



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

**UJI ANTIMIKROBA MEDIA FERMENTASI BATCH *Penicillium*  
sp. LBKURCC34**

**REPOSITORY**



**OLEH**

**ANNISA FITRI**  
**NIM. 1403120070**

**PROGRAM STUDI S1 KIMIA  
JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS RIAU  
PEKANBARU  
2019**

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

## UJI ANTIMIKROBA MEDIA FERMENTASI BATCH

*Penicillium* sp. LBKURCC34

Annisa Fitri<sup>1</sup>, Yum Eryanti<sup>2</sup>, Yuana Nurulita<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program S1 Kimia FMIPA Universitas Riau

<sup>2</sup>Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

Kampus Binawidya, Pekanbaru, 28293, Indonesia

[annisa.fitri@student.unri.ac.id](mailto:annisa.fitri@student.unri.ac.id)

### ABSTRACT

*Penicillium* sp. LBKURCC34 is a fungi that isolated from peat soil of primary forest at Giam Siak Kecil Bukit Batu (GSKBB), Biosphere Reserve in Riau Province. The purpose of this study was to determine potency of this fungi as the source of antimicrobial compounds toward *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans* with dilution method. The metabolite compound production was done by fermentation in liquid medium for 14 days. Extract was evaporated and concentrated, then dissolved with dimethyl sulfoxide. Antimicrobial tests were carried out using resazurin dilution method using extract concentration of 4000  $\mu$ l diluted to 7.8125  $\mu$ l with positive controls Amoxsan® and Ketokonazol®. Unfortunately, due to inconsistency of resazurin reaction, the activity could not be calculated.

Keywords : antimicrobial, metabolite compound, *Penicillium* sp.

### ABSTRAK

*Penicillium* sp. LBKURCC34 merupakan jamur yang diisolasi dari tanah gambut hutan primer Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu (GSKBB) Provinsi Riau. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi dari jamur ini sebagai senyawa antimikroba terhadap mikroba patogen *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Candida albicans* menggunakan metode dilusi. Produksi senyawa metabolit dilakukan dengan cara fermentasi di dalam media cair selama 14 hari. Ekstrak dievaporasi dan dipekatkan, kemudian dilarutkan kembali dengan DMSO. Uji antimikroba dilakukan dengan metode dilusi pewarna resazurin dengan konsentrasi ekstrak 4000  $\mu$ l diencerkan sampai dengan 7,8125  $\mu$ l dengan kontrol positif Amoxsan® dan Ketokonazol®. Sayangnya, karena ketidakkonsistennya reaksi dari resazurin, aktivitas antimikroba tidak dapat dihitung.

Kata kunci : antimikroba, *Penicillium* sp., senyawa metabolit



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.



## PENDAHULUAN

Salah satu masalah kesehatan saat ini adalah penyakit infeksi. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen dan

Antibiotik adalah senyawa kimia, yang berasal dari zat bioaktif dari mikroorganisme, hewan, dan tumbuhan yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba patogen. Salah satu antibiotik yang banyak dipasarkan sebagian besar berasal dari mikroorganisme.

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai penghasil antimikroba baru ialah *Penicillium* sp. Jamur ini dapat menghasilkan senyawa penisilin untuk membunuh atau menghentikan mikroba patogen. *Penicillium* merupakan fungi filamen dengan anggota spesies yang memiliki potensi bioteknologi yang tinggi. Hal ini karena kemampuan berbagai spesiesnya untuk menghasilkan enzim-enzim industri, maupun untuk kemampuannya menghasilkan berbagai senyawa bioaktif (Barreiro *et al.*, 2012). *Penicillium* penghasil enzim karbohidrase tinggi dari tanah gambut potensial untuk dikembangkan karena gambut yang kaya selulosa dan sisa-sisa serangga (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009).

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antimikroba secara kuantitatif. Antimikroba dilarutkan ke dalam media agar atau kaldu, yang kemudian ditanami bakteri yang akan dites. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan MIC. Nilai MIC dapat pula

bersifat sangat dinamis (Cristin & Bodhi, 2016). Penyakit infeksi dapat diatasi dengan penggunaan antibiotik.

dibandingkan dengan konsentrasi obat yang didapat di serum dan cairan tubuh lainnya untuk mendapatkan perkiraan respon klinik (Soleha, 2015).

MIC ditentukan berdasarkan konsentrasi terkecil dari setiap ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji 90% dari inokulum asal selama 24 jam. Penentuan penghambatan 90% dilakukan dengan mengamati perubahan warna indikator pada microplate. Konsentrasi terkecil yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri (negatif) pada uji MIC selanjutnya digunakan untuk penentuan MBC (Rialita *et al.*, 2015).

Laboratorium Biokimia–Enzim, Fermentasi dan Biologi Molekuler Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau memiliki beberapa koleksi isolat *Penicillium* sp. yang diisolasi dari tanah gambut Hutan Primer Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu (GSKBB) Provinsi Riau. Salah satu isolat yang perlu dilakukan uji aktivitas antimikrobanya adalah *Penicillium* sp. dengan kode LBKURCC34 dan telah diuji berpotensi memiliki aktivitas selulase (Ismet, 2012). Pada penelitian ini, dianalisis potensi isolat jamur *Penicillium* sp. LBKURCC34 sebagai produsen senyawa antimikroba, kemudian senyawa tersebut dianalisis aktivitasnya dengan metode dilusi resazurin.

## Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

## METODE PENELITIAN

### a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Autoclaf* (*All America* model 1925/KY-23D), *spectronic thermo scientific genesys S 10*, *vortex mixer* Genie 2<sup>TM</sup>, *rotary shaker* (Lab TechScientific International), *waterbath* (Grant Instrument Type SUB 28), *rotary evaporator* Heidolph WB 2000, pH meter (*Hanna Instrument* H18014), *UV hand lamp*, kertas saring GF/C Whatman (No. Katalog 1882055), *incubator* (*Herraeus Instrument* D6450), *Microtiter plate 96 well* (*Thermo Scientific* Cat. No. 167008) dan alat – alat gelas laboratorium lainnya sesuai prosedur kerja.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur *Penicillium* sp. LBKURCC34 koleksi Laboratorium Enzim, Fermentasi dan Biologi Molekuler FMIPA UR, bakteri *Eschericia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus ephidermidis*, *Bacillus subtilis* dan jamur *Candida albicans*, Amoxsan<sup>®</sup> keluaran PT. Sanbe Farma, Indonesia sebagai kontrol positif uji antibakteri dan antijamur, Ketoconazole<sup>®</sup> keluaran PT. Hexpharm Jaya, Indonesia sebagai kontrol positif uji antijamur, *Mueller-Hinton broth* (Merck, Cat. No. 1.10293.0500), Dimethyl sulfoxide (Merck, Cat. No. 8.02912.1000), Resazurin (Merck, Cat. No. 1.00138.3495), Plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) *Silica Gel 60F<sub>254</sub>* (Merck Cat. No. 1.05554.0001) (Porositas 60 Å, ukuran partikel 10-12 µm), eluen KLT digunakan pelarut pro-analisis dan bahan lain yang digunakan sesuai prosedur kerja.

### b. Peremajaan jamur isolat *Penicillium* sp. LBKURCC34

Peremajaan jamur isolat *Penicillium* sp. LBKURCC34 dilakukan dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Miselia jamur diambil dari biakan murni menggunakan jarum ose. Miselia diambil dengan cara digoreskan ujung ose di atas permukaan media tanpa merusak media tersebut. Miselia yang sudah diambil diinokulasi ke permukaan media PDA miring yang telah disiapkan. Media diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

### c. Produksi senyawa antimikroba

Produksi senyawa antimikroba dilakukan mengikuti metode oleh Mutawila *et al.*, (2016) dengan modifikasi Lee *et al.*, (2001). Koloni *Penicillium* sp. LBKURCC34 yang telah diremajakan dibilas dengan air salin (NaCl 0,85%) lalu digerus menggunakan jarum ose. Suspensi jamur disaring menggunakan *glass woll* dan diukur densitas optiknya pada panjang gelombang 660 nm. Kemudian suspensi jamur diinokulasi ke dalam media *Potato Dextrose Broth* (PDB). Inokulum diinkubasi selama 7 hari pada *rotary shaker* dengan kecepatan 150 rpm.

Setelah 7 hari inokulum dipindahkan seluruhnya dari media PDB ke dalam 1000 mL media cair produksi antimikroba. Media produksi dibuat mengikuti rancangan Lee *et al.*, (2001). Media produksi kemudian diinkubasi selama 14 hari menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 150 rpm.

### d. Uji aktivitas senyawa antimikroba

Media MHB disiapkan dalam erlenmeyer. Air salin (NaCl 0,8%) sebanyak 5m L dan Resazurin disiapkan



## Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

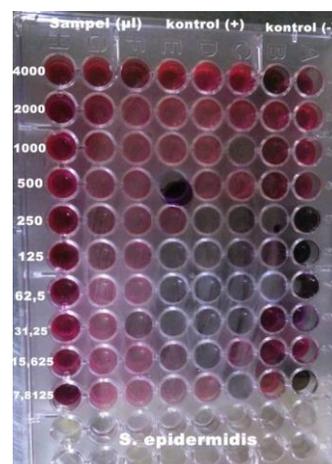
dalam tabung reaksi. Ekstrak kasar dari jamur *Penicillium* sp. LBKURCC34 dilarutkan dengan DMSO. Pada uji ini ekstrak diencerkan dari konsentrasi 4000 µl; 2000 µl; 1000 µl; 500 µl; 250 µl; 125 µl; 62,5 µl; 31,25 µl; 15,625 µl; dan 7,8125 µl. Kontrol positifnya adalah Amoxsan<sup>®</sup> yang konsentrasinya sama dengan konsentrasi ekstrak dan kontrol negatif adalah DMSO. Selanjutnya di masukkan kedalam *well* uji pada *microplate* k dengan volume yang sudah ditentukan. Kemudian diinkubasi selama 1 hari. Sedangkan untuk uji antijamur, menggunakan media SDB dan kontrol positifnya adalah Ketoconazole<sup>®</sup>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi senyawa antimikroba dari jamur *Penicillium* sp. LBKURCC34 dilakukan dengan metode fermentasi *batch* yaitu nutrisi diberikan pada awal proses fermentasi. Sebelum jamur dimasukkan ke dalam media produksi, pengukuran OD jamur dilakukan terlebih dahulu dan dimasukkan ke dalam media PDB agar jumlah sel jamur yang tumbuh seragam di setiap media. Proses pembuatan media produksi dilakukan berdasarkan rancangan Lee *et al.*, (2001). Media dirancang sedemikian rupa sehingga kondisi media, komposisi media, suhu, suplai oksigen dan jumlah mikroorganisme di dalam media terkendali dengan baik. Komposisi media ini ialah glukosa sebagai sumber energi dan karbon utama, MgSO<sub>4</sub> sebagai sumber Mg<sup>2+</sup> yang berperan di dalam ribosom, untuk stabilisasi membran dan dinding sel, serta sebagai kofaktor enzim, *yeast extract* sebagai penyedia asam-asam amino tunggal, *growth factor* dan berbagai vitamin yang

dibutuhkan sel, dan yang terakhir KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> sebagai sumber K<sup>+</sup> yang berfungsi sebagai kofaktor enzim dan sumber P untuk sintesis asam nukleat, ATP, fosfolipid dan senyawa yang mengandung fosfor lainnya (Saputra, 2013).

Analisis aktivitas antimikroba menggunakan metode dilusi resazurin. Metode ini lebih akurat daripada menggunakan kertas cakram dikarenakan dapat menentukan nilai konsentrasi minimum penghambatan ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Gambar 1 – 5 menunjukkan perubahan warna resazurin akibat adanya pertumbuhan bakteri patogen. Jika ekstrak dapat menghambat pertumbuhan patogen, maka perubahan warna pink menjadi ungu akan dapat ditahan.



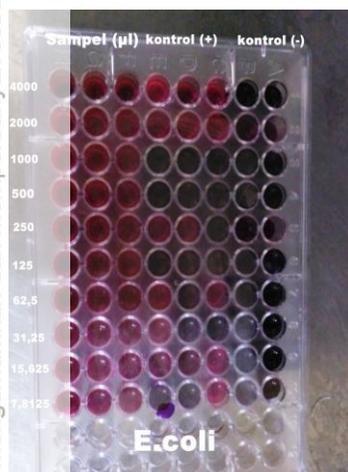
**Gambar 1.** *Staphylococcus epidermidis*

Berdasarkan hasil KLT, ekstrak memperlihatkan 2 noda yang berfluoresens setelah disinari UV 366 nm. Gritter *et al.*, (1991) menyatakan jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan

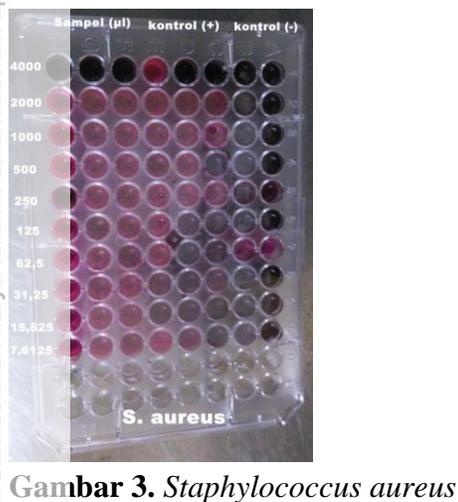


Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

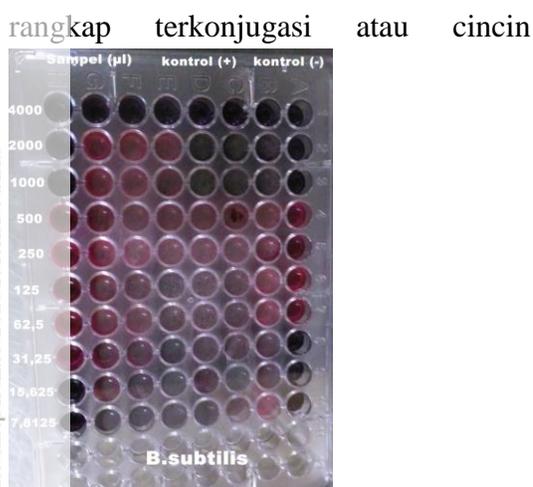
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.



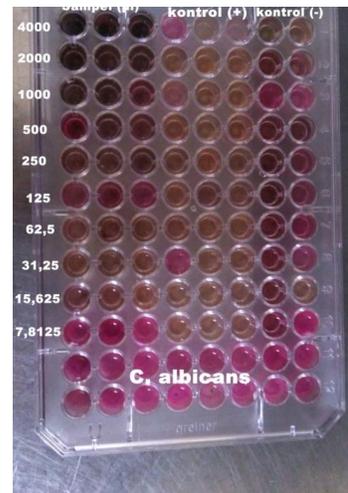
**Gambar 4.** *Escherichia coli*



**Gambar 3.** *Staphylococcus aureus*



**Gambar 2.** *Bacillus subtilis*



**Gambar 5.** *Candida albicans*

Pada penelitian ini, uji aktivitas antimikroba dengan metode dilusi resazurin belum berhasil dilakukan. Hal ini terlihat dari tidak konsistennya perubahan warna yang dihasilkan mengikuti konsentrasi ekstrak. Hal yang sama juga terlihat pada kontrol. Oleh karena itu, perlu dilakukan perubahan *range* konsentrasi ekstrak dan inokulasi pada plate dilakukan pada kondisi sangat steril untuk menghindari kontaminasi.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM Universitas Riau, karena penelitian ini merupakan salah satu bagian Penelitian Unggulan Lokal Universitas Riau yang diberikan kepada Ibu Yuana Nurulita.

#### DAFTAR PUSTAKA

Barreiro, C., Martin, J. F. & Garcia-Estrada, C. 2012. Proteomics shows new faces for the old penicillin



## Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.



*Biomedicine and Biotechnology*, 20(2) : 1-15.

Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S. & Bissett, J. 2009. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. *Fungal Genetics and Biology*, 4(6) : 615 - 631.

Ismet, R.S. 2012. Isolasi fungi selulolitik dari tanah hutan primer pangkalan bukit cagar biosfer giam siak kecil-bukit batu, Riau. *Skripsi*. Univeristas Riau, Riau.

Lee, H.J., Lee, J.H., Hwang, B.Y., Kim, H.S., & Lee, J.J. 2001. Antioangiogenic activities of gliotoxin and its methylthioderivative, fungal metabolites. *Archives of Pharmacal Research*, 24(5): 397 – 401.

Mutawila, C., Vinale, F., Halleen, F., Lorito, M., & Mostert, L. 2016. Isolation, production and in vitro effects of the major secondary metabolite produced by *Trichoderma* species used for the control of grapevine trunk diseases. *Plant Pathology*, 65(1): 104–113.

Rialita, T., Rahayu, W.P., Nuraida, L., and Nurtama, B. 2015. Aktivitas antimikroba minyak esensial jahe merah schum terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. *Agritech*, 35(1), pp. 43–52.

Saputra, H. 2013. Evaluasi produksi senyawa antibiotik menggunakan dua konsentrasi spora jamur *Gliocladium sp* T.N.C73. *Skripsi*. FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.

Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik susceptibility test of antimicroba. *Juke Unila*. 5, pp. 3–7.