

OPTIMASI WAKTU PRODUKSI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK BAKTERI-BAKTERI ENDOFIT DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.)

OPTIMIZATION TIME PRODUCTION OF SECONDARY METABOLITES EXTRACTS ENDOPHYTIC BACTERIA OF CIPLUKAN LEAVES (*Physalis angulata* L.)

Muhammad Sadam Usdin, Winni Astuti*, Djihan Ryn Pratiwi

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4, Kampus Gunung Kelua, Samarinda 75123, Kalimantan Timur, Indonesia

*Corresponding Author : winniaastuti@gmail.com

ABSTRACT

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) is a medicinal plant that has benefits as an antioxidant, antibacterial, antimalarial, antiviral, antidiabetic, and anti-inflammatory. This study to determine the optimum time in producing secondary metabolite compounds and for amylase and protease inhibition. The production of secondary metabolites was carried out at a time variation of 24 hours, 48 hours and 72 hours. The method in the amylase inhibition test used the DNS method and the protease inhibition test used the Bradford method. The results showed that the optimum time for the production of secondary metabolite compounds was 72 hours.

Keywords: *Physalis angulata* L., Endophytic Bacteria, Production Time

1. PENDAHULUAN

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki manfaat dalam mengobati penyakit seperti Influenza, bisul dan bronkitis [1] Daun ciplukan dimanfaatkan sebagai pengobatan luka oleh masyarakat Lombok Selatan yang diduga karena adanya senyawa tanin pada ciplukan [2]. Daun ciplukan mengandung metabolit sekunder alkaloid, saponin, dan steroid. Pada batang terdapat senyawa metabolit sekunder alkaloid, saponin, steroid dan flavonoid. Pada buah ciplukan terdapat senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin dan triterpenoid [1].

Bakteri yang hidup dalam jaringan tumbuhan dinamakan sebagai bakteri endofit. Bakteri endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan senyawa yang didapatkan dari tumbuhan inangnya. Senyawa bioaktif dari bakteri endofit dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria, dan anti imunosupresi [3]. Melihat banyaknya manfaat metabolit sekunder yang terdapat pada daun ciplukan, kemungkinan besar metabolit sekunder bakteri endofit daun ciplukan mempunyai manfaat yang sama. Hal ini diduga karena bakteri endofit mengalami koevolusi transfer genetik dari inangnya. Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif merupakan hal yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat herbal. Hal ini karena bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan jumlah senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi [4].

Metabolit sekunder diproduksi tumbuhan dalam jumlah tertentu pada kondisi tercekam [5]. Senyawa metabolit sekunder terdiri dari alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid dan Saponin.

Keberadaan senyawa metabolit sekunder sangat tergantung pada jenis tumbuhan. Hal inilah yang menyebabkan tumbuhan telah digunakan sebagai obat-obatan sejak ratusan

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



bahkan ribuan tahun yang lalu [6].

2. METODE

Penelitian ini dirancang secara analisis Laboratorium. Sampel berupa bakteri-bakteri endofit dari daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang telah diisolasi oleh [9]. Bakteri-bakteri yang diperoleh dan digunakan sebagai sampel sebanyak 26 isolat bakteri. Pertama dilakukan proses regenerasi bakteri endofit dalam media Luria Bertani. Waktu optimum produksi metabolit sekunder ditentukan dengan memvariasikan waktu. Selanjutnya produksi metabolit sekunder dari bakteri endofit menggunakan media cair Luria Bertani. Biakan bakteri disaring dan hasil saringan berupa filtrat merupakan ekstrak kasar bakteri endofit. Ekstrak kasar bakteri endofit selanjutnya di uji fitokimia, uji aktivitas inhibisi amilase dan uji aktivitas inhibisi protease.

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cool box*, gelas ukur, gelas beaker, pipet mikro, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung mikro, batang pengaduk, gelas ukur, corong kaca, *hot plate*, termometer, *water shaker*, Erlenmeyer, labu ukur, pH meter, *laminar air flow cabinet*, spatula, oven, cawan petri, Inkubator, sentrifugasi, neraca analitik, autoklaf, *hocky stick*, tip 1000 μ L, tip 200 μ L tiang statif, buret, jarum ose, bunsen dan Spektrofotometer UV-Visible.

2.1.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel bakteri-bakteri endofit tanaman ciplukan, NaCl, akuades, kasein, papain, reagen Brandfort, *yeast extract*, tripton, NaCl, dan plastik.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan seperti tip dan tabung mikro dimasukkan ke dalam wadah kaca dan ditutup yang rapat lalu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit

2.2.2 Pembuatan Media Cair Luria-Bertani

Pembuatan media cair Luria-Bertani dilakukan dengan cara mencampurkan NaCl, Tripton 3% dan *yeast* 1,5% dimasukkan kedalam gelas Beaker lalu dilarutkan menggunakan aquades. Larutan tadi dimasukkan 5 mL ke dalam masing-masing tabung reaksi yang kemudian ditutup dengan kasa dan kapas lalu ditutup kembali dengan aluminium foil. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf akan disimpan kedalam kulkas.

2.2.3 Pembuatan Kultur Gliserol Stok

Bakteri-bakteri yang telah diinkubasi masing-masingnya akan dibuat gliserol stok dengan mencampurkan 800 μ L bakteri endofit dengan 200 μ L gliserol kedalam tabung mikro 2 mL. Gliserol stok dihomogenkan dan disimpan pada lemari pendingin dengan suhu -20°C.

2.2.4 Optimasi Produksi Senyawa Metabolit Sekunder dari Koloni Bakteri Endofit

Inokulum yang telah didapatkan dari penelitian sebelumnya sebanyak 30 μ L ditambahkan dalam 15 mL medium produksi. Biakan kemudian diinkubasi dalam *waterbath shaker* dengan 150 rpm pada suhu 37°C. Untuk mengetahui waktu optimum produksi, setiap 24 jam setelah 24 jam diambil kultur sebanyak 15 mL untuk diuji aktivitas inhibisi amilase dan inhibisi protease.

2.2.5 Produksi Senyawa Metabolit Sekunder dari Koloni Bakteri Endofit

Produksi senyawa metabolit sekunder koloni bakteri endofit dilakukan dengan menginokulasikan satu ose ke dalam 5 mL media kemudian diinkubasi dalam *waterbath shaker*

selama produksi optimum pada suhu 37°C. Bakteri Endofit disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara bakteri endofit dengan senyawa metabolit sekunder

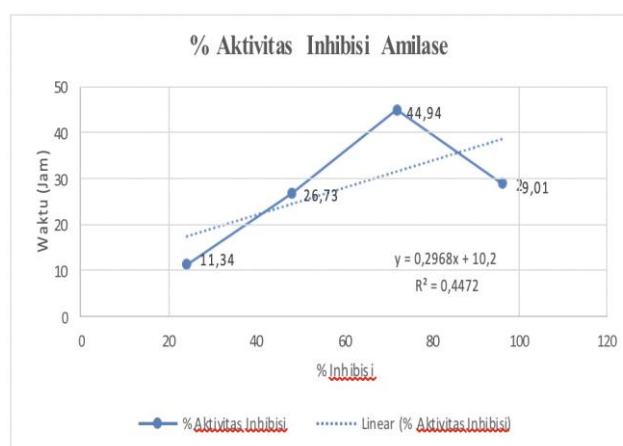
2.3 Teknik Analisa Data

Aktivitas inhibisi amilase dan protease dapat diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut **Persamaan 1** berikut [7,8].

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad \text{Persamaan 1}$$

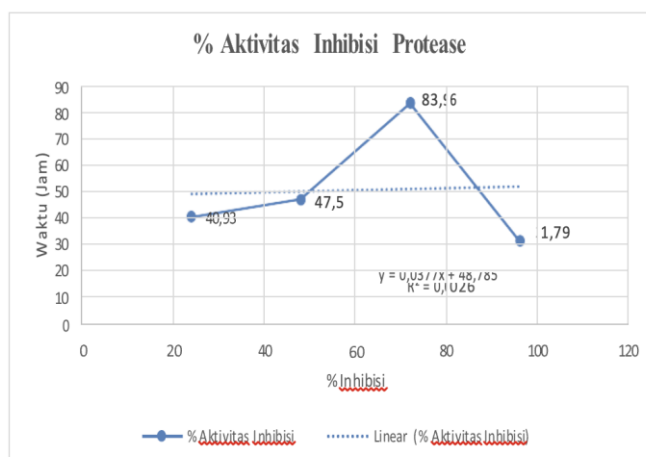
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu optimum ditentukan dengan melihat nilai inhibisi amilase dan inhibisi protease yang tertinggi. Penelitian ini menggunakan isolat bakteri CP14 yang digunakan sebagai representatif dari 26 isolat bakteri-bakteri endofit dan berdasarkan penelitian sebelumnya CP14 merupakan salah satu isolat bakteri yang ekstraknya memiliki aktivitas antibakteri yang besar [9]. Hasil uji metabolit sekunder ekstrak bakteri-bakteri endofit daun ciplukan terhadap inhibisi amilase terdapat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Pengaruh waktu produksi terhadap inhibisi amilase

Hasil uji optimasi produksi metabolit sekunder ekstrak bakteri-bakteri endofit daun ciplukan terhadap inhibisi protease terdapat pada **Gambar 2**. Hasil uji optimasi waktu produksi senyawa metabolit sekunder dari koloni bakteri endofit menggunakan isolat bakteri CP14 menunjukkan waktu optimumnya adalah 72 jam. Metabolit sekunder hasil produksi selama 72 jam menunjukkan aktivitas inhibisi amilase tertinggi sebesar 44,93% dan inhibisi protease sebesar 83,96%. Hal ini dikarenakan terjadi peningkatan aktivitas yang signifikan antara waktu 48 jam dan 72 jam namun terjadi penurunan pada waktu 96 jam sehingga ditetapkan waktu 72 jam adalah waktu produksi optimum senyawa metabolit sekunder dari koloni bakteri endofit dan bakteri endofit setelah 72 jam menghasilkan metabolit sekunder yang sedikit dikarenakan metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit digunakan sebagai pertahanan bakteri agar tetap bertahan hidup.



Gambar 2. Pengaruh waktu produksiterhadap inhibisi amilase

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan optimasi waktu produksi senyawa metabolit sekunder dari koloni bakteri endofit adalah 72 jam dengan menunjukkan aktivitas tertinggi sebesar 44,93% dan inhibisi protease sebesar 83,96%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Widyastuti, W., Kusuma, A. E., Nurlaili, N., & Sukmawati, F. (2016). Aktivitas antioksidan dan tabir surya ekstrak etanol daun stroberi (*Fragaria x ananassa* AN Duchesne). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(1), 19-24.
- [2] Mahmudah, F. N., Putra, E., & Wardana, B. H. (2021). The Impacts of Covid-19 Pandemic: External Shock of Disruption Education and Financial Stress Cohesion. *FWU Journal of Social Sciences*, 15(2).
- [3] Setianah, H., Nugraheni, I. A., & Wibowo, D. S. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Asal Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Health of Studies ISSN*, 2549,3353.
- [4] Hasiani, V. V., Ahmad, I., & Rijai, L. (2015). Isolasi jamur endofit dan produksi metabolit sekunder antioksidan dari daun pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(4), 146-153.
- [5] Asbur, Y., Rambe, R. D. H., Purwaningrum, Y., & Kusbiantoro, D. (2018). Potensi beberapa gulma sebagai tanaman penutup tanah di area tanaman kelapa sawit menghasilkan. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 26(3), 113-128.
- [6] Sila, V. U. R., Masing, F. A., & Santiari, M. (2022). Identifikasi Dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Endemik Asal Desa Fatunisuan Kabupaten Timor Tengah Utara. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 11(1), 184-191.
- [7] Mikdariawan, A., Astuti, W., & Marliana, E. (2021). Isolasi bakteri endofit dari buah okra (*Abelmoschus esculentus* L.Moench). *Jurnal Atomik*, 6(1), 13-15.
- [8] Prastika, H. H., Ratnayani, K., Puspawati, N. M., & Laksmiwati, A. A. I. A. M. (2019). Penggunaan enzim pepsin untuk produksi hidrolisat protein kacang gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang aktif antioksidan. *Cakra Kimia*, 7(2), 180-188.
- [9]. Amira, A. D., A., Astuti, W., & Marliana, E. (2020). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metabolit Sekunder Isolat Bakteri Endofit dari Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.), *Skripsi*.