

OPTIMASI WAKTU PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK BAKTERI ENDOFIT DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.)

OPTIMIZATION TIME PRODUCTION SECONDARY METABOLITES ENDOFIT BACTERIES EXTRACT OF PUCUK MERAH LEAVES (*Syzygium myrtifolium* Walp.)

Priliza Rahimah, Winni Astuti* dan Eva Marlina

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Mulawarman, Samarinda

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, Kalimantan Timur

*Corresponding Author: winniastuti@gmail.com

Diterbitkan: 30 Oktober 2023

ABSTRACT

Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) is an ornamental plant that has benefits as an antioxidant, antibacterial, antiplatelet, antiulcerative, antimalarial, antiviral, antihyperglycemic and anti-inflammatory. This research aims to determine the optimum time for the production of secondary metabolites of pucuk merah endophytic bacteria for amylase and protease inhibition. Production of secondary metabolites was carried out at various times of 24 hours, 48 hours and 72 hours. The method for 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 metabolites was 48 hours.

Keywords: *Syzygium myrtifolium* Walp., Endophyte Bacteria, Production Time.

ABSTRAK

Tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) merupakan tanaman hias yang memiliki manfaat sebagai antioksidan, antibakteri, antiplatelet, antiulceratif, antimalaria, antiviral, antihiper-glikemik dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan menentukan waktu optimum produksi senyawa metabolit sekunder bakteri endofit daun pucuk merah untuk inhibisi amilase dan protease. Produksi metabolit sekunder dilakukan pada variasi waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Metode pada uji inhibisi amilase menggunakan metode DNS dan uji inhibisi protease menggunakan metode *Bradford*. Hasil penelitian menunjukkan waktu optimum produksi senyawa metabolit sekunder terdapat pada waktu 48 jam.

Kata kunci: *Syzygium myrtifolium* Walp., Bakteri Endofit, Waktu Produksi.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit hiperglikemia, disebabkan karena terganggunya mekanisme pengaturan gula darah dalam tubuh [1]. Salah satu cara mengatasi penyakit diabetes melitus adalah dengan menghambat kerja enzim amilase. Amilase merupakan enzim yang berperan memecah oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida [2]. Pengobatan diabetes melitus dapat dilakukan secara medis maupun tradisional. Pengobatan secara medis dilakukan dengan menggunakan obat akarbosa ataupun insulin, sedangkan pengobatan secara tradisional

dapat menggunakan tanaman seperti daun sirsak, binahong, kulit manggis [3] dan pucuk merah [4].

Infeksi virus merupakan salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh virus. Virus merupakan parasit berukuran mikro yang mampu tumbuh dan berkembang biak didalam sel makhluk hidup, sehingga dapat menyerang berbagai organ pada tubuh makhluk hidup. Beberapa tanaman obat telah digunakan sebagai antivirus seperti ekstrak temulawak ekstrak sambiloto dan meniran [5].

Tanaman pucuk merah diketahui memiliki potensi sebagai antidiabetes dan antivirus. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak kasar



isolat bakteri endofit daun pucuk merah mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, triterpenoid, flavonoid dan saponin [6]. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu optimum produksi metabolit sekunder ekstrak bakteri endofit daun pucuk merah. Produksi metabolit sekunder dilakukan pada variasi waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Metode pada uji inhibisi amilase menggunakan metode DNS dan uji inhibisi protease menggunakan metode *Bradford*.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dirancang secara analisis di Laboratorium. Sampel yang digunakan berupa bakteri-bakteri endofit daun hijau pucuk merah yang telah diisolasi oleh Alhayu (2021). Bakteri-bakteri endofit diperoleh dari daun hijau pucuk merah yang diambil secara acak (*Random Sampling*) dari halaman Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman. Pada penelitian ini dilakukan filtrasi untuk memperoleh ekstrak kasar bakteri endofit. Bakteri endofit diregenerasi dalam media cair Luria Bertani. Waktu optimum produksi metabolit sekunder ditentukan dengan mevariasi waktu produksi. Produksi senyawa metabolit sekunder dari bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan media cair Luria Bertani. Biakkan bakteri disaring, filtrat hasil saringan berupa ekstrak kasar bakteri endofit. Ekstrak kasar bakteri endofit selanjutnya diuji aktivitas inhibisi amilase dan inhibisi protease.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, *beaker glass*, pipet mikro, pipet tetes, tabung reaksi, tabung mikro, tip 1000 μL , tip 200 μL rak tabung reaksi, batang pengaduk, cawan petri, corong kaca, hot plate, thermometer, water shaker, Erlenmeyer, labu ukur, pH meter, laminar air flow cabinet, bunsen. spatula, *oven*, inkubator, centrifuge, neraca analitik, autoklaf dan Spektrofotometer *UV-Visible*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri-bakteri endofit daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.), etanol, NaCl, aquades, aluminium foil, kapas, kasa, tisu, *yeast extract*, tripton, gliserol, reagen DNS (Asam 3,5-Dinitrosalisilat), amilum, enzim papain, albumin, kertas saring dan pereaksi *Bradford*.

Cara Kerja Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini seperti cawan petri, tip dan tabung mikro disterilisasi menggunakan autoklaf. Cawan petri dibungkus menggunakan kertas dan tabung mikro serta tip dimasukkan kedalam wadah kaca tertutup, selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C.

Pembuatan Media Cair-Luria Bertani

Pembuatan media cair Luria-Bertani dilakukan dengan cara mencampurkan 1% Tripton, 1% NaCl dan 0,5% *yeast extract*, lalu dilarutkan menggunakan aquades. Selanjutnya media cair Luria-Bertani dimasukkan masing-masing sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi. Kemudian media cair Luria-Bertani disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Regenerasi Bakteri-bakteri Endofit

Bakteri-bakteri endofit yang telah diperoleh dari daun pucuk merah sebanyak 10 μL dimasukkan ke dalam media cair Luria Bertani. Kemudian bakteri endofit diinkubasi dalam *waterbath shaker* pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan Gliserol Stok

Bakteri yang telah diinkubasi masing-masing dibuat menjadi stok gliserol. Pembuatan stok gliserol dengan cara mencampurkan 800 μL bakteri endofit dengan 200 μL gliserol steril kedalam tabung mikro 2 mL, lalu dihomogenkan. Gliserol stok disimpan pada suhu -20°C.

Optimasi Produksi Metabolit Sekunder

Bakteri-bakteri endofit sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam media cair sebanyak 150 mL. Kemudian diinkubasi dalam *waterbath shaker* pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap 24 jam kultur bakteri diambil sebanyak 2 mL untuk diuji aktivitas inhibisi enzim amilase dan protease.

Perhitungan

Aktivitas inhibisi amilase dapat diukur menggunakan rumus sebagai berikut [7] :

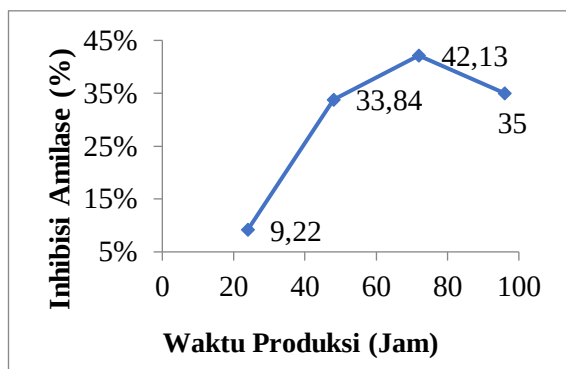
$$\% \text{ Inhibisi Amilase} = \frac{\text{Abs. Sampel} - \text{Abs. Kontrol}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\%$$

Aktivitas inhibisi protease dapat diukur menggunakan rumus sebagai berikut [8] :

$$\% \text{ Inhibisi Protease} = \frac{\text{Abs. Sampel} - \text{Abs. Kontrol}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\%$$

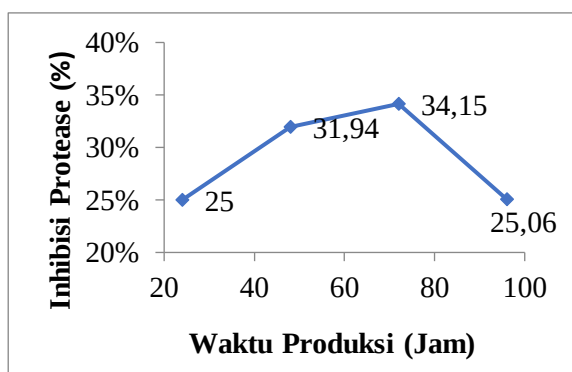
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji optimasi waktu produksi metabolit sekunder bertujuan untuk menentukan waktu terbaik bakteri endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder. Uji ini dilakukan dengan 4 variasi waktu produksi, yaitu selama 24, 48, 72 dan 96 jam. Waktu optimum selanjutnya digunakan pada uji inhibisi amilase dan uji inhibisi protease. Hasil uji optimasi produksi metabolit sekunder bakteri endofit terhadap inhibisi amilase ditunjukkan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Pengaruh Waktu Produksi Terhadap Inhibisi Amilase

Hasil uji optimasi produksi metabolit sekunder ekstrak kasar bakteri endofit terhadap inhibisi protease ditunjukkan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Pengaruh Waktu Produksi Terhadap Inhibisi Protease

Hasil uji optimasi waktu produksi metabolit sekunder diperoleh nilai inhibisi amilase pada waktu inkubasi 24 jam sebesar 9,22%; waktu inkubasi 48 jam sebesar 33,84%; waktu inkubasi 72 jam sebesar 42,13% dan waktu inkubasi 96 jam sebesar 35%. Pada uji protease diperoleh nilai inhibisi pada waktu

inkubasi 24 jam sebesar 25%; waktu inkubasi 48 jam sebesar 31,94%; waktu inkubasi 72 jam sebesar 34,15% dan waktu inkubasi 96 jam sebesar 25,06%. Nilai inhibisi pada waktu inkubasi 48 jam mengalami kenaikan yang signifikan. Pada waktu inkubasi 72 jam nilai inhibisi tidak mengalami kenaikan yang signifikan. Pada saat inkubasi 96 jam nilai inhibisi penurunan. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa waktu optimum produksi metabolit sekunder terdapat pada masa inkubasi 48 jam.

Waktu produksi metabolit sekunder bakteri berhubungan dengan media tanam pada masa pertumbuhan bakteri. Pada fase pertumbuhan 24 jam (fase logaritmik) merupakan fase energi digunakan sebagai pembelahan sel. Pada fase 24 jam – 72 jam (fase stasioner) yaitu fase jumlah bakteri yang hidup dan mati sama. Nutrisi bakteri akan berkurang sehingga bakteri akan bertahan hidup dengan mengonsumsi hasil metabolisme metabolit sekunder [9].

KESIMPULAN

Waktu optimum produksi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak bakteri-bakteri endofit daun pucuk merah terdapat pada waktu 48 jam. Nilai inhibisi pada waktu inkubasi 48 jam mengalami kenaikan yang signifikan. Pada waktu inkubasi 72 jam nilai inhibisi tidak mengalami kenaikan yang signifikan.

Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan identifikasi bakteri-bakteri endofit daun pucuk merah yang potensial sebagai antidiabetes dan antivirus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ibu Dr. Winni Astuti, M. Si dan Ibu Dr. Eva Marlina, M.Si yang telah membimbing dalam menyelesaikan tulisan ini, serta kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan baik berupa moral maupun materi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pangaribuan, J. J. 2016. "Mendiagnosa Penyakit Diabetes Mellitus Dengan Menggunakan Metode Extreme Learning Machine". *Journal Information System Development (ISD)*. 2(2): 32-40.
- [2] Wardani, N. A. K. (2017). Enzim α -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) untuk Penanggulangan Diabetes

- Melitus. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 1(2), 50-59.
- [3] Prahesti, D. A., Pujiyanto, S. dan Rukmi, I. 2018. Isolasi, “Uji Aktivitas dan Optimasi Inhibitor α -amilase Isolat Kapang Endofit Tanaman Binahong (Anredera Cordifolia)”. *Jurnal ISD*. 7(1): 43-51.
- [4] Sunarti. 2021. *Daun Pucuk Merah*. Malang: Literasi Nusantara.
- [5] Lanniari,. Priosoeryanto, N., Setiyaningsih, B. P. dan Surachmi. 2019. “Aktivitas Antivirus dari Ekstrak Etanol Empat Jenis Tanaman Terhadap Bovine Respiratory Sycytial Virus (BRSV) Secara In Vitro”.
- [6] Alhayyu, W. N. 2021. “Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Isolat Bakteri Endofit Dari Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)”. **Skripsi**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Mulawarman.
- [7] Mikdariawan, A., Astuti, W., & Marlina, E. (2021). Isolasi Bakteri Endofit Dari Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). *Jurnal Atomik*, 6(1), 13-15.
- [8] Sumarlin, L. O., Nurbayti, S., & Fauziah, S. 2011. Penghambatan Enzim Pemecah Protein (Papain) Oleh Ekstrak Rokok, Minuman Beralkohol Dan Kopi Secara *In Vitro*. *Valensi*, 2(3), 449-458.
- [9] Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Penerbit Erlangga