

OPTIMALISASI PRODUKSI SENYAWA ANTIBAKTERI ISOLAT *PENICILLIUM* sp DARI FUNGI ENDOFIT *Ulva reticulata* Forsskal

Nielma Auliah, Sartini, Safaruddin, Suparlan
Program Studi S1 Farmasi STIKES Mega Rezky
email : nielma_23@yahoo.co.id

ABSTRAK

Ada 4 jenis fungi endofit yang telah di isolasi dari tanaman *Ulva reticulata* Forskall yang bersifat antimikroba, yaitu FSUr-1 (*Aspergillus* sp.), FSUr-2 (*Penicillium* sp.), FSUr-3 (*Cladosporium* sp.), dan FSUr-4 (khamir, yeast). Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan produksi senyawa antibakteri isolat *Penicillium* sp. Penelitian ini menggunakan metode submerged fermentation. Optimalisasi yang dilakukan menggunakan parameter waktu fermentasi dan media fermentasi yang mencakup NaCl, ekstrak yeast, dan induser. Data aktivitas antibakteri dianalisis menggunakan metode kuantitatif deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi optimal adalah 9 hari. Berdasarkan waktu fermentasi optimal, di peroleh medium fermentasi optimal yaitu NaCl 1% dengan zona hambatan sebesar 19,45 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan 9,45 mm terhadap *Escherichia coli*, ekstrak yeast 1% dengan zona hambatan sebesar 20,45 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan 8,10 mm terhadap *Escherichia coli*, dan penambahan induser (infus *Ulva reticulata* Forskall) 2% v/v dengan zona hambatan sebesar 16,10 *Staphylococcus aureus* mm terhadap dan 19,45 mm terhadap *Escherichia coli*.

Kata kunci : Optimalisasi produksi senyawa antibakteri, *Penicillium* sp, *Ulva reticulata* Forskall

PENDAHULUAN

Indonesia terkenal sebagai negara yang kaya akan bahan hayati laut. Di Indonesia ada 56 jenis alga yang ditemukan berpotensi, yaitu terdiri atas 16 alga hijau, 9 alga coklat, dan 31 alga merah (Khurniasari, 2004). Alga merupakan sumber yang kaya akan produk alami bioaktif dan telah diteliti sebagai bahan biosidal dan farmasi. Dalam beberapa tahun terakhir, ada banyak laporan penelitian dari senyawa turunan makroalga yang memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antibakteri (Karthikaidevi et al, 2009; Yung et al, 2011; Kolanjinathan, 2011; Jeyanthi et al, 2012;), antijamur (Kolanjinathan, 2011); dan antioksidan (Tamat dkk, 2007). Selain dari tanamannya, ternyata mikroba yang hidup bersimbiosis dengan alga juga memiliki aktivitas sebagai antimikroba, salah satu contoh penelitian yang dilakukan oleh Suryadi (2011) mengenai Skrining Fungi Symbion dari Alga Hijau *Ulva reticulata* sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba.

Hasil penelitian Suryadi (2011) mengenai fungi endofit yang bersifat antimikroba dari tanaman *Ulva reticulata*, diperoleh 4 jenis isolat fungi, yaitu FSUr-1 (*Aspergillus* sp.), FSUr-2 (*Penicillium* sp.), FSUr-3 (*Cladosporium* sp.), dan FSUr-4 (khamir, yeast). Dari ke empat jenis isolat ini, isolat FSUr-2 (*Penicillium* sp.) memiliki aktivitas antimikroba yang sangat tinggi terhadap mikroba uji. Sedangkan berdasarkan penelitian didapatkan bahwa *Penicillium* sp. memiliki beberapa manfaat seperti penelitian yang dilakukan oleh Leitao, A.L (2009) bahwa *Penicillium* sp. memiliki kemampuan untuk mendegradasi komponen xenobiotik dan

transformasi polutan, dan juga terkhusus pada *Penicillium notatum* dan *Penicillium chrysogenum* yang memproduksi penicillin, sedangkan *Penicillium camneberti* dan *Penicillium reguefort*, dimanfaatkan untuk meningkatkan kualitas keju. Berdasarkan hal tersebut, untuk mendapatkan produksi yang optimal perlu dilakukan penelitian mengenai optimalisasi produksi senyawa antibakteri dari isolat *Penicillium* sp dari fungi endofit *Ulva reticulata* Forskall dengan menggunakan metode submerged fermentation. Optimalisasi produksi mencakup variasi media fermentasi, yaitu NaCl, ekstrak yeast, dan induser.

METODELOGI PENELITIAN

A. Lokasi dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Mega Rezky dan Laboratorium Biofarmaka Pusat Kegiatan Penelitian Universitas Hasanuddin. Desain penelitian ini adalah studi eksperimental.

B. Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat terpilih *Penicillium* sp, NaCl, ekstrak yeast, tanaman *Ulva reticulata* Forskall.

C. Optimalisasi Produksi

Isolat fungi endofit terpilih yaitu *Penicillium* sp yang memperlihatkan aktivitas yang baik terhadap fungsi uji, dilanjutkan pada tahap produksi dengan memodifikasi media fermentasinya.

Tahap-tahapnya sebagai berikut:

Isolat fungi *Penicillium sp* diinokulasi ke dalam media PDA agar miring dan di inkubasi pada suhu kamar selama 3-5 hari. Isolat fungi dari media agar miring disuspensikan sebanyak 1 ose ke dalam 50 ml media starter dan di inkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Kultur starter sebanyak 10% v/v diinokulasi ke dalam media produksi lalu di inkubasi pada suhu kamar dengan variasi waktu 3, 5, 7, 9, dan 11 hari.

Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri, terlebih dahulu dilakukan proses sonikasi dan dilanjutkan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan dari residu. Setelah itu dilakukan pemekatan dengan proses ionifikasi. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Pengaruh Konsentrasi NaCl Terhadap Produksi Senyawa Antibakteri

Kultur starter sebanyak 10% v/v diinokulasi ke dalam media produksi dengan penambahan NaCl konsentrasi 0 %, 0,5%, 1%, dan 2% lalu di inkubasi pada suhu kamar selama 9 hari.

Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Yeast Terhadap Produksi Senyawa Antibakteri

Kultur starter sebanyak 10% v/v diinokulasi ke dalam media produksi dengan penambahan ekstrak yeast dengan konsentrasi 0

%, 0,5%, 1%, dan 2% lalu di inkubasi pada suhu kamar selama 9 hari.

Pengaruh Konsentrasi Induser (*Infus Ulva reticulata*) Terhadap Produksi Senyawa Antibakteri

Kultur starter sebanyak 10% v/v diinokulasi ke dalam media produksi dengan penambahan inducer konsentrasi 0 %, 0,5%, 1%, dan 2% lalu di inkubasi pada suhu kamar selama 9 hari.

D. Analisis Data

Data yang diperoleh mencakup data aktivitas dan potensi antimikroba isolat murni dianalisis menggunakan metode kuantitatif-deskriptif dengan mengukur luas hambatan atau zona hambat isolat terhadap bakteri uji.

HASIL PENELITIAN

A. Penentuan Waktu Fermentasi Produksi Senyawa Antibakteri

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi optimal untuk pertumbuhan *Penicillium sp* yang paling baik adalah pada hari ke-9. Hal ini dapat dilihat dari hasil pengujian zona hambat terhadap bakteri uji. Dari hasil tersebut, maka pengujian untuk melihat pengaruh media fermentasi terhadap produksi senyawa antibakteri digunakan lama fermentasi selama 9 hari.

Tabel 1. Pengaruh lama fermentasi terhadap produksi senyawa antibakteri dari isolat fungi *Penicillium sp.* terhadap bakteri uji

Diameter zona hambatan isolat fungi <i>Penicillium sp</i> terhadap bakteri uji		
Waktu fermentasi (hari)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
3	-	-
5	-	11,53
7	17,75	14,43
9	20,1	18,52
11	13,98	13,55

B. Efek NaCl terhadap produksi senyawa antibakteri dari isolat fungi *Penicillium sp.*

Pada penelitian ini digunakan konsentrasi 0 %, 0,5 %, 1 %, dan 2 % dalam media PDB yang mengandung ekstrak yeast 0,5 %. Suhu fermentasi 25°C (suhu kamar) selama 9 hari. Konsentrasi NaCl 1 % memberikan daya hambat terbesar dan hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang juga menggunakan konsentrasi NaCl 1% dalam media produksinya. Oleh karena itu, untuk pengujian selanjutnya digunakan konsentrasi NaCl yang optimal yaitu 1%.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap produksi senyawa anti-bakteri dari isolat fungi *Penicillium sp.* terhadap bakteri uji

Diameter zona hambatan isolat fungi <i>Penicillium sp</i> terhadap bakteri uji		
NaCl (%)	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
0	18,45	10,75
0,5	18,05	8,05
1	19,45	9,45
2	17,45	9,45

C. Efek ekstrak yeast terhadap produksi senyawa antibakteri dari hasil fermentasi isolat fungi *Penicillium sp.*

Pada penelitian ini digunakan sumber N dari ekstrak yeast pada konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, dan 2%. Dengan media produksi yaitu NaCl 1% dalam media PDB. Suhu fermentasi 25°C (suhu kamar) selama 9 hari. Konsentrasi ekstrak yeast 1% memberikan daya hambat terbesar. Oleh karena itu, untuk pengujian selanjutnya digunakan konsentrasi ekstrak yeast yang optimal yaitu 1%.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi ekstrak yeast terhadap produksi senyawa antibakteri dari isolat fungi *Penicillium sp.* terhadap bakteri uji

Diameter zona hambatan isolat fungi <i>Penicillium sp</i> terhadap bakteri uji		
Ekstrak yeast (%)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
0	17,45	8,05
0,5	20,05	8,00
1	20,45	8,10
2	13,10	8,00

D. Efek penambahan inducer terhadap produksi senyawa antibakteri dari hasil fermentasi isolat fungi *Penicillium sp*

Pada penelitian ditambahkan inducer ke dalam medium fermentasi optimal untuk melihat efek terhadap produksi senyawa antibakteri isolat *Penicillium sp.* Konsentrasi yang digunakan adalah 0%, 0,5%, 1%, 2% (v/v) dengan suhu fermentasi 25°C (suhu kamar) selama 9 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan inducer (infus *Ulva reticulata*) sangat berpengaruh terhadap produksi senyawa antibakteri isolat *Penicillium sp.*

Tabel 4. Pengaruh penambahan inducer terhadap produksi senyawa anti-bakteri dari isolat fungi *Penicillium sp.* terhadap bakteri uji

Diameter zona hambatan isolat fungi <i>Penicillium sp</i> terhadap bakteri uji		
Induser (v/v)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
0	11,05	13,45
0,5	13,05	18,45
1	13,05	17,75
2	16,1	19,45

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa media fermentasi optimal dari isolat *Penicillium sp* dari fungi endofit *Ulva reticulata* Forskall adalah NaCl 1%, ekstrak yeast 1%, dan penambahan inducer 2% v/v dengan suhu fermentasi 25°C (suhu kamar) dengan lama inkubasi 9 hari. Metode fermentasi

yang digunakan adalah submerged fermentation (Hamzah, H.M dkk. 2009)

Hasil pengujian untuk waktu fermentasi dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya (Suryadi, 2010) menunjukkan bahwa waktu fermentasi 7 hari memberikan daya hambat sebesar 19,05 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan 15,18 mm untuk *Escherichia coli*. Oleh karena itu, pemilihan lama fermentasi diambil sebelum dan sesudah sedah hari ke-7, yaitu 3, 5, 7, 9, dan 11. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari hari ke 3 sampai hari ke 9 menunjukkan peningkatan zona hambat terhadap bakteri uji, sedangkan pada hari ke 11, mengalami penurunan. Pada hari ke-3 tidak memberikan daya hambat terhadap kedua bakteri uji, sedangkan pada hari ke-5 hanya bakteri *E. coli* yang memberikan daya hambat sebesar 11,53. Untuk hari ke 7 dan 9, memberikan daya hambat yang tinggi, sedangkan pada hari ke-11 mengalami penurunan daya hambat. Hal ini sesuai dengan fase pertumbuhan mikroba, dimana pada hari ke 9 merupakan fase log, dimana mikroba tumbuh dan membelah dengan kecepatan maksimum, sedangkan pada hari ke 11 merupakan fase kematian dimana banyak sel yang mati diakibatkan karena ketidakterersediaan nutrisi (Purwanto, 2011; Pratiwi, 2008).

Hasil penelitian terhadap efek penambahan NaCl dengan variasi konsentrasi yaitu 0%, 0,5%, 1%, dan 2%, menunjukkan bahwa semua konsentrasi memberikan daya hambat terhadap bakteri uji, tak terkecuali pada media produksi yang tidak mengandung NaCl. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa adanya NaCl, isolat fungi memiliki aktivitas antibakteri. Pada konsentrasi 0,5% zona hambat terbesar terlihat pada *S. aureus* sebesar 18,05 dan pada *Escherichia coli* hanya 8,05. Sedangkan pada konsentrasi 1% menunjukkan daya hambat sebesar 19,45 terhadap *S. aureus* dan 9,45 terhadap *E.coli* dan merupakan aktivitas antibakteri yang terbesar. Konsentrasi 2% terjadi penurunan aktivitas sebesar 17,45 terhadap *S. aureus* dan 9,45 terhadap *E.coli*.

Produksi suatu senyawa antibakteri dari fungi endofit sangat dipengaruhi oleh komposisi media fermentasi, seperti sumber C (karbon), sumber N (nitrogen), dan mineral (Sartini, 2011). Fungi untuk pertumbuhannya membutuhkan sumber N untuk pembentukan asam amino, asam nukleat dan protein, tetapi konsentrasi yang dibutuhkan tidak sebanyak pada bakteri (Ul-Haq, dkk. 2008). Pada penelitian ini digunakan sumber N dari ekstrak yeast pada konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, dan 2%. Hasil penelitian terhadap efek penambahan ekstrak yeast dengan variasi konsentrasi yaitu 0%, 0,5%, 1%, dan 2%, menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memberikan daya hambat terhadap bakteri uji, tidak terkecuali pada media yang tidak

mengandung ekstrak yeast. Pada konsentrasi 0,5% dan 1%, daya hambat yang diberikan baik pada *S. aureus* maupun *E.coli* menunjukkan hasil yang hampir sama. Sehingga konsentrasi 1% diambil sebagai konsentrasi yang optimal. Pada konsentrasi 2%, terlihat penurunan daya hambat terhadap bakteri uji.

Hasil penelitian terhadap efek penambahan induser (*Infus Ulva reticulata* Forskall) dengan variasi konsentrasi yaitu 0 %, 0,5%, 1%, dan 2% (v/v), menunjukkan bahwa penambahan induser (*infus Ulva reticulata*) sangat berpengaruh terhadap produksi senyawa antibakteri isolat *Penicillium* sp. Hal ini terlihat pada aktivitas daya hambat terhadap bakteri uji dari konsentrasi rendah sampai yang tinggi mengalami peningkatan. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi induser maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya (Wang, et al., 2008)

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian diatas, dapat disimpulkan bahwa media fermentasi yang memberikan aktivitas antibakteri terbesar adalah NaCl 1%, ekstrak yeast 1%, dan induser 2% v/v dengan waktu fermentasi selama 9 hari dan suhu fermentasi 25°C. Adapun saran dari penelitian ini adalah dilakukan penelitian mengenai isolasi senyawa aktif yang bersifat antibakteri dari isolat fungi *Penicillium* sp.

DAFTAR PUSTAKA

Hamzah, H.M., Ali, A.H.L., dan Hassan, H.G. dkk (2009). Physiological Regulation of Protease and Antibiotics in *Penicillium* sp, Using Submerged and Solid State Fermentation Techniques. *Journal of Engineering Science and Technology* Vol. 4, No. 1. Pp. 81-89

Karthikaidevi G, Manivannan K, Thirumaran G, Anantharaman P, dan Balasubramanian T. (2009). Antibacterial properties of selected green seaweeds from Vedalai Coastal Waters; Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve. *Global Journal of Pharmacology* 3. pp. 107-112

Khurniasari DW. (2004). Potensi Antikanker Senyawa Bioaktif Ekstrak Kloroform dan Metanol Makroalgae *Sargassum duplicatum* J. Agardh. Skripsi. Fakultas biologi Universitas Gadjah Mada Jogjakarta. Jogjakarta.

Kolanjinathan, K dan Stella, D. (2011). Comparative studies on antimicrobial activity of *Ulva reticulata* and *Ulva lactuca* Against Human Pathogens. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*. 2(6). pp.1738-1744

Leitao AL. (2009). Potensial of *Penicillium* species in The Bioremediation Field. *International Journal*

of Environmental Research and Public Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 9 April 2009. 6. pp. 1393-1417. Available from : www.mdpi.com/journal/ijerph

Pratiwi, S.T., (2008), *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta

Purwanto. (2011). Isolasi dan identifikasi Senyawa penghambat polimerisasi Hem Dari fungi endofit tanaman *Artemisia annua* l. Tesis. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Yogyakarta.

Sartini. (2011). Produksi dan Karakteristik Biokimia Enzim Polifenol Oksidase dari Isolat Terpilih Fungi Endofit Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar.

Suryadi. (2012). Skrining Fungi Simbion Dari Alga Hijau *Ulva Reticulata* Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar.

Tan, R.X. and Zou, W.X., (2001), Endophytes : a rich source of functional metabolites, *Natural Product Reports*, 18, 448-459.

Tamat, S.R., Wiranta, T., Maulina, L.S. (2007). Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput laut Hijau *Ulva Reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. pp 31-36

UI-Haq, Ikram., Mukhtar, H., Umer, H. (2008). Fermentation Mediaum Optimization for the Biosynthesis of Protease by *Penicillium chrysogenum* in Shake Flasks. *Pakistan J. Zool.*, Vol. 40(2), pp. 69-73.

Wang, Y., Lo, H., and Wang, P., (2008), Endophytic fungi from *Taxus mairei* in Taiwan : first report of *Colletotrichum gloeosporioides* as an endophyte of *Taxus mairei*, *Botanical Studies*, 49, 39-43.

Yung,P.Y., Burke,C., Lewis, M., Kjelleberg, S., and Thomas, T. 2011. Novel Antibacterial Proteins from the Microbial Communities Associated with The Sponge *Cymbastela Concentric* and The Green Alga *Ulva Australis*. *App Ann Microbiol*. pp 1512-1515

