi starter, waktu fermentasi dan komposisi medium (Hidayati *et al.*, 2017).

Medium merupakan salah satu faktor penting pada proses fermentasi. Variasi komposisi medium secara signifikan dapat mempengaruhi hasil

fermentasi. Medium adalah nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Setiap bakteri memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda-beda. Medium kultur harus mengandung semua elemen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba. Secara umum kebutuhan bakteri akan nutrisi dapat dibedakan atas makronutrien dan mikronutrien. Dua komponen penting pada makronutrien adalah sumber Karbon (C) dan Nitrogen (N) (Hidayat, 2006).

Nitrogen berfungsi untuk pertumbuhan sel dan sintesa enzim untuk proses metabolisme bakteri. Terdapat dua jenis sumber nitrogen yang dapat ditambahkan pada medium fermentasi, yaitu sumber nitrogen anorganik dan organik. Sumber nitrogen anorganik yang biasa digunakan dalam fermentasi adalah KNO_3 , NH_4Cl , NaNO_3 dan $(\text{NH})_4\text{SO}_4$. Kelebihan menggunakan sumber nitrogen anorganik adalah dapat diketahui dengan jelas unsur-unsur yang berperan penting dalam proses fermentasi. Namun kelemahan sumber nitrogen ini adalah beberapa jenis bakteri membutuhkan faktor pertumbuhan yang tidak tersedia dalam bentuk anorganik. Untuk mengatasi kendala ini, maka beberapa peneliti menggunakan sumber nitrogen dalam bentuk organik. Penggunaan sumber nitrogen yang optimal tergantung dari jenis bakteri yang digunakan, karena setiap bakteri memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda-beda (Hidayat, 2006., Hidayati *et al.*, 2017 dan Smith, 1990).

Berdasarkan penelitian Monika dan Eva., (2017), semakin tinggi kadar sumber nitrogen dalam medium, maka pertumbuhan bakteri juga semakin tinggi. Selain itu, optimasi terhadap sumber nitrogen yang dilakukan oleh Talluri and Lanka., (2017), menunjukkan bahwa medium fermentasi yang mengandung 0,5%

trypton dan 2% *beef extract* memberikan hasil yang baik untuk produksi senyawa antimikroba oleh *Lactobacillus Fermentum* (MTCCNo.1745). Selanjutnya, penelitian Nand (2016), menunjukkan bahwa hasil terbaik dalam memproduksi amylase oleh *Bacillus licheniformis* JAR-26 jika menggunakan sumber nitrogen berupa *malt extract* 1,5%.

Medium fermentasi juga mengandung sumber karbon. Sumber karbon dapat menentukan kualitas dan kuantitas produk yang terbentuk. Karbon merupakan unsur yang paling penting bagi mikroorganisme, dimana, sekitar 50% berat kering mikroba mengandung unsur karbon. Selain itu, karbon sangat dibutuhkan untuk meningkatkan energi yang dibutuhkan dalam proses biosintesis (Smith, 1990). Masing-masing bakteri dapat bereaksi berbeda terhadap sumber dan konsentrasi karbon yang digunakan dalam fermentasi. Menurut penelitian Das *et al.* (2016), isolat AM7 menghasilkan antimikroba tertinggi ketika medium fermentasi mengandung sukrosa 2% dibandingkan jenis karbohidrat lainnya. Selanjutnya, penelitian Nand, (2017), menunjukkan bahwa sumber karbon maltosa dengan konsentrasi 2% adalah sumber karbon terbaik dalam memproduksi amylase oleh *Bacillus licheniformis* JAR-26. Peneliti-peneliti lain menemukan bahwa konsentrasi sumber karbon 1,5% lebih baik dalam menghasilkan produk fermentasi. Penelitian Rozana dkk., (2013), menunjukkan produksi protease oleh *Bacillus* sp terbaik pada medium fermentasi yang mengandung amilum 1,5%. Konsentrasi terbaik sumber karbon 1,5% juga diungkapkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan (2017), dimana produksi protease termostabil terbaik ketika medium mengandung maltosa 1,5%.

Berdasarkan uraian di atas, belum diketahui kondisi medium optimum untuk memproduksi senyawa antibakteri oleh bakteri endofit tumbuhan Andalas isolat B.J.T.A.2. Penelitian ini akan mengoptimasi sumber nitrogen organik dan karbon untuk produksi senyawa antibakteri oleh bakteri endofit tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) isolat B.J.T.A.2.1.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah

1. Apa sumber nitrogen organik terbaik untuk menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?
2. Berapa konsentrasi sumber nitrogen organik terbaik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?
3. Apakah ada interaksi antara sumber dan konsentrasi nitrogen organik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?
4. Apa sumber karbon terbaik untuk menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?
5. Berapa konsentrasi sumber karbon yang terbaik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?
6. Apakah ada interaksi antara sumber dan konsentrasi karbon dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui sumber nitrogen organik terbaik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.
2. Untuk mengetahui konsentrasi sumber nitrogen organik terbaik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.
3. Untuk mengetahui interaksi antara sumber dan konsentrasi nitrogen organik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.
4. Untuk mengetahui sumber karbon terbaik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.
5. Untuk mengetahui konsentrasi karbon yang terbaik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.
6. Untuk mengetahui interaksi antara sumber dan konsentrasi karbon dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1.

D. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh sumber nitrogen organik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1
2. Terdapat pengaruh konsentrasi sumber nitrogen organik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1

3. Terdapat interaksi antara sumber dan konsentrasi nitrogen organik dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1
4. Terdapat pengaruh sumber karbon dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1
5. Terdapat pengaruh konsentrasi sumber karbon dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1
6. Terdapat interaksi antara sumber dan konsentrasi karbon dalam menghasilkan senyawa antibakteri oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1

E. Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menambah ilmu dalam bidang mikrobiologi dan pemanfaatan tumbuhan untuk obat.
2. Dapat dijadikan informasi bagi pembaca, khususnya pada bidang kesehatan untuk mengetahui penggunaan bakteri endofit sebagai solusi mengatasi masalah resistensi antibiotik.
3. Acuan dalam mengembangkan bakteri endofit sebagai penghasil senyawa antibakteri.