

TESIS

ISOLASI ANTIMIKROBA BARU DARI BAKTERI TANAH

ISOLATION OF NEW ANTIMICROBIAL FROM SOIL BACTERIA

**EVI DAMAYANTI
P062182010**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

ISOLASI ANTIMIKROBA BARU DARI BAKTERI TANAH

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi

Disusun dan diajukan oleh

Evi Damayanti

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

ISOLASI ANTIMIKROBA BARU DARI BAKTERI TANAH

Disusun dan diajukan oleh

EVI DAMAYANTI

Nomor Pokok : P062182010

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Pada tanggal 21 Juli 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



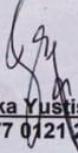
dr. Firdaus Hamid, Ph.D., Sp.MK
NIP. 1977 1231 2002 12 1002

Pembimbing Pendamping



dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK
NIP. 1969 0918 1996 03 2001

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik



Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP. 1977 0121 2003 12 2003

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP. 1966 1231 1995 03 1009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Evi Damayanti
Nomor mahasiswa : P062182010
Program studi : Ilmu Biomedik
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya *berjudul* :

Isolasi Antimikroba Baru dari Bakteri Tanah

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain dan bahwa Tesis saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 21 Juli 2022

Yang menyatakan



Evi Damayanti

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah dengan memanjatkan Puji dan syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul : “Isolasi Antimikroba Baru dari Bakteri Tanah” sebagai salah satu syarat dalam penyelesaian studi pada Program Magister Ilmu Biomedik, Konsentrasi Mikrobiologi, Universitas Hasanuddin Makassar. Salam dan Shalawat semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabat-sahabatnya.

Pada penulisan tesis ini, penulis menyadari atas kesulitan-kesulitan baik dalam penyusunan maupun dilapangan, hingga akhirnya tesis ini terselesaikan sebagaimana mestinya. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda Arifin dan Ibunda Darma Wati yang senantiasa memberikan doa yang tulus, dukungan, dan motivasi, dengan penuh kerendahan dan ketulusan hati dalam kesempatan ini izinkan pula penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Yth. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin Makassar dan Yth Prof. dr. Budu, Ph.D.,Sp.M(K),M.Med.Ed

selaku Dekan Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

1. Yth. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Yth. dr. Firdaus Hamid, Ph.D.Sp.,MK selaku Ketua Komisi Penasihat dan Yth. Rizalinda Sjahril, M.Sc.,Ph.D.,Sp.MK selaku Anggota Komisi Penasihat, yang dengan penuh keikhlasan dan ketulusan telah memberikan waktu, tenaga, dan pemikiran dalam membimbing penulis, sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. Yth. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D.,Sp.MK, Yth. Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D, Yth. Dr. dr. Burhanuddin, MS, selaku penguji yang telah memberikan arahan, masukan dan bimbingan selama penyelesaian tesis ini.
4. Yth dr. Aswan Usman, M.Kes selaku Kepala instalasi Laboratorium Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar.
5. Yth. Novianti, Amd.AK, selaku staf Balai Besar Laobaratorium Kesehatan (BBLK) yang sangat membantu dalam proses penelitian.
6. Seluruh dosen konsentrasi Mikrobiologi yang telah mendidik, membagikan ilmu dan pengalaman selama penulis menempuh pendidikan di Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Akhir kalam, penulis menyadari jika penyusunan tesis ini masih jauh dari sempurna sebab keterbatasan ilmu yang penulis miliki. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan dari semua pihak demi perbaikan dan penyempurnaan berikutnya dan penulis berharap naskah tesis ini bisa memberi manfaat bagi siapapun yang membacanya.

Mohon maaf jika terdapat kesalahan yang kurang berkenaan dalam penyusunan tesis ini. Semoga Rahmat dan Hidayah-Nya selalu tercurah kepada kita semua. Amin.

Makassar, 21 Juli 2022

Evi Damayanti

ABSTRAK

EVI DAMAYANTI. *Isolasi Antimikroba baru dari Bakteri Tanah* (dibimbing oleh **Firdaus Hamid** dan **Rizalinda Sjahril**)

Terbatasnya jumlah antibiotik merupakan masalah serius dalam pengobatan penyakit yang diakibatkan oleh meningkatnya resistansi mikroba patogen terhadap antibiotik yang tersedia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi senyawa antimikroba baru dari bakteri tanah hutan Nasional Bantimurung Bulu Saraung Kabupaten Maros.

Penelitian eksploratif ini dilaksanakan pada Mei hingga Juni 2021. Pemeriksaan sampel tanah menggunakan metode kultur dan MALDI-TOF MS *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) sebagai bakteri uji untuk pengujian aktivitas senyawa antimikroba.

Sebanyak 40 isolat bakteri tanah berhasil teridentifikasi. Selanjutnya uji aktivitas antimikroba terhadap keempat puluh isolat ini menunjukkan dua isolat memiliki zona hambat terhadap bakteri uji *S. aureus* yaitu T2.2 dan T2.18. Pada uji aktivitas senyawa antimikroba pertama kedua isolat ini memiliki indeks hambat masing-masing, 14.05 mm dan 11.96 mm. Kemudian pada uji kedua, dengan kondisi tidak dipanasi, diperoleh indeks hambat masing-masing 15.53 mm dan 12.46 mm sedangkan dengan kondisi dipanasi (80 °C) 15.46 mm dan 12.21 mm. Penelitian ini berhasil menemukan kandidat bakteri yang memiliki senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Kata kunci: Antimikroba, bakteri tanah, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris,
Tanggal: <u>31/05/2022</u>	



ABSTRACT

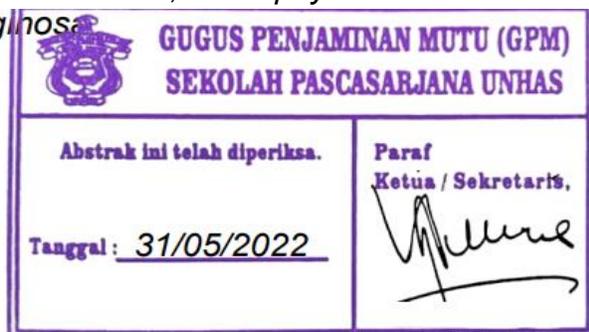
EVI DAMAYANTI. *Isolation of New Antimicrobial from Soil Bacteria*
(Supervised by **Firdaus Hamid and Rizalinda Sjahril**)

Finding new antibiotics is a formidable but indispensable challenge in tackling the threat of drug-resistance infections. This study aimed to isolate new antimicrobial compounds from soil bacteria from the Bantimurung Bulu Saraung National Forest, Maros Regency.

The exploratory research was carried out from May to June 2021. Soil samples were examined using the culture method and MALDI-TOF MS. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) were used as tested bacteria to identify the antimicrobial activity of the isolated soil bacteria.

A total of 40 isolates of soil bacteria were identified. Furthermore, the antimicrobial activity test of these forty isolates showed that two isolates had the zone of inhibition against the tested bacteria *S. aureus*, namely T2. 2 and T2. 18. In the first antimicrobial activity test, these two isolates had inhibitory indices of 14.05 mm and 11.96 mm, respectively. Then in the second test, under unheated conditions, the inhibitory indices were 15.53 mm and 12.46 mm, respectively, while under heated conditions (80 °C), 15.46 mm and 12.21 mm were obtained. This study found candidate bacteria that have antibacterial compounds that were able to inhibit the growth of *S. aureus*.

Keywords: Antimicrobial, soil bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang	1
B. Rumusan masalah.....	4
C. Tujuan penelitian	5
D. Manfaat penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanah dan bakteri	6
1. Definisi tanah	6

2. Bakteri	9
3. Struktur sel bakteri.....	9
4. Morfologi sel bakteri.....	11
5. Pertumbuhan dan reproduksi bakteri	14
6. Pembagian bakteri	16
B. Antimikroba.....	18
1. Definisi antimikroba	18
2. Sifat-sifat antimikroba.....	18
3. Mekanisme kerja antimikroba	20
4. Metode pengujian antimikroba	22
C. Bakteri uji.....	25
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	25
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
D. MALDI-TOF MS.....	41
F. Kerangka teori	44
F. Kerangka konsep	44
BAB III METODE PENELITIAN.....	45
A. Desain penelitian	45
B. Tempat dan waktu penelitian	45
C. Alat dan bahan penelitian	46
D. Metode kerja.....	46

1. Sterilisasi alat.....	47
2. Pembuatan medium.....	47
3. Pengambilan sampel	47
4. Isolasi bakteri tanah.....	47
5. Pengujian aktivitas senyawa antimikroba	48
6. Uji identifikasi tehnik MALDI-TOF MS.....	49
E. Definisi operasional	49
F. Analisis data	50
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	52
A. Hasil penelitian	52
B. Pembahasan	63
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	75
A. Simpulan	75
B. Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	
RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Toksin <i>Staphylococcus aureus</i>	27
2. Kronologi infeksi <i>Staphylococcus aureus</i> dan resistansinya.....	29
3. Perbedaan CA-MRSA dan HA-MRSA	30
4. Titik koordinat dan kondisi lingkungan hutan	53
5. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri tanah secara makroskopik pada titik 1	54
6. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri tanah secara makroskopik pada titik 2	55
7. Hasil pengamatan mikroskopik isolat bakteri tanah pada titik 1	56
8. Hasil pengamatan mikroskopik isolat bakteri tanah pada titik 2	57
9. Hasil uji senyawa antimikroba pertama	60
10. Hasil uji senyawa antimikroba kedua.....	61

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1.	Gambar variasi bentuk-bentuk bakteri kokus 13
2.	Gambar variasi bentuk-bentuk bakteri basil..... 13
3.	Gambar variasi bentuk-bentuk bakteri spirilia 14
4.	Gambar mecA dan MRSA 31
5.	Gambar <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan pewarnaan Gram..... 33
6.	Gambar <i>Pseudomonas aeruginosa</i> memproduksi pigmen pioverdin 34
7.	Gambar koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada media blood agar plate 41
8.	Gambar alat MALDI-TOF MS 42
9.	Gambar diagram skematik alur kerja MALDI-TOF MS 44
10.	Gambar kerangka teori 44
11.	Gambar kerangka konsep..... 45
12.	Gambar zona inhibisi hasil pengujian senyawa antimikroba pertama terhadap pertumbuhan bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> 60
13.	Gambar zona inhibisi hasil pengujian senyawa antimikroba kedua terhadap pertumbuhan bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> 61
14.	Gambar hasil identifikasi MALDI-TOF MS 62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri tanah secara makroskopik pada titik 1

Lampiran 2. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri tanah secara makroskopik pada titik 2

Lampiran 3. Hasil pengamatan mikroskopik isolat bakteri tanah titik 1

Lampiran 4. Hasil pengamatan mikroskopik isolat bakteri tanah titik 2

Lampiran 5. Hasil pengujian senyawa antimikroba pada titik 1

Lampiran 6. Hasil pengujian senyawa antimikroba pada titik 2

Lampiran 7. Zona Inhibisi terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Lampiran 8. Hasil uji identifikasi menggunakan MALDI-TOF MS

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

µl	: Mikroliter
AMRIN	: <i>Antimicrobial resistance in Indonesia</i>
C	: Celsius
CA-MRSA	: Community-associated MRSA
ESBL	: <i>Extended spectrum beta lactamase</i>
g	: Satuan bobot gram
HA-MRSA	: Healthcare-associated MRSA
ICU	: <i>Intensive care unit</i>
KHTM	: Kadar hambatan tumbuh minimum
MALDI-TOF MS	: <i>Matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of flight mass spectrometry</i>
MIC	: <i>Minimal inhibitory concentration</i>
ml	: Milliliter
mm	: Millimeter
MRSA	: Methicillin resistance <i>Staphylococcus aureus</i>
NA	: Nutrient agar
NB	: Nutrient broth
°	: Derajat

<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SCCmec	: <i>Staphylococcal cassette chromosome mec</i>
SST	: Sindroma syok toksik
VISA	: Vancomycin intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	: Vancomycin resistance <i>Staphylococcus aureus</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Antibiotik adalah bahan obat yang sangat memegang peranan penting dalam menanggulangi penyakit infeksi. Antimikroba adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain seperti *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dapat menimbulkan penyakit infeksi yang merupakan salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Penyakit infeksi terjadi karena adanya bakteri patogen yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain.

S. aureus adalah bakteri aerob yang bersifat Gram positif dan merupakan salah satu flora normal manusia pada kulit dan selaput mukosa. *S. aureus* merupakan patogen utama pada manusia dan hampir setiap orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* yang bervariasi, mulai dari keracunan makanan hingga infeksi kulit ringan dan yang mengancam jiwa. Gejala yang dialami seperti muncul benjolan pada kulit yang penuh dengan nanah, dan peradangan (Rini dan Jamilatur, 2020). *P. aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang menyebabkan infeksi oportunistik dan infeksi nosokomial

pada manusia. *P. aeruginosa* dapat menyebabkan terjadinya infeksi primer pada kulit (Rini & Jamilatur, 2020).

Pada saat ini, banyak ditemukan kasus resistensi bakteri patogen terhadap berbagai jenis antibiotik. Salah satu penyebabnya karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan tidak terkontrol. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan tidak terkontrol telah mengakselerasi timbulnya strain bakteri yang bersifat resisten terhadap antibiotik yang biasa disebut dengan MDR (*Microbial Drug Resistance*) (Van Duin & Paterson, 2016). Kekhawatiran yang muncul dalam penanganan penyakit infeksi yang diakibatkan oleh strain MDR mendorong berbagai penelitian dalam mengeksplorasi bakteri untuk menghasilkan senyawa antibiotik yang baru (Terreni *et al.*, 2021).

Sukmawati dan Rosalina (2020) melakukan penelitian tentang isolasi bakteri pada tanah merupakan penghasil senyawa antimikroba yang hasilnya menunjukkan terdapat 2 (dua) isolat yang memiliki potensi menghasilkan senyawa dan aktivitas antibakteri ialah isolat 1 (satu) dan isolat 4 (empat). Isolat 1 (satu) memiliki potensi lebih dalam menghambat *Escherichia coli* dengan indeks hambat 4.0 mm bila disamakan dengan penghambatan *Staphylococcus aureus* dengan indeks hambat 3.1 mm. Sementara itu, isolat 4 lebih memiliki kemampuan menghambat *Staphylococcus aureus* dengan indeks hambat 2.8 mm jika disamakan dengan penghambatan terhadap *Escherichia coli* dengan indeks hambat 1.4 mm.

Upaya pencarian spesies bakteri yang baru sebagai penghasil antimikroba telah banyak dilakukan mulai dari tanah hutan, pertanian, perkebunan, sedimen, perairan tawar sampai keperairan laut (Jagannathan *et al.*, 2021). Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah mencari antimikroba yang lebih efektif dari antimikroba yang ada melalui sintesis atau isolasi dari sumber alami yang potensial (Smith, 2017). Antimikroba yang berasal dari alam tetap menjadi sumber yang menjanjikan untuk mendapatkan struktur antibiotik yang baru, meskipun perlu pendekatan baru untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri dari alam yang terfokus dari sumber tanah hutan dan habitat-habitat yang masih alami (Das *et al.*, 2018).

Kawasan hutan Nasional Bantimurung Bulu Saraung merupakan habitat dari berbagai jenis flora, fauna, dan mikroorganisme. Daerah ini memiliki banyak potensi alam yang belum dieksplorasi. Kondisi lingkungan daerah ini sangat mendukung terhadap pertumbuhan berbagai mikroorganisme terutama kelompok bakteri. Pencarian isolat bakteri yang berbasis pada areal terestrial yang masih alami telah dilakukan untuk menghasilkan senyawa bioaktif baru berupa senyawa antimikroba (Mohamed *et al.*, 2017).

Penelitian ini adalah mencari sumber yang baru untuk mengisolasi bakteri penghasil antimikroba di areal hutan Nasional Bantimurung Bulu Saraung Kabupaten Maros Sulawesi Selatan. Isolat bakteri lokal yang diperoleh, akan menjadi isolat yang potensial sebagai penghasil senyawa

antimikroba. Isolat yang teridentifikasi memiliki senyawa antimikroba, dapat diketahui spesiesnya dengan menggunakan MALDI-TOF MS. MALDI-TOF MS adalah salah satu metode MS yang paling banyak digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme dalam sampel klinis (Tscuhida *et al.*, 2020).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang isolasi antimikroba baru dari bakteri tanah hutan Nasional Bantimurung Bulu saraung.

B. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah : Apakah diperoleh senyawa antimikroba baru yang diisolasi dari bakteri tanah ?

C. Tujuan penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengisolasi senyawa antimikroba baru dari bakteri tanah.

2. Tujuan khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk menguji senyawa antimikroba dari isolat bakteri tanah terhadap bakteri uji.

D. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Menemukan antimikroba baru.
2. Sebagai sumber rujukan untuk penelitian selanjutnya tentang isolasi antimikroba baru yang berasal dari bakteri tanah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanah dan bakteri

1. Defenisi tanah

Tanah ialah habitat beraneka macam kehidupan seperti flora, fauna, maupun mikroorganisme yang tak terbatas jumlahnya. Kehidupan yang terdapat di tanah beraneka ragam meliputi bakteri bersel tunggal yang mikroskopis dan fauna memiliki ukuran besar yang menggali lubang. Setiap komunitas memiliki konsolidasi makhluk hidup selain itu sumber daya abiotik yang istimewa yang berperan menjaga arus daya dan unsur hara yang berkelanjutan (Foth, 1994).

Pendapat Mulyani et al (1996) tanah yang memiliki angka produksi yang tinggi, selain itu mencakup beberapa bagian padat, cair, maupun udara atau gas namun layak memuat jasad hidup tanah yang jumlahnya tidak terbatas. Kehadiran mikroorganisme di dalam tanah, maka tingkat produktivitas yang terdapat di dalam tanah akan mempengaruhinya, dikarenakan mikroorganisme yang memegang kontribusi yang konsekuensial dalam prosedur pelapukan bahan organik yang terdapat di dalam tanah sehingga elemen zat hara menjadi lebih tersedia untuk tanaman.

Secara ekologis tanah memiliki susunan yang terbagi menjadi tiga grup material, meliputi material hidup ataupun faktor biotik yaitu biota atau

yang biasa disebut dengan jasad hayati, sedangkan faktor abiotik dan faktor abiotik pasir atau *sand*, debu atau *silt* atau clay. Kesuburan yang dimiliki oleh tanah tidak hanya bergantung pada kandungan kimiawinya, akan tetapi juga pada karakteristik alamiah pada bakteri hidup di dalam tanah. Bakteri yang hidup di dalam tanah dapat dikelompokkan diantaranya mikroba *actinomyces*, jamur, alga, dan protozoa (Darmawidjaya, 1990).

Tiap-tiap tanah memiliki kumpulan makhluk yang beraneka ragam. Tiap-tiap makhluk dan yang hidup di dalam tanah berdampingan membangun komunitas. Pada satu komunitas dalam tanah, terdapat berbagai macam mikroorganisme hidup, yang mempertahankan kehidupannya, maupun bersaing dalam mendapatkan tempat, udara, cairan, hara, dan keperluan hidup yang lainnya, baik secara simbiotik maupun non simbiotik maka akan menghasilkan beraneka ragam wujud korelasi antar mikroorganisme yang lainnya (Yulipriyanto, 2010).

Mikroorganisme pada tanah hidup di susunan seresah biologis struktur tanah, dan horizon tanah yang lebih dalam. Rotasi vertikal maupun horizontal tanah umumnya akan dikontrol oleh suhu, presentase cairan dan struktur tanah. Presentase bahan biologis akan menuntut prosedur makhluk hidup pada tanah. Rotasi mikroorganisme tanah memiliki ikatan yang lebih dekat dengan liang renik tanah, partikel-partikel tanah, dan pusat pada tanaman. Kumpulan mikroorganisme pada tanah dapat diuraikan dalam 3 kelompok besar, diantaranya: 1) *Autochthonous* : golongan ini disebut sebagai bakteri

lokal ataupun penghuni asli pada tanah yang spesifik, yang selalu hidup dan bertumbuh di tanah tersebut atau diprediksi dapat diketahui di dalam tanah tersebut. 2) Bakteri *zimogenik* : merupakan kelompok mikroorganisme yang bertumbuh dikarenakan adanya efek tindakan istimewa pada tanah, ibaratnya adanya penyisipan benih-benih organik, dan penyuburan. 3) Bakteri *transient* atau penghuni sementara: mencakup berbagai mikroorganisme yang telah ditambahkan di tanah, yang telah direncanakan contohnya pemindahan leguminosa, maupun yang tidak direncanakan contohnya dalam hal zat pembuat komplikasi flora maupun fauna, mikroorganisme kini boleh jadi segera punah ataupun akan berjuang untuk sementara waktu sesudah berada di tanah (Campbell *et al.*, 2003).

Bahan biologis tanah merupakan sumber dari ampas flora maupun fauna yang diduga mengalami reaksi penguraian, selagi reaksi penguraian tersebut terdapat beraneka ragam biota tanah baik yang telah memanfaatkan tanah sebagai lubangnya maupun yang telah hidup dan beraktivitas di dalam tanah, memiliki tugas pokok dalam transformasi bahan organik dari wujud yang baru atau termasuk juga sel-sel jasad kecil yang sudah punah sehingga telah terpecah membentuk zat yang biasa yang tersedia untuk tanaman (Yulipriyanto, 2010).

2. Bakteri

Bakteri merupakan jasad renik yang bersel satu dengan konfigurasi selular prokariotik yang istimewa, uniseluler dan tidak mempunyai bentuk yang dibatasi oleh membran yang terdapat di dalam sitoplasmanya. Karakteristik dasar yang memiliki sel prokariotik dapat disimpulkan yaitu : 1) Tidak memiliki membran khusus yang dapat mengantarai nukleus maupun sitoplasma tidak memiliki membran khusus yang dapat melindungi wujud yang lainnya terdapat di sel. 2) Pemisahan nukleus dengan cara membagi aseksual yang biasa dan tidak melewati proses pembelahan sel melalui tahap profase atau cara pembelahan nukleus sangat sulit dan sering ditemukan pada eukariota). 3) Dinding sel yang memiliki partikel biasa atau mukopeptide, yang telah membagikan kemampuannya pada wujud selnya.

3. Struktur sel bakteri

Menurut Campbell et al (2003) bentuk mikroba terbagi dibagi menjadi 2 diantaranya bentuk awal yang harus ada pada semua spesies mikroorganisme juga bentuk tambahan yang harus ada pada spesies mikroorganisme spesifik. Bentuk awal bakteri terbagi menjadi 1) dinding sel, yang tersusun dari peptidoglikan, 2) membran plasma yang tersusun oleh lapisan fosfolipid maupun protein, dan 3) sitoplasma yang merupakan cairan sel. Struktur tambahan diluar dinding sel yang dimungkinkan dapat dilihat adalah flagella, pili, dan kapsulnya.

Flagellum atau flagella adalah embel yang menyerupai bulu yang sedikit dan dapat masuk pada dinding sel dan dimulai pada badan yang mana adalah bentuk butiran-butiran kecil tepat di bawah membran sel di dalam tanah sitoplasma. Flagellum dapat menyebabkan adanya perpindahan pada sel bakteri. Flagellum terdiri terbagi menjadi tiga diantaranya : anatomi, bentuk bagai taut, dan selembur filamen jenjang di bagian luar dinding sel. Jarak flagellum diperkirakan beberapa kali lebih panjang dari selnya, akan tetapi untuk bagian lingkarannya ukurannya lebih mini daripada lingkaran selnya. Flagellum diproduksi dari subunit protein. Protein diartikan sebagai flagellin (Pelczar *et al.*, 2006).

Mikroorganisme yang tidak mempunyai gawai motil biasanya akan mengikuti pergeseran pada medium pertumbuhannya ataupun lingkungannya area mikroba tersebut menetap. Baik daerah maupun kuantitas filamen yang dimiliki, mikroba terbagi atas 5 kelompok diantaranya 1) atrik, tidak mempunyai alat gerak, 2) monotrik, memiliki alat gerak tunggal pada salah satu ujungnya, 3) lofotrik, memiliki beberapa alat gerak pada salah satu ujungnya, 4) amfitrik, mempunyai alat gerak tunggal pada kedua ujungnya, 5) peritrik, mempunyai alat gerak pada semua bagian badannya.

Banyak bakteri Gram negatif yang memiliki bagian-bagian seperti filamen yang sebenarnya bukan termasuk flagel. Pili yang memiliki ukuran yang lebih mungil, lebih sedikit, juga biasanya dominan flagella. Sebagian rambut-rambut halus memiliki fungsi sebagai media agar dapat menempel

pada bagian dasarnya.

4. Morfologi sel bakteri

a. Ukuran

Satuan ukuran mikroba adalah micrometer (μm), yang memiliki persamaan dengan $1/1000$ mm atau 10^{-3} . Mikroba memiliki ukuran diperkirakan $0,5-1,0 \times 2,0-5 \mu\text{m}$. Sel mikroba yang khusus memiliki diameter $0,5$ sampai dengan $1,5 \mu\text{m}$ dan memiliki panjang $1,0$ hingga $3,0 \mu\text{m}$ dan memiliki diameter berkisar dari $0,1$ sampai dengan $0,2 \mu\text{m}$. Golongan mikroba diketahui dengan sebutan mikoplasma, memiliki ukuran yang khusus yang sangat mini yaitu memiliki ukuran $0,001 \mu\text{m}$ hingga tak terlihat di bawah sinar mikroskop. Mikroba tercatat dalam kelompok pleumorfik merupakan struktur tubuh mikroba yang sangat beragam (Gandjar, 2006).

Kesulitan dalam memahami mikroba yang memiliki ukuran yang sangat mini dari sisi kuantitatif contohnya seperti yang dimaksudkan oleh Widiawati dan Suliasih (2006), yang menyebutkan bahwa dalam satu volume sebanyak 1 cm^3 atau diperkirakan setengah triliun mikroba yang memiliki bentuk batang skala rata-rata. Rekapitulasi memperlihatkan dan diperkirakan 1 triliun (10^{12}) mikroba yang memiliki berat 1 g , nilai tersebut merupakan nilai yang tinggi bila dibandingkan bersama mikroorganisme yang skalanya lebih besar. Karakteristik khusus yang dimiliki oleh sel bakteri dapat dikenali bila disamakan antara luas permukaan terhadap volumenya dihitung dari sisi praktis hal ini dapat diartikan bahwa volume satu mikroba dapat terbuka

terhadap garis permukaan jarak dinding sel dan nutrisi di sekitarnya Karakter tersebut adalah penyebab tingginya pertukaran zat pada organisme maupun perkembangan mikroba. Satu gram tanah pada tingkatan bagian atas yang sifatnya produktif dapat memuat lebih dari 1 milyar bakteri. Para peneliti memperkirakan bahwa bobot atau ukuran mikroba, per hektar dimungkinkan lebih 2000 pon atau 2000 kilogram per hektar (Gandjar, 2006).

b. Bentuk

Berdasarkan bentuknya mikroba dibagi atas 3 kelompok besar diantaranya:

a. Bakteri berbentuk bulat (kokus)

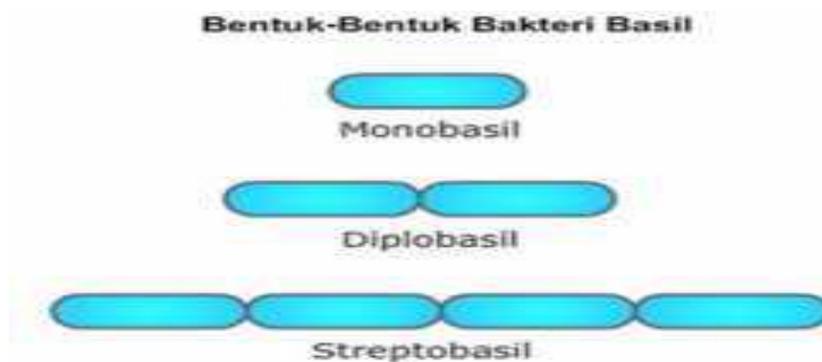
Bakteri berbentuk bulat atau dikenal sebagai coccus, bakteri ini dibedakan atas : 1) monokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat tunggal, 2) diplokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat yang bergandengan dua-dua, 3) sarkina, yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkelompok empat-empat sehingga bentuknya mirip kubus, 4) streptokokus yaitu bakteri bentuk bulat yang berkelompok memanjang rantai, dan 5) stafilocokus yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur sehingga bentuknya mirip kumpulan buah anggur (Rini & Jamilatur, 2020).



Gambar 1. Berbagai bentuk-bentuk bakteri kokus
(Sumber : <http://Wikipedia.org/wiki>)

b. Bakteri bentuk batang (basil)

Bakteri berbentuk batang dikenal sebagai basil. Kata basil berasal dari *bacillus* yang berarti batang, bentuk basil dibedakan atas : 1) basil tunggal yaitu bakteri yang hanya berbentuk satu batang tunggal, 2) diplobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dua-dua, 3) streptobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dengan memanjang membentuk rantai (Rini & Jamilatur, 2020).



Gambar 2. Berbagai bentuk-bentuk bakteri basil
(Sumber : <http://Wikipedia.org/wiki>)

c. Bakteri berbentuk spiral

Bakteri berbentuk spiral dibedakan atas : 1) spiral, yaitu golongan bakteri yang bentuknya seperti spiral, 2) vibrio, ini dianggap sebagai bentuk spiral tak sempurna, 3) spiroseta yaitu golongan bakteri berbentuk spiral yang bersifat lentur, tubuhnya dapat memanjang dan mengerut (Rini & Jamilatur, 2020).



Gambar 3. Berbagai bentuk-bentuk bakteri spirilia
(Sumber : <http://Wikipedia.org/wiki>)

5. Pertumbuhan dan reproduksi bakteri

Beberapa mikroba akan memperbanyak diri dengan pembelahan aseksual yaitu satu sel yang akan menggeraikan membentuk dua sel yang sama. Beberapa mikroba mampu membuat bentuk reproduktif yang lebih canggih yang memfasilitasi proses pembelahan dua sel yang baru terbentuk. Sebagian menguraikan setiap 20 menit dan dimungkinkan akan melipat gandakan diri dengan pesat saat kondisi yang lebih produktif. Telah diperkirakan apabila mikroba memperbanyak diri setiap jam dan setiap

mikroba akan membuat perlakuan yang identik, sehingga 17 juta sel akan dihasilkan dalam satu hari (Foth & Adisoemarto, 1994).

Pertumbuhan bakteri yang terkontrol akan melewati empat fase yang berbeda diantaranya : 1) Fase *lag* atau fase penyesuaian, pada fase ini perubahan bentuk dan pertumbuhan jumlah individu belum terlihat jelas. Mikroba beradaptasi untuk menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungan sekitar. Waktu yang dibutuhkan untuk beradaptasi sekitar 5 menit hingga berjam-jam. Pada fase ini belum atau tidak ada sumber nutrisi untuk mikroba, belum terjadi pembelahan sel karena enzim belum disintesis. 2) Fase logaritmik/eksponensial, pada fase ini mulai terjadi perubahan bentuk, pembelahan sel dengan cepat dan peningkatan jumlah sel secara maksimum. Peningkatan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kandungan sumber nutrisi sebagai bahan makan untuk mikroba. 3) Fase stasioner, merupakan fase keseimbangan antara pertumbuhan dan kematian sel. Pada fase ini sumber nutrisi mulai berkurang. 4) Fase kematian, pada fase ini nutrisi sudah habis, energi cadangan di dalam sel habis, proses metabolisme berhenti, laju kematian meningkat dan ada kemungkinan sel-sel dihancurkan oleh pengaruh enzim yang berasal dari sel itu sendiri (autolisis) sehingga mikroba tidak mampu bertahan hidup dan mengalami kematian (Rini dan Jamilatur, 2020).

6. Pembagian bakteri

Bakteri dapat diartikan dengan berbagai cara, salah satunya yang paling sering digunakan adalah dengan menggunakan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram merupakan teknik mikrobiologi dasar untuk dapat mendeteksi dan dapat mengidentifikasi bakteri atau mikroba. Teknik dari pewarnaan Gram diawali dengan pemberian pewarnaan basa, kristal violet. Larutan iodin selanjutnya ditambahkan; semua bakteri akan terwarnai biru pada fase ini. Sediaan kemudian diberi alkohol. Sel Gram positif akan tetap mengikat senyawa kristal violet iodin sehingga akan berwarna biru, sedangkan untuk Gram negatif akan hilang warnanya dikarenakan adanya pemberian alkohol.

Bakteri menunjukkan berbagai keragaman yang luas dalam has respons terhadap oksigen bebas, dan atas dasar ini maka bakteri dibagi menjadi empat kelompok: 1) aerobik atau organisme yang membutuhkan oksigen), 2) anaerobik atau tumbuh tanpa oksigen molekuler, 3) anaerobik fakultatif atau tumbuh pada keadaan aerobik dan anaerobik dan 4) mikroaerofilik atau tumbuh terbalik jika sedikit oksigen atmosferik. Keadaan fisik yang telah mempengaruhi pertumbuhan bakteri menurut Widiawati dan Suliasih (2006).

Pertumbuhan dengan ada atau tidak ada oksigen diambil sebagai penentu untuk dapat membedakan dalam kondisi ada atau tidaknya adanya oksigen. Faktor lain yang dapat mempengaruhi populasi bakteri atau mikroba di dalam tanah yaitu pH, praktik pertanian, pemupukan, pemakaian peptisida dan penambahan bahan organik. Di alam, faktor-faktor pertumbuhan utama yang dapat membatasi adalah zat hara atau sumber energi. Beberapa bakteri telah membentuk spora jika kondisi menjadi tidak menguntungkan. Kebanyakan bakteri cukup resisten terhadap pengeringan, dan beberapa terdapat pada tanah kering udara selama beberapa tahun (Utomo, 2008).

Bakteri dapat menimbulkan berbagai perubahan kimiawi pada substansi yang ditumbuhinya, dan mampu menghancurkan banyak zat. Organisme atau bakteri tersebut sangat penting untuk dapat memelihara lingkungan yaitu dengan menghancurkan bahan yang telah menumpuk di dalam daratan maupun lautan. Organisme atau bakteri ini sangat luas penyebarannya dalam dan pada permukaan bumi, di atmosfer, dan di lingkungan sehari-hari. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme dalam tanah yang paling dominan dalam berbagai macam jenis tanah akan tetapi populasinya akan mengalami penurunan dengan bertambahnya kedalaman pada tanah. Secara umum, untuk profil horizon A terdiri dari banyak mikroorganismenya daripada horizon B dan C (Mulyani *et al.*, 1996).

B. Antimikroba

1. Definisi antimikroba

Antimikroba merupakan senyawa kimia yang telah dihasilkan oleh fungi maupun bakteri, senyawa tersebut mempunyai manfaat atau kelebihan untuk dapat memusnahkan ataupun dapat menghambat pertumbuhan kuman patogen sedangkan toksisitas terhadap manusia relatif kecil. Persyaratan mengenai klasifikasi antimikroba menurut Waluyo (2004), antimikroba adalah suatu senyawa kimia yang telah didapatkan atau telah dibangun dan dihasilkan oleh mikroorganisme, senyawa tersebut memiliki daya penghambat aktivitas mikroorganisme lain meskipun dalam jumlah yang sedikit. Definisi antimikroba menurut Entjang (2003) antimikroba merupakan senyawa atau zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang telah memiliki manfaat antimikroba.

2. Sifat-sifat antimikroba

Sifat-sifat yang perlu dimiliki oleh senyawa antimikroba menurut Waluyo (2004) diantaranya :

- a. Dapat menghambat ataupun dapat memusnahkan mikroba patogen tanpa merusak hospes atau inang yaitu antimikroba dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan mikroba dan bahkan dapat menghentikan pertumbuhan dari bakteri atau dapat membunuh tetapi tidak berpengaruh atau merusak pada hospes.

- b. Harus bersifat bakterisida dan bukan bakteriostatik yang artinya antimikroba tersebut ada baiknya bersifat bakterisida atau bersifat dapat menghentikan kecepatan pertumbuhan atau dapat membunuh mikroba bukan bakteriostatik yang hanya dapat menghambat kecepatan pertumbuhan dari mikroba tersebut.
- c. Tidak diperbolehkan menyebabkan terjadinya resistensi pada kuman atau mikroba, yang artinya antimikroba tidak bisa menimbulkan kekebalan kepada mikroba sehingga antimikroba tidak bisa untuk digunakan dalam menghentikan laju pertumbuhan mikroba patogen.
- d. Berspektrum luas, yang artinya antimikroba harus efektif digunakan dalam berbagai macam spesies bakteri baik bakteri kokus, ataupun basil dan spiral.
- e. Tidak diperbolehkan menimbulkan alergenik ataupun tidak diperbolehkan menimbulkan efek samping jika dipergunakan dalam jangka waktu yang lama, yang artinya antimikroba yang dipergunakan sebagai obat tidak menimbulkan efek samping kepada penggunanya apabila dipakai dalam jangka waktu yang lama.
- f. Zat antimikroba tetap aktif dalam plasma, cairan pada tubuh ataupun eskudat, antimikroba yang berada dalam plasma ataupun cairan dalam tubuh tetap harus memiliki yang aktif dan tidak dalam kondisi berhenti tumbuh ataupun dormansi.

- g. Zat antimikroba mampu larut di dalam air dan akan tetap stabil, antimikroba mampu larut dan dapat menyatu di dalam air.

3. Mekanisme kerja zat antimikroba

Para ahli telah mengatakan bahwasanya mekanisme kerja zat atau senyawa antimikroba mampu mengganggu bagian-bagian yang peka di dalam sel, diantaranya sebagai berikut :

a. Antimikroba menghambat metabolisme sel

Untuk dapat mempertahankan keberlangsungan hidupnya, maka mikroba sangat membutuhkan asam folat. Mikroba atau bakteri patogen memperoleh asam folat dari luar tubuh, sehingga mikroba atau bakteri harus mensintesis asam folat tersebut sendiri. Zat atau senyawa antimikroba akan mengganggu proses pembentukan asam folat, sehingga dapat menghasilkan asam folat yang non fungsional dan metabolisme dalam sel mikroba dapat terganggu (Setiabudy, 2007).

b. Antimikroba menghambat sintesis protein

Mekanisme kerja dari antibiotik yang menghambat translokasi peptidil-tRNA dapat menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA dan mengakibatkan bakteri tidak mampu mensintesis protein yang dibutuhkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya (Pratiwi, 2008).

c. Antimikroba menghambat sintesis dinding sel

Mikroorganisme dikelilingi oleh struktur yang sifatnya kaku seperti halnya dengan dinding sel yang memiliki fungsi mampu melindungi membran

protoplasma yang terdapat di dalam sel. Senyawa atau zat antimikroba dapat merusak dan dapat mencegah adanya proses sintesis pada dinding sel, sehingga mampu mengakibatkan terbentuknya sel yang peka terhadap tekanan osmotik (Waluyo, 2004).

d. Antimikroba menghambat permeabilitas membran sel

Membran sel memiliki fungsi sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, dan melakukan pengangkutan aktif serta mampu mengendalikan susunan yang ada di dalam sel. Membran sel yang mempengaruhi konsentrasi metabolit maupun bahan gizi yang terdapat di dalam sel dan tempat berlangsungnya pernapasan sel beserta aktivitas sel biosintesis tertentu. Terdapat beberapa antimikroba mampu merusak salah satu fungsi daripada membran sel sehingga mampu mengakibatkan adanya gangguan pada kehidupan sel (Waluyo, 2004).

e. Antimikroba merusak asam nukleat (DNA/RNA)

Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat adalah antibiotik golongan kuinolon dan rifampisin. Rifampisin menghambat sistem mRNA dengan cara mengikat sub unit β -RNA polymerase bakteri sehingga menghambat transkripsi mRNA. Antibiotik golongan kuinolon bekerja dengan cara menghambat enzim DNA girase pada replikasi DNA, sehingga menghambat proses replikasi DNA dan transkripsi mRNA (Pratiwi, 2008).

f. Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial

Penghambatan terhadap sintesis metabolit esensial antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme (Pratiwi, 2008).

4. Metode pengujian daya antimikroba

Pada pengujian daya daripada zat atau senyawa antimikroba yang dilakukan penilaian ataupun dilakukan pengukuran yaitu adanya respons pertumbuhan terhadap mikroba atau mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Salah satu keunggulan pengujian antibakteri adalah diperolehnya satu sistem pengobatan yang lebih efektif dan lebih efisien. Berbagai cara pengujian antimikroba sebagai berikut :

a. Metode dilusi

Keuntungan utama dari metode dilusi dapat memperkirakan konsentrasi senyawa uji dalam medium agar atau suspensi broth, biasanya digunakan untuk menentukan nilai KHM. Pada metode dilusi agar, medium diinokulasi dengan organisme uji dan sampel yang di uji dicampur dengan inokulum. Material yang diinokulasi dan pertumbuhan mikroorganisme dapat terlihat dan dibandingkan dengan kultur kontrol yang tidak mengandung sampel uji. Pengujian diulang dengan variasi dilusi sampel uji dalam medium kultur dan menentukan dilusi yang paling tinggi dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme sampel (Choma & Edyata, 2010).

Kadar hambat minimum (KHM) yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi yang diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

b. Metode difusi

Pada metode difusi ini, merupakan menentukan aktivitas berdasarkan pada kemampuan difusi dari zat atau senyawa dari antimikroba terhadap lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan menggunakan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh merupakan ada atau tidak ada zona hambatan atau zona inhibisi yang terbentuk di sekitaran zat antibakteri pada saat masa inkubasi tertentu. Pada metode difusi ini bisa dilakukan dengan tiga cara yaitu :

1) Cara cakram (disk)

Cara cakram atau disk merupakan cara yang paling sering dipakai dalam menentukan kepekaan terhadap bakteri dengan menggunakan berbagai macam obat-obatan. Pada cara cakram atau disk ini juga digunakan suatu cakram kertas saring atau *paper disk* yang berfungsi sebagai tempat untuk dapat menampung zat atau senyawa antibakteri. Kertas saring tersebut lalu diletakkan pada lempeng agar, kemudian setelah diinkubasi pada waktu

tertentu dan suhu tertentu, selanjutnya disesuaikan dengan keadaan optimum dari bakteri uji tersebut. Pada umumnya, hasil yang telah diperoleh mampu diamati setelah diinkubasi selama 18 sampai 24 jam dengan suhu 37 °C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.

2) Cara parit (ditch)

Pada lempeng agar yang telah menjadi padat dibuat lekukan yang memanjang dan dangkal dengan menggunakan pisau/*scalpel* steril dan pinset. Bahan antimikroba yang diuji dimasukkan kedalam celah panjang tersebut, lalu bakteri uji digoreskan tegak lurus terhadap celah tersebut dan diinkubasi 18-24 jam. Kemampuan bahan antimikroba menghambat pertumbuhan bakteri dapat terlihat pada area dekat *ditch.*, dengan metode *ditch diffusion* dapat diamati lebih dari satu bahan antimikroba dan dengan lebih darisatu bakteri uji sekaligus (Rice *et al*, 1950).

3) Cara sumuran

Suspensi bakteri yang diuji digoreskan merata pada permukaan lempeng agar, kemudian dibuat lubang dengan menggunakan pipet berdiameter 6-8 mm sehingga muat 20-100 µl bahan antimikroba yang diujikan (Balouiri *et al*, 2016).

C. Bakteri Uji

1. *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococci adalah flora normal pada kulit, lubang hidung dan membran mukosa pada manusia. Bakteri *S. aureus* ini pertama kali diamati dan dibiakkan oleh Pasteur dan Koch, kemudian dilakukan penelitian lebih lanjut oleh Ogston dan Rosenbach pada tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* pertama kali diberikan oleh Ogston dikarenakan apabila dilakukan pengamatan dengan mikroskop bakteri *S. aureus* akan terlihat seperti setangkai buah anggur. Nama spesies *aureus* telah diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri *S. aureus* terlihat berwarna kuning keemasan (Yuwono, 2012).

Genus *Staphylococcus* paling sedikit 30 spesies, akan tetapi terdapat 3 yang lebih penting di ilmu kedokteran salah satunya *S. aureus*. Berikut klasifikasi *S. aureus* adalah :

Dominan : *Bacteria*
Kingdom : *Eubacteria*
Pylum : *Firmicutes*
Class : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Family : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *S. aureus* (Sumber : Syahrurahman *et al.*, 2010)

b. Morfologi *Staphylococcus aureus*

S. aureus adalah mikroorganisme atau bakteri Gram positif yang memiliki bulat dan memiliki diameter sekitar 0,7-1,2 μm , dan tersusun dalam kelompok yang tidak beraturan seperti halnya dengan buah anggur, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak berflagel atau non motil. Bakteri *S. aureus* ini dapat tumbuh pada suhu optimum 37 °C, akan tetapi juga mampu membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). dan koloni-koloni pada pembedahan media padat akan berwarna abu-abu sampai dengan warna kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau.

c. Patogenitas *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan patogen penting dan lesi umumnya terlokalisasi. Koagulase enzim dan toksin yang diproduksi oleh *S. aureus* menghambat fagositosis dan membentuk dinding bekuan fibrin di sekitar lesi. Strain aureus memiliki sejumlah besar faktor terkait sel dan ekstraseluler, yang berkontribusi untuk virulensi, kemungkinan virulensi adalah multifaktorial pada stafilokokus (Kumar, 2012).

Tabel 1. Toksin *Staphylococcus aureus*

Toksin	Efek
Hemolisin	Sitolik, melisiskan eritrosit
Koagulase	Menggumpalkan plasma
Fibrinogen	Mencerna fibrin
Leukosit	Merusak Leukosit
Hyalurodinase	Merusak asam hyaluronat
DNase	Hidrolisis DNA
Protein A	Lipolitik
Kapsul	Antifagositik
Toksin Epidermolisis	Pengelupasan epidermidis
Enterotoksin	Diare dan muntah
Toksin syok sindrom toksin 1	Deskuamasi, syok dan rash

Sumber : Timbury *et al.*, 2002

Sindroma syok toksik atau SST pada infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* akan timbul secara tiba-tiba dengan adanya gejala seperti demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. SST sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang masih menggunakan tampon, ataupun pada anak-anak dan pria yang memiliki luka yang telah terinfeksi stafilokokus. *S. aureus* ini dapat diisolasi dari vagina, tampon, luka atau infeksi lokal lainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz, 2008).

d. Methicillin resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik dapat terjadi dengan beberapa cara, diantaranya (Pratiwi, 2008) :

- a. Bakteri mensintesis suatu enzim inaktivator atau penghancur antibiotik.
- b. Mengubah permeabilitas terhadap antibiotik.
- c. Mengembangkan suatu perubahan struktur sasaran bagi antibiotik.
- d. Mengembangkan perubahan jalur metabolik yang langsung dihambat oleh antibiotik.

Metisilin adalah penisilin yang telah dimodifikasi dan telah diperkenalkan pada tahun 1960-an. Antibiotik tersebut telah digunakan untuk dapat mengobati infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* yang telah resisten terhadap sebagian besar penisilin. Tahun 1961 strain *S. aureus* yang telah resisten terhadap metisilin kemudian ditemukan yang lebih dikenal dengan MRSA (Juuti, 2004). Terdapat kecemasan baru pada tahun 1996 dikarenakan adanya penyebaran MRSA yang telah menurun kepekaanya terhadap vankomisin (Yuwono, 2010).

Tabel 2. Kronologi infeksi *S. aureus* dan resistensinya

Tahun	Kejadian
1940	Penicilin diperkenalkan
1942	Muncul <i>S. aureus</i> resisten penicillin
1959	Metisilin diperkenalkan, sebagian besar strain dari <i>S. aureus</i> di rumah sakit dan masyarakat resisten penicillin
1961	Muncul MRSA
1963	Muncul wabah MRSA di rumah sakit yang pertama
1968	Ditemukan strain MRSA yang pertama di rumah sakit Amerika
1970-an	Penyebaran koloni MRSA secara global, kejadian MRSA yang sangat tinggi di Eropa Utara
1980-an	Penurunan kejadian MRSA yang dramatis dengan adanya program “ <i>search and destroy</i> ” di Eropa Utara
1996	VRSA dilaporkan di Jepang
1997	Muncul VISA, dilaporkan adanya infeksi CA-MRSA yang serius
2002	Terjadi infeksi VRSA yang pertama di Amerika
2003	Peningkatan kejadian MRSA hampir 60% di ICU, wabah CA-MRSA dilaporkan terjadi di banyak tempat dan berimplikasi pada wabah di rumah sakit
2006	>50% infeksi kulit stafilokokus muncul di bagian gawat darurat yang disebabkan CA-MRSA, peningkatan HA-MRSA, perbedaan keduanya secara epidemiologi semakin sulit
2007	“The Year of MRSA”

Sumber : Biantoro, 2008

Pada saat ini, MRSA dikelompokkan menjadi 2 (dua) kelompok diantaranya *Healthcare Associated MRSA* (HA-MRSA) dan *Community Associated MRSA* (CA-MRSA). HA MRSA yang kemudian oleh CDC diartikan sebagai infeksi MRSA yang terjadi pada individu yang telah dirawat di rumah sakit atau yang telah menjalani operasi selama 1 tahun terakhir, dan memiliki alat bantu medis dan berada dalam perawatan jangka waktu yang panjang.

HA-MRSA memiliki resisten yang sangat tinggi dan juga merupakan penyakit nosokomial (Lamont *et al.*, 2006).

Table 3. Perbedaan CA-MRSA dan HA-MRSA

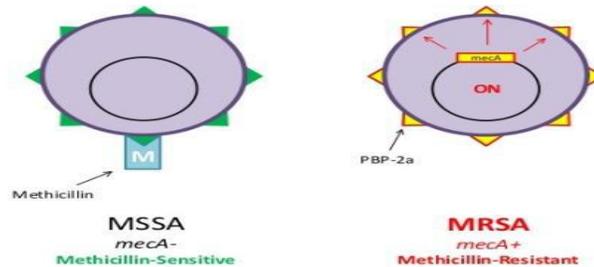
	HA-MRSA	CA-MRSA
Faktor risiko	Pasien diruang perawatan dalam jangka waktu lama, pasien dengan diabetes mellitus pasien yang melakukan hermodialisasi atau peritoneal dialysis, perawatan dengan waktu yang lama, penyebaran di ICU, pemasangan kateterisasi pada pasien	Anak-anak, atlet, angkatan laut, suku tertentu (suku asli Amerika/ suku asli Alaska, pulau disekitar laut pasifik), penggunaan obat secara intravena, Homoseksual
Tipe strain	USA 100 & 200	USA 300 & 400
Resistensi antibiotic	<i>Multidrug resistance</i>	Hanya resistensi β -lactam
Toksin PVL	Jarang (5%)	Banyak (100%)

Sumber : Biantoro, 2008

a. Gen MecA

Resistensi MRSA terhadap beberapa antimikroba dimainkan oleh 2 (dua) kelompok gen, diantaranya kelompok gen utama yang memiliki peran mendasari resistensi terhadap antimikroba β -lactam dan kelompok gen yang lainnya dan juga memiliki peran mendasari resistensi terhadap antimikroba non betelaktam. Resistensi MRSA terhadap antimikroba non beta laktam khususnya terjadi dikarenakan adanya perubahan pada molekul reseptor atau karena adanya antimikroba yang telah dipompa secara aktif keluar sel yang dikenal dengan mekanisme *efflux* (Yuwono, 2010).

mecA-encoded Methicillin Resistance



Gambar 4. *mecA* pada MRSA

(Sumber : <https://www.slideshare.net/ucsdavrc/aids-clinical-rounds062014ha>)

Gen *mecA* bisa diidentifikasi dengan menggunakan PCR dua sekuen primer yaitu, *forward primer* : 5' AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C-3' dan *revers primer* 5'- AGT GCA GTA CGT GAT TTG C-3'. Hasil dari amplifikasi akan dianalisis dengan elektroforesis. Gen *meCA* yang merupakan bagian *conserved* atau terpelihara dari semua elemen genetik yang dikenal dengan *meCDNA* atau *Staphylococcus cassette chromosome mec* (SCC*mec*). Gen *meCA* dan SCC*mec* tidak didapatkan pada strain *S. aureus* sensitif metisilin (Yuwono, 2012).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

a. Deskripsi *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa adalah bakteri atau kuman patogen oportunistik yang mampu mengakibatkan kondisi yang invasif pada pasien dengan penyakit kritis dan pada pasien yang mempunyai tingkat imunitas yang sangat rendah. Pada dasarnya, kuman ini sering didapatkan sebagai penyebab infeksi

nosokomial pada rumah sakit khususnya di ruangan *Intensive Care Unit* (ICU) (Putri *et al.*, 2014).

b. Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*

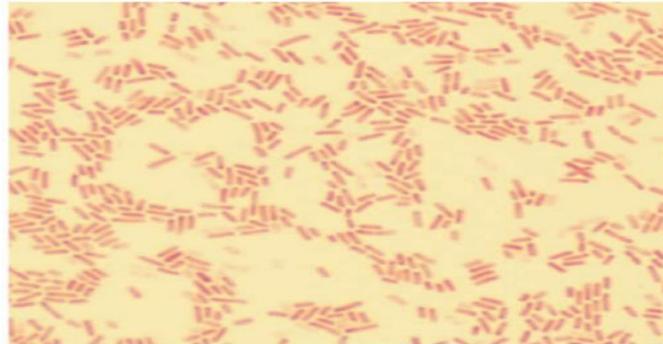
Pemberian nama bakteri terhadap *P. aeruginosa* yang menggunakan sistem penamaan binomial. Klasifikasi dari bakteri *P. aeruginosa* yaitu (Siegrist, 2010) :

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Proteobacteria*
Class : *Gamma Proteobacteria*
Order : *Pseudomonadales*
Familiy : *Pseudomonadadaceae*
Genus : *Pseudomonas*
Species : *Aeruginosa*

c. Morfologi dan identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

1). Ciri khas *Pseudomonas aeruginosa*

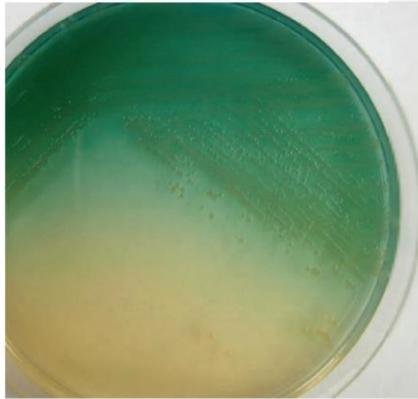
P. aeruginosa memiliki sifat motil dan memiliki bentuk batang, serta memiliki ukuran sekitar 0,6 x 2 μm . Bakteri *P. aeruginosa* ini merupakan kelompok bakteri gram negatif dan mampu muncul dalam bentuk yang tunggal, selain itu dapat pula berpasangan atau kadang-kadang dapat muncul dalam keadaan bentuk rantai pendek (Brooks *et al.*, 2013).



Gambar 5. *P. aeruginosa* dengan pewarnaan Gram (Sumber : Brooks *et al.*, 2013)

2). Biakan *P. aeruginosa*

P. aeruginosa mampu membentuk koloni yang memiliki ukuran yang besar dan permukaan yang halus dan permukaan yang rata dan meninggi (*fried egg appearance*) serta koloni halus dan mukoid yang biasanya di dapat dari sekresi saluran pernapasan maupun pada saluran kemih (Todar, 2012). Bakteri *P. aeruginosa* ini juga mampu menghasilkan pigmen piosianin, pigmen kebiru-biruan yang tidak berfluoresensi, yang berdifusi kedalam media agar. Spesies dari *Pseudomonas* yang lainnya tidak dapat menghasilkan piosianin. Banyak dari bakteri atau strain *P. aeruginosa* mampu memproduksi pigmen pioverdin yang berfluoresensi, yang dapat memberikan warna yang kehijauan pada media agar. Berbagai bakteri atau strain dapat memproduksi pigmen piorubin yang berwarna merah gelap ataupun pigmen piomelanin yang berwarna hitam (Brooks *et al.*, 2013).



Gambar 6. *P. aeruginosa* memproduksi pigmen pioverdin yang memberikan warna kehijauan pada agar dan pigmen pioisianin yang berwarna kebiru-biruan (Sumber : Brooks *et al.*, 2013).



Gambar 7. Koloni *P. aeruginosa* pada media blood agar plate menunjukkan adanya hemolisis (Sumber : Brooks *et al.*, 2013).

P. aeruginosa yang telah dibiakkan dapat membentuk berbagai jenis koloni. Masing-masing jenis koloni mampu memiliki aktivitas biokimia beserta enzimatik yang berbeda serta pola kepekaan antibakteri yang berbeda pula. Terkadang tidak diketahui jelas apakah dalam suatu jenis koloni adalah strain dari *P. aeruginosa* yang berbeda atau varian dari strain yang sama (Sinulingga, 2015).

3). Sifat pertumbuhan *P. aeruginosa*

Pertumbuhan dari bakteri *P. aeruginosa* pada suhu 42 °C sangat membantu dalam membedakan spesies *Pseudomonas* yang lain dalam kelompok fluoresen. Bakteri *P. aeruginosa* memiliki sifat yang oksidasi positif tidak dapat menfermentasi laktosa sehingga dengan mudah dapat dibedakan dengan bakteri *lactose-fermenter*, akan tetapi banyak strain bakteri yang dapat mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya berdasarkan morfologi dari koloni, dan sifat oksidasi positif, serta adanya pigmen yang khas (Kasper, 2015).

4). Struktur antigen dan toksin

Pili menjulur dari permukaan sel dan akan membantu dalam pelekatan pada sel epitel pejamu. Eksopolisakarida adalah komponen yang dapat menyebabkan koloni mukoid sehingga terlihat pada biakan pasien dengan fibrosis kistik. Lipopolisakarida, yang ada dalam berbagai imunotipe, akan bertanggung jawab terhadap sifat endotoksik organisme (Cigana *et al.*, 2011). *P. aeruginosa* ini dapat dikelompokkan berdasarkan imunotipe lipopolisakarida dan kepekaanya terhadap piosin (bakteriosin). Sebagian besar isolat dari *P. aeruginosa* yang berasal dari infeksi klinik akan menghasilkan enzim ekstraseluler, seperti elastase, protease, dan 2 (dua) hemolisin (fosfolipase C tidak tahan panas dan glikolipid tahan panas).

Banyak dari strain *P. aeruginosa* mampu menghasilkan eksotoksin A, dan dapat bereaksi setiap kali berikatan dengan sel inang sehingga dapat

mengakibatkan nekrosis jaringan dan akan bersifat lebih letal untuk binatang jika disuntikkan dalam bentuk yang murni. Eksotoksin tersebut dapat menghambat sintesis protein melalui suatu mekanisme kerja yang sama dengan mekanisme toksin difteri, walaupun struktur dari kedua toksin tersebut tidak ada kesamaan. Antitoksin terhadap eksotoksin A dapat ditemukan pada beberapa serum pada manusia, seperti pada pasien yang telah sembuh dari infeksi berat *P. aeruginosa* (Sinulingga, 2015).

5). Patogenesis

Bakteri yang patogen memiliki sifat yang oportunistik seperti halnya pada bakteri *P. aeruginosa*, kemunculan penyakit yang dimulai dengan adanya gangguan atau kelainan dari sistem pertahanan pada tubuh yang normal (Todar, 2012). Bakteri *P. aeruginosa* ini dapat melekat dan dapat membentuk koloni pada membran mukosa ataupun pada kulit, serta menginvasi secara lokal, dan dapat menyebabkan terjadinya penyakit yang sistemik (Brooks *et al.*, 2013).

Kebanyakan infeksi *Pseudomonas* ini dapat bersifat invasif dan dapat pula bersifat toksinogenik. Infeksi bakteri *Pseudomonas* yang paling utama, adalah terjadi dalam 3 fase berbeda : (1) adanya perlekatan bakteri dan kolonisasi; (2) invasi lokal; (3) penyebaran penyakit yang bersifat sistemik. Faktor penentu patogenitas yang sangat berperan dalam fase ini dan juga dapat memberikan pengaruh utama pada sindrom yang khas dan akan muncul secara bersamaan dengan penyakit yang timbul (Todar, 2012).

6). Manifestasi klinis infeksi

P. aeruginosa dapat menimbulkan infeksi pada luka maupun pada luka bakar, dan juga dapat menyebabkan pus hijau kebiruan, meningitis apabila masuk lewat punksi lumbal, dan infeksi saluran kemih apabila masuk bersamaan dengan kateter dan instrumen atau alat yang lain ataupun dalam larutan untuk irigasi (Brooks *et al.*, 2013,). Keterlibatan pada saluran pernapasan, khususnya pada respirator yang telah mengalami kontaminasi, dapat mengakibatkan *Pneumonia* yang disertai dengan nekrosis. Infeksi telinga yang paling serius yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* adalah otitis eksterna maligna dan nekrosis otitis eksterna (Kasper, 2015).

Otitis eksterna ringan sering kali terjadi pada perenang sedangkan pada otitis eksterna invasive maligna sering kali terjadi pada penderita diabetes (Brooks *et al.*, 2013). Infeksi mata akibat *P. aeruginosa* dapat terjadi terutama disebabkan oleh inokulasi langsung ke jaringan setelah terjadinya trauma ataupun kerusakan kornea oleh karena lensa kontak. Keratitis dan ulkus kornea merupakan jenis penyakit mata yang paling umum dan sering diikaitkan dengan lensa kontak (Kasper, 2015).

Pada bayi ataupun pada orang yang memiliki kondisi lemah dapat menyerang aliran darah dan dapat mengakibatkan sepsis yang fatal, biasanya akan terjadi pada penderita leukemia ataupun pada penderita limfoma yang telah mendapatkan obat antineoplastik ataupun terapi radiasi, dan pada penderita dengan luka bakar yang berat (Brooks *et al.*, 2013). Pada

sebagian besar infeksi, gejala maupun tanda-tandanya tidak spesifik dan akan berkaitan dengan organ yang terlibat. Terkadang, verdoglobin atau suatu produk pemecahan hemoglobin ataupun pigmen yang berfluoresen dapat dengan mudah dideteksi pada luka, luka bakar, atau urin dengan adanya penyinaran fluoresen ultraviolet (Brooks *et al.*, 2013). Nekrosis hemoragik pada kulit seringkali terjadi pada sepsis akibat *P. aeruginosa*. Lesi yang dikenal dengan ektima gangrenosum ini telah dikelilingi oleh eritema, dan warna luka yang awalnya berwarna merah muda akan berubah menjadi ungu kemudian menjadi nekrosis (Kasper, 2015).

P. aeruginosa dapat dilihat pada spesimen dari lesi ektima yang telah diberikan pewarnaan gram, dan biakannya yang positif (Brooks *et al.*, 2013). Penyakit yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* selain pyoderma gangrenosum pada pasien neutropenia, folikulitis dan lesi popular atau vesikular lainnya arena telah dijelaskan secara luas maupun secara kolektif sebagai dermatitis. Beberapa wabah telah dikaitkan dengan spa dan kolam renang. Pertumbuhan *P. aeruginosa* di rumah maupun yang ada di lingkungan rekreasinya harus dikontrol dengan klorinasi air yang tepat sehingga dapat mencegah wabah tersebut (Kasper, 2015).

7). Diagnosis laboratorium

a). Spesimen

Spesimen yang telah diambil dari lesi kulit, urin, pus, darah, cairan spinal, sputum, maupun pada bahan lain yang harus diambil sesuai dengan jenis infeksi (Brooks *et al.*, 2013).

b). Hapusan

Batang Gram negatif sering terlihat pada hapusan, tidak ada karakteristik morfologi yang spesifik yang dapat membedakan *Pseudomonas* enterik atau batang Gram negatif lain (Brooks *et al.*, 2013).

c). Biakan

Spesimen kemudian ditanam pada lempeng agar darah dan pada media diferensial yang biasanya digunakan untuk membiakkan bakteri batang Gram negatif enterik. *Pseudomonas* akan tumbuh dengan cepat pada sebagian besar media tersebut, akan tetapi dimungkinkan dapat tumbuh lebih lambat jika dibandingkan dengan enterik. *P. aeruginosa* tidak dapat menfermentasikan laktosa dan dapat dengan mudah dibedakan dari bakteri peragi laktosa yang lainnya. Biakan merupakan tes spesifik dari diagnosis infeksi *P. aeruginosa* (Brooks *et al.*, 2013).

8). Epidemiologi dan penanganan

Laporan laboratorium tentang bakterimia merupakan indikator yang sangat penting dari berbagai penyakit infeksi yang berat. Di Amerika Serikat *P. aeruginosa* telah menempati urutan ketujuh yang paling sering

menyebabkan bakterimia, dengan prevalensi secara keseluruhan dari infeksi adalah 4%. Angka kejadian dari infeksi bakterimia adalah 7,3 per 100.000 populasi (Loveday, 2014).

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang patogen nosokomial yang paling utama, sehingga metode yang digunakan untuk dapat mengendalikan infeksi ini dengan menggunakan metode untuk patogen nosokomial lainnya. Kemampuannya untuk tumbuh subur pada lingkungan yang basah menuntut perhatian khususnya pada bak cuci, bak air, pancuran, bak air panas, dan daerah basah yang lain (Brooks *et al.*, 2013).

9). Pengobatan dan resistensi

Infeksi yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* secara klinis tidak diperbolehkan diobati dengan terapi obat tunggal dikarenakan bakteri tersebut dapat dengan cepat menjadi resisten jika diberikan obat tunggal. Golongan penisilin dengan spektrum yang luas seperti piperasklin aktif dalam melawan *P. aeruginosa* jika dikombinasi dengan golongan aminoglikosida, biasanya tobramisin (Brooks *et al.*, 2013).

Pada kepekaan *P. aeruginosa* sangat bervariasi secara geografis, dan pengujian mengenai pola sensitivitas bakteri harus dilakukan untuk pemilihan terapi antibakteri (Yayan *et al.*, 2015). *Multidrug resistance* telah menjadi masalah utama dalam manajemen infeksi nosokomial atau HAI (*Hospital-Acquired Infection*) yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* dikarenakan akuisisi

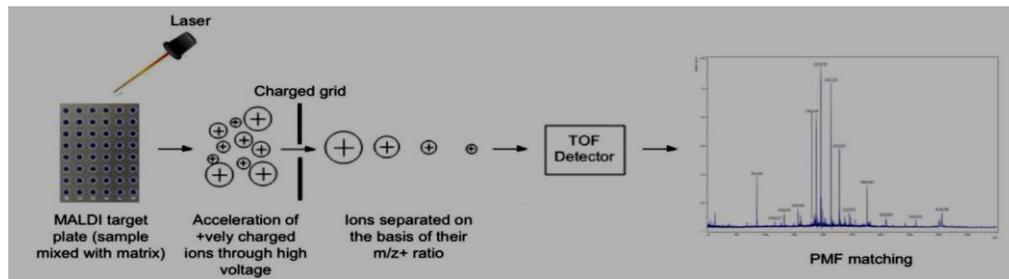
kromosom β -laktamase, enzim *extended-spectrum β -lactamase* (ESBL), mutasi pada kanal porin dan pompa efflus (Streeter & Katouli, 2016).

D. MALDI-TOF Mass Spectrometry

MALDI-TOF MS adalah salah satu metode pemeriksaan yang memiliki spesifikasi yang cepat, akurat dan hemat biaya yang secara luas telah banyak digunakan untuk dapat mengidentifikasi mikroorganisme dengan menggunakan metode dasar identifikasi *gen sequencing* (Ge *et al.*, 2017). Metode pemeriksaan dengan menggunakan MALDI-TOF MS ini menggunakan teknologi dari berbagai macam atau jenis karakteristik atau ciri spektrum daripada sidik jari (*Mass spectral fingerprints*), dimana pada setiap mikroorganisme atau mikroba memiliki kode unik tersendiri sehingga dalam proses identifikasi mikroba atau mikroorganisme mempunyai tingkat keakuratan pada tingkat genus hingga tingkatan spesies yang disertai dengan adanya referensi data base dengan menggunakan berbagai algoritma (Guo, 2014).



Gambar 8. Alat MALDI-TOF MS
(Sumber : Singhal, 2015)



Gambar 9. Diagram skematik alur kerja MALDI-TOF MS (Vitek ® MS)
(Sumber : Singhal, 2015)

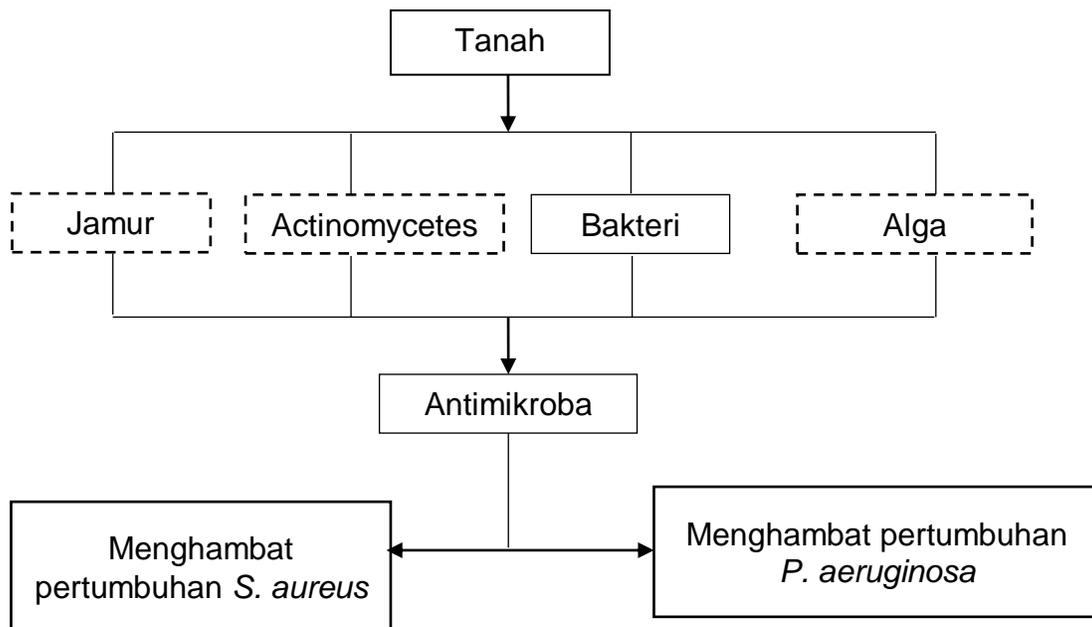
Mass Spectrometri (MS) merupakan metode analisis dengan menggunakan prinsip pemeriksaan struktur protein. Protein terlebih dahulu akan terionisasi kemudian akan menjadi molekul yang memiliki muatan dan memiliki rasion massa pemuatan (m/z) diukur. Meskipun MS telah ditemukan di awal 1900-an, akan tetapi pada zaman itu masih memiliki keterbatasan khususnya pada ilmu kimia . Pada tahun 1980-an saat teknologi *electrospray ionization* (ESI) dan *matrix assisted laser desorption ionization* (MALDI) mengalami perkembangan, hal tersebut mampu meningkatkan pengaplikasian pada MS khususnya pada bidang ilmu biologi, dan mulai mampu melihat molekul-molekul yang ukurannya lebih besar seperti protein. Pada penelitian selanjutnya akan dilaporkan bahwasanya akan lebih baik apabila kondisi lingkungan dan waktu kultur tidak mempengaruhi proses identifikasi pada mikroba oleh MALDI-TOF MS (VITEK® MS, BioMerieux, USA). Meskipun seperti itu, VITEK® MS sebagai alat untuk identifikasi mikroba atau mikroorganisme yang lebih berfokus pada proses identifikasi

bakteri Gram positif dan Gram negatif sehingga database yang dimiliki oleh alat ini kurang sensitif terhadap bakteri yang kurang umum seperti bakteri anaerob tertentu, mycobacteria maupun pada jamur (Patel, 2015).

Tingkat kecepatan maupun keakuratan untuk dapat mengidentifikasi mikroorganisme sangatlah penting untuk dapat menentukan terapi atau pengobatan antimikroba dan dapat meningkatkan kualitas hidup daripada pasien. Identifikasi mikroba atau mikroorganisme dengan memakai MALDI-TOF MS cukup membutuhkan waktu dalam hitungan menit saja, jika dibandingkan dengan menggunakan metode biokimia yang membutuhkan waktu hitungan jam atau hari (Ge, 2017).

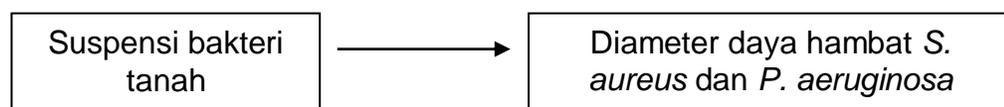
Memakai MALDI-TOF MS (VITEK® MS) dalam proses mengidentifikasi mikroba atau mikroorganisme mampu mengurangi biaya hingga 2,29 kali lipat. Selain itu, MALDI-TOF MS secara langsung mampu mengurangi limbah hingga 350 kg/bulan atau 4,2 ton/tahun sehingga dapat menjadi lebih ramah lingkungan. Waktu kultur dalam proses identifikasi mikroba atau mikroorganisme juga sedikit mengalami penurunan yang relatif jika dibandingkan dengan menggunakan metode biokimia dikarenakan hanya memakai jumlah inokulan yang lebih rendah sehingga tidak diperlukan inkubasi yang memakan waktu lama (Ge, 2017).

F. Kerangka teori



Gambar 10. Kerangka teori

G. Kerangka konsep



Gambar 11. Kerangka konsep