

Production of Antibiotics from Endophyte Fungi Isolates of Bidara Plants (*Ziziphus mauritina* L.) Isolates Codes IFAZ-6, IFBZ-6, IFDZ-8 With Variations in Carbon Sources

Fitriana^{1*}, Ayyub Harly Nurung¹, Afdina Putri Adnan¹

¹Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info Received: 29/03/2024 Available online: 04/11/2024	ABSTRACT <i>Research has been carried out on antibiotic production from endophytic fungal isolates coded IFAZ-6, IFBZ-6, and IFDZ-8 from bidara plants (<i>Ziziphus mauritina</i> L.) with variations in carbon sources. This research aims to determine antibiotic production with variations in carbon sources. The first stage was the purification of each selected endophytic fungal isolate. The endophytic fungal isolate was inoculated into the fermentation medium using a variety of carbon sources, namely glucose, fructose, and galactose for 21 days. The antibiotic activity was carried out using the agar diffusion method against <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, and <i>Escherichia coli</i> bacteria. The results obtained showed that the glucose carbon source was better in producing antibiotic compounds than the galactose carbon source in endophytic fungal isolates coded IFAZ-6, the glucose carbon source was better in producing antibiotic compounds than the fructose and galactose sources in endophytic fungal isolates coded IFBZ-6, and the fructose carbon source is better at producing antibiotic compounds than the galactose source in endophytic fungal isolates coded IFDZ-8.</i>
Corresponding Author: Fitriana Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, Indonesia email: fitriana.fitriana@umi.ac.id	
Keyword:	<i>antibiotic production, bidara (<i>Ziziphus mauritina</i> L.), carbon source, endophytic fungi</i>



Copyright ©2024 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan suatu pengobatan yang diberikan terhadap pasien yang terinfeksi bakteri. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak digunakan secara rasional dapat menyebabkan timbulnya masalah resistensi^{1,2}. Peningkatan kasus resistensi antimikroba, memicu pencarian senyawa antimikroba yang memiliki aktivitas antibiotik menghambat bahkan membunuh pertumbuhan bakteri patogen. Tumbuhan merupakan salah satu sumber

mikroorganisme penghasil senyawa antibiotik³. Setiap tanaman dapat mengandung satu atau lebih mikroorganisme salah satunya berupa mikroba endofit yang terdiri dari fungi atau bakteri⁴⁻⁶. Fungi endofit merupakan fungi yang hidup didalam jaringan tanaman inangnya dan mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder⁷.

Mikroba endofit salah satunya fungi endofit dapat digunakan sebagai bahan obat yang tidak memerlukan tanaman dalam

jumlah yang banyak sebagai bahan baku sehingga tidak merusak habitat dari tanaman itu sendiri⁸. Kemampuan mikroba endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif merupakan suatu hal potensial dalam pengembangan obat herbal. Mikroorganisme memerlukan suatu media sebagai tempat tumbuh. Komposisi media fermentasi dapat mempengaruhi mikroorganisme untuk menghasilkan metabolit sekunder.⁹ Karbon merupakan salah satu komponen penting dalam media sebagai sumber energi untuk pertumbuhan fungi endofit¹⁰. Salah satu tanaman yang mampu menghasilkan fungi endofit yang dapat dimanfaatkan sebagai antibiotic adalah bidara (*Ziziphus mauritina* L.) Menurut penelitian dari Khusnul Annisa (2023) yang mengisolasi tanaman bidara diperoleh 10 isolat pada akar, 20 isolat pada batang, dan 14 isolat pada daun. Dan didapatkan 3 isolat yang berpotensi sebagai antibiotik berdasarkan uji skrining terhadap *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, & *Propionibacterium acnes*

Berdasarkan uraian tersebut maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan sumber karbon yang paling baik dalam memproduksi antibiotik yang dihasilkan oleh isolat kode IFAZ-6, IFBZ-6, IFDZ-8 dengan penambahan sumber karbon

sebagai nutrisi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan isolat tersebut sehingga meningkatkan hasil senyawa metabolit berupa senyawa antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Alat yang digunakan pada Penelitian ini adalah autoclave (SMIC Model YX-280 B), cawan petri (Normax), *disc blank*, inkubator (Memmert), jangka sorong, *Laminar Air Flow* (LAF), oven (Memmert), Spektrofotometer, Kuvet, shaker

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* L.), aquadest, etanol 70%, larutan NaCl 0,9%, Antimicrobial susceptibility test disc, bakteri uji *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, Fruktosa, Galaktosa, Glukosa, kertas saring, kloramfenikol, medium Nutrient Agar (NA), medium Potato Dextrosa Agar (PDA), medium Potato Dextrose Broth (PDB), medium Muller Hinton Agar (MHA), pepton, strach, ekstrak yeast.

Pemurnian

Pemurnian dilakukan dengan cara pemindahan isolat fungi endofit kode IFAZ-6, IFBZ-6, IFDZ-8 ke media Potato Dextrose Agar (PDA) yang baru, kemudian diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu kamar. Pemurnian dilakukan sampai diperoleh isolat fungi murni yang tunggal¹¹.

Penyiapan bakteri uji

Pembuatan stok dan peremajaan bakteri uji dilakukan dengan mengambil 1 ose biakan bakteri murni kemudian digoreskan di atas permukaan medium NA (Nutrien Agar) miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam¹².

Bakteri uji hasil peremajaan disuspensikan menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,9% kemudian diukur kekeruhannya dengan menggunakan

spektrofotometer hingga diperoleh nilai tingkat kekeruhan 25% T pada panjang gelombang 580 nm yang akan digunakan dalam uji antibakteri¹².

Pembuatan kultur starter

Isolat fungi endofit kode IFAZ-6, IFBZ-6, IFDZ-8 yang telah diremajakan, diinokulasikan ke dalam 10 mL media cair Potato Dextrose Broth (PDB) dan dihomogenkan kemudian di inkubasi selama 3-5 hari pada suhu 25-28°C.

Tabel 1. Penentuan kondisi optimum fermentasi

Komponen	Jumlah g/mL		
	M1	M2	M3
Starch	1,5	1,5	1,5
Glukosa	1,0	-	-
Fruktosa	-	1,0	-
Galaktosa	-	-	1,0
Yeast extract	0,5	0,5	0,5
Pepton	2,0	2,0	2,0

Sebanyak 10 mL kultur starter diinokulasikan ke dalam labu fermentasi yang berisi 90 mL medium produksi glukosa, fruktosa, dan galaktosa dengan komposisi sumber karbon seperti pada tabel di atas¹³. Fermentasi dilakukan pada suhu 25°C selama 21 hari.

Penentuan berat miselia kering

Pertumbuhan miselium dari fungi endofit setelah 21 hari ditentukan dari berat kering. Berat kering miselium dihitung melalui penyaringan dengan menggunakan

corong *buchner*, dan kertas *Whatman tm*. No 1, kemudian dikeringkan di suhu 60°C selama 23-36 jam sehingga didapat berat konstan¹⁴.

Pemeriksaan aktivitas antibiotika

Supernatan yang telah di ambil 10 mL dalam vial dilakukan perendaman disk selama 60 menit. Medium MHA diambil sebanyak 10 mL dan ditambahkan dengan 20 µL suspensi bakteri uji, kemudian dimasukkan dalam cawan petri, dibenamkan disk yang telah direndam pada

hasil fermentat masing-masing isolat fungi endofit pada permukaan medium yang telah memadat. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam, lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk¹³.

Analisis data

Data yang dihasilkan berupa rerata diameter zona hambat dari isolat IFAZ-6, IFBZ-6, dan IFDZ-8 berdasarkan kelompok variasi medium fermentasinya. Rerata diameter zona hambat kemudian dianalisis secara statistik untuk menentukan adanya perbedaan antara kelompok uji ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan berat kering miselium dilakukan dengan menggunakan medium Potato Dextrosa Broth (PDB) yang diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 25 dan diinokulasikan pada medium fermentasi pada suhu 25°C selama 21 hari. Fermentasi

dilakukan dengan menggunakan metode fermentasi goyang bertujuan agar aerasi dan agitasi dapat terjaga. Aerasi dibutuhkan untuk mensuplai oksigen kapang endofit sedangkan agitasi atau pengadukan bertujuan untuk meningkatkan suplai oksigen dalam medium, meningkatkan homogenitas suhu¹⁵. Hasil fermentasi berupa miselia dan supernatan dipisahkan menggunakan kertas saring yang telah ditimbang konstan. Miselia yang terbentuk menandakan bahwa telah terjadi pertumbuhan fungi di dalam media. Miselia yang telah dipisahkan dengan supernatan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam untuk memperoleh miselia kering kemudian ditimbang. Data berat miselia isolat fungi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Berat miselium kering isolat IFAZ-6, IFBZ-6, IFDZ-8 dari akar tanaman bidara (*Ziziphus mauritina* L.)

Isolat	Medium	Rerata Berat Miselia (mg)
IFAZ-6	Glukosa	513,9
	Fruktosa	525,4
	Galaktosa	578,7
IFBZ-6	Glukosa	518,7
	Fruktosa	457,8
	Galaktosa	388,9
IFDZ-8	Glukosa	662,2
	Fruktosa	575,8
	Galaktosa	633,4

Berdasarkan hasil pengujian penimbangan berat miselium (Tabel 2), diperoleh rerata berat miselium terbesar pada isolat IFAZ-6 yaitu medium Galaktosa,

medium Fruktosa, dan medium glukosa. Pada 244solate IFBZ-6 rerata berat miselium terbesar yaitu medium glukosa, medium fruktosa, dan medium galaktosa.

Pada isolat IFDZ-8 rerata berat miselium terbesar yaitu medium glukosa, medium galaktosa, dan medium fruktosa.

Hasil fermentasi yang telah diperoleh diuji aktivitasnya dengan metode

difusi agar terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Hasil fermentasi memperlihatkan zona hambatan, dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rerata diameter zona hambat aktivitas antibakteri isolat IFAZ-6 terhadap bakteri uji

Kelompok	Rerata Diameter zona hambat (mm)		
	<i>S. aures</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Medium glukosa	9,07	6,44	7,47
Medium fruktosa	8,21	6,99	7,47
Medium Galaktosa	7,28	7,60	7,66

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibiotika isolat IFAZ-6 (Tabel 3) pada bakteri *Staphylococcus aureus*, diperoleh rerata zona hambat terbesar pada medium glukosa, pada bakteri uji

Pseudomonas aeruginosa, diperoleh rerata zona hambat terbesar pada medium galaktosa, dan pada bakteri uji *Escherichia coli*, diperoleh rerata zona hambat terbesar pada medium galaktosa

Tabel 4. Diameter zona hambat aktivitas antibakteri isolat IFBZ-6 terhadap bakteri uji

Kelompok	Rerata Diameter zona hambat (mm)		
	<i>S. aures</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Medium glukosa	8,33	8,61	7,60
Medium fruktosa	7,25	6,32	7,87
Medium galaktosa	7,24	6,59	7,04

Tabel 5. Diameter zona hambat aktivitas antibakteri isolat IFDZ-8 terhadap bakteri uji

Kelompok	Rerata Diameter zona hambat (mm)		
	<i>S. aures</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Medium glukosa	8,21	0	7,34
Medium fruktosa	8,86	0	6,96
Medium galaktosa	7,44	0	7,58

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibiotika isolat IFBZ-6 (Tabel 4) pada bakteri *Staphylococcus aureus*, diperoleh zona hambat terbesar pada medium glukosa, pada bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, diperoleh zona hambat terbesar pada medium glukosa, dan pada bakteri uji *Escherichia coli*, diperoleh zona hambat terbesar pada medium fruktosa.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibiotika isolat IFDZ-8 (Tabel 5) pada bakteri *Staphylococcus aureus*, diperoleh rerata zona hambat terbesar pada medium fruktosa, pada bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, tidak diperoleh zona hambat, dan pada bakteri uji *Escherichia coli*, diperoleh zona hambat terbesar pada medium galaktosa.

Sebagian besar spesies jamur tumbuh subur dalam kondisi hangat, bergula, asam, dan aerobik. Sedangkan untuk suhu, kisaran untuk pertumbuhan jamur cukup luas, tetapi secara umum sebagian besar spesies tumbuh sangat baik sekitar 25°C. Parameter fisik lain yang mempengaruhi fisiologi jamur termasuk radiasi (cahaya atau UV dapat menimbulkan diferensiasi miselia dan sporulasi pada beberapa jamur yang menghasilkan spora di udara), aerasi, dan gaya sentrifugal (misal pada kultur kinetik) (Kavanagh, 2005)¹⁶. Faktor-faktor tersebut dapat dimodifikasi dengan harapan akan mempengaruhi

pertumbuhan dan fisiologi jamur dan produksi metabolit.

Dari hasil penelitian yang diperoleh, setiap isolat memiliki medium dengan variasi karbon optimum yang berbeda. Isolat IFAZ-6, dan IFBZ-6 optimum dengan medium glukosa. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Polak-Berecka (2010) menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon terbaik dibandingkan monosakarida dan gula lainnya¹⁷. Dan pada Aulia Rahma (2015) menunjukkan hasil glukosa sebagai sumber karbon terbaik dalam memproduksi senyawa¹⁸. Pada isolat IFDZ-8 optimum dengan medium fruktosa. Mirip dengan glukosa, fruktosa sering digunakan sebagai penyusun utama senyawa biologis. Hal ini sesuai dengan pendapat Juliane (2004) bahwa fruktosa merupakan bentuk gula yang sederhana dan bersifat higroskopis dimana fruktosa mudah larut dalam air dan alkohol. Fruktosa sendiri dimetabolisme melalui glikolisis. Hasil piruvat dari pemecahan fruktosa dalam reaksi glikolisis menghasilkan sejumlah elektron dan ATP¹⁹.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian produksi antibiotika dari isolat fungi endofit tanaman bidara (*Ziziphus mauritina* L.) kode isolat IFA-6, IFBZ-6, IFDZ-8 dengan variasi sumber karbon maka dapat disimpulkan bahwa bahwa sumber karbon glukosa lebih baik dalam memproduksi senyawa antibiotik daripada sumber karbon

galaktosa pada isolat fungi endofit kode IFAZ-6, sumber karbon glukosa lebih baik dalam memproduksi senyawa antibiotik daripada sumber fruktosa dan galaktosa pada isolat fungi endofit kode IFBZ-6, dan sumber karbon fruktosa lebih baik dalam memproduksi senyawa antibiotik daripada sumber galaktosa pada isolat fungi endofit kode IFDZ-8.

DAFTAR PUSTAKA

1. RI K. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2021 Tentang Pedoman Penggunaan Antibiotik*. handbook. 2021
2. Rokom. Resistensi Antimikroba Ancaman Kesehatan Paling Mendesak, Strategi One Health Perlu Digencarkan
3. Septiani, Nurcahya dewi E, Wijayanti I. Aktivitas Antivakteri Ekstrak Lamun (Cymodocea Rotundata) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. Available online at *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST) Saintek Perikanan*. 2017; 13(1):1–6
4. Ananda K, Sridhar KR. Diversity of Endophytic Fungi in the Roots of Mangrove Species on the West Coast of India. *Can J Microbiol.* 2002; 48(10):871–878
5. Radji M. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2005; 2(3):113–126
6. Herlina R, Taebe B, Intan S. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum Annuum* L Var. *Chinensis*) Dan Profil KLT-Bioautografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2013; 17(2):39–46
7. Elviasari J et al. *Isolasi Jamur Endofit Daun Beluntas (Pluchea Indica (L.) Less)*. 2015
8. Christy Sabbathini G, Pujiyanto S, Puspita Lisdiyanti dan. *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Genus Sphingomonas Dari Daun Padi (Oryza Sativa) Di Area Persawahan Cibinong*. 2017
9. Atlas, Ronald M. *Handbook of Microbiological Media Fourth Edition Volume 1*. United States of America: CRC Press. 2004
10. Willey JM, Sherwood LM, Woolferton CJ. *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*. Seventh Edition. New York: McGraw-Hill Higher Education. 2008
11. Wahid Suleman A, Nurnadya Arna A. Isolasi Fungi Endofit Umbi Talas (*Colocasia Esculenta (L.) Schott*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Secara KLT-Bioautografi. *Medical Sains.*; 7(1)
12. Asnita, Kosman R, Harly Nurung A. *Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Batang Sesuru (Euphorbia Antiquorum L.) Sebagai Penghasil Antibakteri Dengan Metode KLT-BIOAUTOGRAFI*. 2020
13. Rusli, Vicky Syfriani N, Hatta S, Wais M. Optimasi Produksi Antibiotika Isolat Terpilih Fungi Endofit IKD FF-UMI 02 Dari Kulit Buah Delima (*Punica Granatum L.*) Dengan Variasi Sumber Karbon. *As-Syifaa*. 2017; 09(01):99–105
14. Jayasekara LACB et al. Media Optimization of Antimicrobial Activity Production and Beta-Glucan Content of Endophytic Fungi *Xylaria Sp. BCC 1067*. *Biotechnology Reports.*; 35. DOI: 10.1016/j.btre.2022.e00742
15. Kumala S, Pratiwi AA. *Efek Antimikroba Dari Kapang Endofit Ranting Tanaman*

- Biduri*. 2014
16. Triastuti A. Fungal Endophytes as the Source of Medicinal Natural Product Jamur Endofit Sebagai Sumber Obat Bahan Alam. *Jurnal Ilmiah Farmasi*.; 16(1):1–95
 17. Evi S, Endang K, Arina TL. Pengaruh Variasi Sumber Karbon Terhadap Aktivitas Enzim Isolat Khamir A Dari Limbah Kulit Buah Nanas Madu (*Ananas Comocus L.*). *NICHE Journal of Tropical Biology*. 2021; 4(1):1–7
 18. Rahma RA, Widjanarko SB, Sunaryanto R, Yuniarta Y. Optimasi Media Fermentasi *Aspergillus Oryzae*, Penghasil Antijamur Patogen Buah Kakao BUAH *Phytophthora Palmivora*. *Jurnal Agritech*. 2015; 35(03):315
 19. Hendrawati RW, Sri P, Siti NJ. Pengaruh Penambahan Sumber Karbon Terhadap Produksi Antibakteri Isolat Endofit A1 Tanaman Ciplukan (*Physalis Angulata L.*) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *NICHE Journal of Tropical Biology*3. 2020; 3(2):80–88