

**ISOLASI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI PENGHASIL  
ANTIBIOTIKA DARI SAMPEL TANAH DI DAERAH  
PESISIR GALESONG UTARA**

**ISOLATION OF *ACTINOMYCETES* AS AN ANTIBIOTIC  
PRODUCER OF SOIL SAMPLES IN COASTAL AREA  
NORTH GALESONG**

**NURFADILA  
N111 15 004**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**ISOLASI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI  
SAMPEL TANAH DI DAERAH PESISIR GALESONG UTARA**

**ISOLATION OF *ACTINOMYCETES* AS AN ANTIBIOTIC PRODUCER OF  
SOIL SAMPLES IN COASTAL AREA NORTH GALESONG**

## **SKRIPSI**

Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**NURFADILA  
N111 15 004**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



ISOLASI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI  
SAMPEL TANAH DI DAERAH PESISIR GALESONG UTARA

NURFADILA

N111 15 004

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS, Apt.  
NIP. 19500817 197903 1 003



Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19771125 200212 2 003

Pada tanggal : 9 Mei 2019



## SKRIPSI

ISOLASI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI  
SAMPel TANAH DI DAERAH PESISIR GALESONG UTARA

ISOLATION OF *ACTINOMYCETES* AS AN ANTIBIOTIC PRODUCER OF  
SOIL SAMPLES IN COASTAL AREA NORTH GALESONG

Disusun dan diajukan oleh :

**NURFADILA**  
**N111 15 004**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 9 Mei 2019  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt.
2. Sekretaris : Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
3. Anggota : Nana Juniarti, S.Si., M.Si., Apt.
4. Anggota : Drs. H. Hasyim Barium., M.Si., Apt.



Mengetahui,  
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



  
Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.  
NIP. 19641231 199002 1 005



## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 9 Mei 2019

Yang menyatakan



Nurfadila  
N111 15 004



## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan dengan judul “ Isolasi *Actinomyces* Sebagai Penghasil Antibiotika Dari Sampel Tanah Di Daerah Pesisir Galesong Utara” dengan pembimbing utama Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS.,Apt. dan pembimbing pertama Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut yang akan penulis jabarkan dibawah. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS.,Apt. Pembimbing skripsi Sekaligus penasehat akademik yang telah memberikan nasehat, bimbingan dan dukungan kepada penulis selama ini dari semester awal hingga akhir.
2. Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing yang telah banyak membantu dan memberi nasehat selama pengerjaan penelitian



s.

3. Bapak Drs. H. Hasyim Barium., M.Si., Apt. dan Ibu Nana Juniarti., S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen penguji penulis yang selalu meluangkan waktu untuk membagi ilmu, bimbingan dan memberi masukan dalam kelancaran skripsi penulis.
4. Dekan, wakil dekan, dosen serta staf Fakultas Farmasi yang telah banyak memberi ilmu dan membantu dalam segala hal selama S1 Farmasi kepada penulis.
5. Laboran disemua laboratorium terkhusus kak Nurlia laboran mikrobiologi farmasi yang selalu membantu penulis dalam berjalannya penelitian.
6. Teman-teman dan kakak-kakak Korps.Asisten Fitokimia (Nur Azizah, A.Herni yunita, kak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. dll) yang memotivasi dan memberi dukungan kepada penulis selama penelitian di S1 Farmasi.
7. Teman peneletian penulis saudari Anisa Nurhikma, teman-teman asisten mikrobiologi (Umi Kalsum, Eksa Dianti, Juspidayanti, Julio Valentino, Nur Atika Nadya dll) terima kasih banyak atas bantuannya selama pengerjaan penelitian.
8. Teman-teman PO15ON yang telah banyak memberi bantuan dan dukungan kepada penulis dari semester 1 sampai sekarang (Resky Musfira, Nurul Aksana, Nurazizah, Sriyanti Sombolayuk, Sudarmi, A. Febrianti Komalasari dll)



9. Sepupu penulis yang selalu memberi bantuan, dukungan dan semangat selama ini (kak Herwini Minasa, Abdul Hial Paerlon, Muhammad Fajr Usman Sulfa Adisti)

10. Kakak perempuan penulis (Musfira Anwar) yang selalu memberikan nasehat untuk selalu tidak mengulur-ngulur waktu menyelesaikan penelitian dan juga bantuan morilnya selama ini.

Akhirnya, semua ini tiada artinya tanpa dukungan keluarga, terkhusus kedua orang tua tercinta Rosmawati dan Anwar yang selalu mendoakan yang terbaik untuk penulis. Orang tua yang menjadi alasan untuk tidak bermalas-malasan selama kuliah dan menyelesaikan skripsi tugas akhir. Tanpa dukungan orang tua, penulis tidak mungkin bisa ada pada titik sekarang ini. Kakak perempuan penulis (Musfira Anwar) yang selalu memberikan nasehat untuk selalu tidak mengulur-ngulur waktu menyelesaikan penelitian dan juga bantuan morilnya selama ini. Dan adik penulis (Rahmat Hidayat dan Miftahul Mufli) Semoga karya yang sangat sederhana ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kedepannya. Aamiin...

Makassar, 9 Mei 2019

  
Nurfaqia





## ABSTRAK

**NURFADILA.** *Isolasi Actinomycetes Sebagai Penghasil Antibiotika Dari Sampel Tanah Di Daerah Pesisir Galesong Utara*  
(dibimbing oleh M. Natsir Djide dan Herlina Rante)

*Actinomycetes* merupakan bakteri gram-positif yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibakteri dan populasinya mudah ditemukan dalam berbagai jenis tanah, salah satunya yang berada di daerah pesisir. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri *Actinomycetes* dari sampel tanah di daerah pesisir Galesong Utara yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibiotika serta menentukan konsentrasi hambat terbesar dari ekstrak hasil fermentasi isolat *Actinomycetes*. Isolasi dilakukan dengan mengencerkan sampel kemudian menumbuhkannya di media *Starch Nutrient Agar* (SNA) diikuti dengan pemurnian dan identifikasi isolat. Isolat murni kemudian digunakan pada uji antagonis terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Isolat aktif difermentasi pada suhu ruang. Ekstraksi metabolit sekunder dilakukan menggunakan etil asetat (1:1 v/v) untuk cairan fermentasi dan metanol untuk biomassa. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitasnya menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E.coli*. Sebanyak dua isolat berhasil dimurnikan pada proses isolasi yaitu isolat 5 dan 6. Kedua isolat diduga termasuk dalam genus *Streptomyces sp.* Hasil uji antagonis menunjukkan kedua isolat memiliki daya hambat. Ekstrak etil asetat dan metanol isolat 5 konsentrasi 10% memiliki daya hambat kategori sedang dan kuat terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*. Sedangkan ekstrak etil asetat dan metanol isolat 6 konsentrasi 10% memiliki daya hambat kategori sedang dan kuat terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*. Berdasarkan hal tersebut isolat 5 dan isolat 6 disimpulkan memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*.

Kata kunci : *Actinomycetes*, Galesong utara, antibiotika, Starch Nutrient Agar (SNA)



## ABSTRACT

**NURFADILA.** *Isolation Of Actinomycetes As An Antibiotic Producer Of Soil Samples In Coastal Area North Galesong*

(Supervised by M. Natsir Djide and Herlina Rante)

*Actinomycetes* are gram-positive bacteria which have the potential as antibacterial and population of *Actinomycetes* can be found in various types of soil, including the land in the coastal area of North Galesong. The aim of this study is to isolate *Actinomycetes* bacteria from soil samples in the North Galesong coastal area that have the potential to produce antibiotics and determine the largest inhibitory concentration of fermented extract isolates *Actinomycetes*. Isolation was carried out by diluting the sample then growing it in Starch Nutrient Agar (SNA) media followed by purification and identification of isolates. Pure isolates were subjected to antagonistic activity test against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The active isolates were fermented at room temperature. Extraction of secondary metabolites was carried out using ethyl acetate (1:1 v/v) for fermented liquids and methanol for biomass. The extract obtained was tested for its activity using agar diffusion method against *S. aureus* and *E. coli*. Two isolates were successfully purified isolates were obtained, isolates 5 and 6. Both isolates were suspected to belong to the genus *Streptomyces sp.* The antagonistic test results showed that the two isolates had inhibitory strength. Ethyl acetate and methanol extracts concentration of 10% isolate 5 had moderate and strong inhibitory power against *S. aureus* and *E. coli* bacteria. Ethyl acetate and methanol extracts concentration of 10% isolate 6 had moderate and strong inhibitory power against *S. aureus* and *E. coli* bacteria. In conclusion, isolates 5 and 6 have antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli* bacteria.

Keywords: *Actinomycetes*, North Galesong, antibiotics, Starch Nutrient Agar (SNA)



## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Mikroorganisme Tanah	5
II.2 Metabolit Mikroorganisme	6
II.2.1 Metabolit primer	6
II.2.2 Metabolit sekunder	7
II.3 <i>Actinomyces</i> Tanah	8
II.3.1 Lingkungan dan Populasi	8
II.3.2 Karakteristik <i>Actinomyces</i>	9
nyawa metabolit sekunder <i>Actinomyces</i>	11
mikroba	14



II.5 Media Pertumbuhan	16
II.6 Pertumbuhan mikroorganismen	17
II.6.1 Kurva pertumbuhan	17
II.6.2 Hal-hal yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba	19
II.7 Fermentasi	22
II.8 Cara pengujian antimikroba	22
II.8.1 Metode difusi	22
II.8.1.1 Metode difusi agar	22
II.8.1.2 Metode gradient antimikroba ( <i>e-test</i> )	23
II.8.1.3 Metode kromatografi lapis tipis-Bioautografi	23
II.8.2 Metode dilusi	23
II.9 Uraian bakteri uji	24
II.9.1 <i>Eschericia coli</i>	24
II.9.2 <i>Staphyllococcus aureus</i>	25
BAB III METODE PENELITIAN	26
III.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	26
III.2 Alat dan Bahan	26
III.3 Metode Kerja	26
III.3.1 Sterilisasi Alat	26
III.3.2 Pembuatan Medium	27
III.3.2.1 Medium SNA ( <i>Starch Nitrate Agar</i> )	27
III.3.2.2 Medium SNB ( <i>Starch Nitrate Broth</i> )	27
III.3.2.3 Medium NA ( <i>Nutient Agar</i> )	28



III.3.4 Prosedur Kerja	28
III.3.4.1 Pengambilan Sampel	28
III.3.4.2 Penyiapan Mikroba Uji	28
III.3.4.3 Isolasi <i>Actinomyces</i>	29
III.3.4.4 Uji antagonis	29
III.3.4.5 Fermentasi dan Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder dari <i>Actinomyces</i>	30
III.3.4.6 Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
IV.1 Isolasi <i>Actinomyces</i>	32
IV.2 Uji Antagonis Isolat	34
IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi	35
IV.4 Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak	38
IV.5 Identifikasi <i>Actinomyces</i>	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	44
V.1 Kesimpulan	44
V.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kategori daya hambat bakteri	38
2. Hasil pengukuran diameter zona hambat isolat 5 <i>Actinomyces</i> terhadap bakteri uji <i>S.aureus</i> dan <i>E. Coli</i>	39
3. Hasil pengukuran diameter zona hambat isolat 6 <i>Actinomyces</i> terhadap bakteri uji <i>S.aureus</i> dan <i>E. Coli</i> .	40



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>Actinomycetes</i>	10
2. Gambar Struktur Tiazomisin	11
3. Gambar struktur Alkaloid isoquinoline JS-1 (C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub> )	12
4. Gambar struktur Pargamycin A (PRGA)	12
5. Gambar struktur Lipoxazolidinones	13
6. Kurva pertumbuhan bakteri	18
7. Hasil isolasi <i>Actinomycetes</i> pengenceran A (10 <sup>-2</sup> ) dan (10 <sup>-3</sup> ) pada medium SNA ( <i>Starch Nitrate Agar</i> )	33
8. Hasil isolat <i>Actinomycetes</i> 5 dan 6 tampak depan dan belakang	34
9. Hasil uji antagonis isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap bakteri uji <i>S.aureus</i> dan <i>E. Coli</i>	35
10. Kurva hubungan lama fermentasi (hari) isolat 5 terhadap diameter zona hambat (mm) terhadap bakteri uji <i>S. aureus</i> dan <i>E.coli</i>	37
11. Kurva hubungan lama fermentasi (hari) isolat 6 terhadap diameter zona hambat (mm) terhadap bakteri uji <i>S. aureus</i> dan <i>E.coli</i>	37
12. Hasil uji aktivitas antibiotika dari metabolit sekunder <i>Actinomycetes</i> isolat 5	39
13. Hasil uji aktivitas antibiotika dari metabolit sekunder <i>Actinomycetes</i> isolat 6	40
14. Hasil uji mikroskopik <i>Actinomycetes</i> A (isolat 6) B (isolat 5)	42
15. Produksi spora dalam rantai panjang <i>Streptomyces</i>	43

Hasil isolasi *Actinomycetes*

53

Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak hasil fermentasi isolat

54



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	49
2. Komposisi medium	51
3. Dokumentasi penelitian	53





# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan serius pada masyarakat yang disebabkan oleh bakteri. Salah satu obat untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan penggunaan antibiotika (Kementerian Kesehatan RI, 2011). Antibiotika merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri ataupun fungi, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman. Dan toksisitasnya terhadap manusia relatif kecil (Tjay & Rahardja, 2007). Tetapi, penggunaan antibiotika yang tidak sesuai dengan prinsip dan ketentuan penggunaan akan dapat menyebabkan peningkatan resistensi antibiotika (Aarestrup *et al.*, 2000).

Beberapa kuman resisten antibiotika sudah banyak ditemukan di seluruh dunia salah satunya *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan hasil penelitian *Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-Study)* menunjukkan bahwa dari 2494 individu di masyarakat terdapat 43% insiden resistensi *Escherichia coli* terhadap berbagai jenis antibiotika (Kementerian Kesehatan RI, 2011). Resistensi antibiotika yang terjadi mempersempit pilihan terapi. Hal ini memunculkan kebutuhan untuk membuat agen antibiotika yang baru. Upaya yang dapat dilakukan adalah dengan pemanfaatan senyawa



metabolit sekunder pada mikroorganisme yang terkandung dalam tanah (Bahar dkk, 2017).

Mikroorganisme yang sangat berpotensi sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder banyak dijumpai di dalam tanah yaitu jenis *Actinomyces*. *Actinomyces* merupakan anggota yang dominan dari populasi mikroba tanah (Djide, 2016). Adapun tanah yang umumnya mengandung mikroba tersebut yaitu yang memiliki kelembaban tinggi dan suhu tinggi (Sastrahidayat, 2014).

*Actinomyces* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibiotika yang sangat bernilai ekonomi tinggi dalam bidang kesehatan sebagai antibakteri (Amsaveni, 2012). *Actinomyces* dapat ditemukan di tanah dan laut, dimana *Actinomyces* yang berasal dari laut dapat ditemukan di permukaan air laut, ataupun pada sedimen laut (Ratnakomala dkk, 2016).

Sebuah survei literatur tentang Database Literatur Biologis (ABL), dari data Italia, lebih dari 23.000 produk mikroba yang memiliki beberapa aktivitas biologis seperti antijamur, antibakteri, antivirus, antitumor, sitotoksik dan immunosupresif menunjukkan bahwa strain yang banyak memproduksi yaitu dari jamur dan juga strain dari genus *Streptomyces* (32%). Dari lebih 8000 produk antimikroba yang dijelaskan dalam database ABL, 45,6% diproduksi oleh *Streptomyces*. Hanya 21,5% diproduksi oleh jamur, karena banyak dari



produk jamur adalah racun. Bakteri lain menghasilkan 16,9% antiinfeksi dan 16% lainnya diproduksi oleh strain *Actinomycetes* (Lazzarini *et al.*, 2000).

Ratnakomala dkk (2016) telah melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa tanah di daerah pesisir pantai pulau Enggano terdapat *Actinomycetes* genus *Streptomyces* dan *Dermacoccus* yaitu 7 isolat dimana 1 isolat mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji gram negatif *E. coli* sedangkan 6 isolat lainnya menghambat bakteri gram positif *S. aureus*. Rante (2016) juga telah meneliti dari sampel sedimen laut yang ada di daerah Galesong dan diperoleh 2 isolat *Actinomycetes* jenis *Streptomyces* yang keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan beberapa uraian di atas dan juga merujuk pada pengalaman empiris masyarakat yang tinggal di daerah pesisir Galesong Utara yang menggunakan tanah sebagai media pengobatan maka akan dilakukan penelitian untuk mengisolasi bakteri *Actinomycetes* yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibiotika dari tanah tersebut.

## I.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pada sampel tanah di daerah pesisir Galesong Utara mengandung *Actinomycetes* yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibiotika ?



2. Pada konsentrasi berapa ekstrak etil asetat dan metanol hasil fermentasi isolat *Actinomyces* menunjukkan aktivitas antimikroba terbesar terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* ?

### I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengisolasi bakteri *Actinomyces* dari sampel tanah di daerah pesisir Galesong Utara yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibiotika.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etil asetat dan metanol hasil fermentasi isolat *Actinomyces* menunjukkan aktivitas antimikroba terbesar terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Mikroorganismen Tanah

Di alam, mikroorganismen berada pada lingkungan normal hingga ekstrim, baik di darat maupun di perairan. Pada lingkungan ekstrim dimana organismen lain tidak dapat hidup maka dapat dijumpai keberadaan *archaea*. Pada daerah dengan suhu tinggi atau rendah dan sebagainya (Hidayat dkk, 2018).

Tanah-tanah di kawasan pesisir pantai umumnya terbentuk dari bahan sedimen marin serta bahan aluvium-koluvium yang berasal dari landsekap yang telah melapuk. Oleh karena bahan induk dan proses pembentukannya, tanah ini secara umum banyak mengandung mineral semacam pirit ( $\text{FeS}_2$ ) (Suhardjo *et al.*, 2000).

Tanah sebagai lingkungan mikroba tergantung dimana keberadaannya dan sebagai contoh, daerah padang rumput terdapat pengurangan bahan organik, sebab berasal dari sisa-sisa tumbuhan dan binatang yang mati. Serangkaian pengecilan dilakukan oleh sekumpulan binatang kecil sebelum didekomposisi oleh mikroorganismen (Syauqi, 2017).

Dalam kehidupannya mikroorganismen seringkali dianggap sebagai penyebab kerusakan ataupun bahaya misalnya menyebabkan munculnya wabah penyakit bakteri maupun virus. Beberapa menyebabkan kerusakan melalui racun yang dihasilkan ataupun metabolitnya. Beberapa



diantaranya menyebabkan eutrofikasi yaitu tumbuhnya mikroorganismse akibat lingkungan yang kaya nutrisi hasil aktivitas manusia secara langsung ataupun tidak langsung (Hidayat dkk, 2018).

Aktivitas mikroorganisme kadangkala juga memberi dampak menguntungkan bagi manusia. Penggunaan mikroorganisme sebagai sumber protein yang dikenal dengan sebutan protein sel tunggal terus dikembangkan guna mengatasi kekurangan protein pada berbagai negara. Protein sel tunggal diharapkan dapat menutupi kekurangan protein karena sifat pertumbuhannya yang cepat dibandingkan dengan tanaman, hewan dan dapat dikembangkan di laboratorium. Di lingkungan, mikroorganisme juga dapat membantu keberlangsungan siklus unsur seperti C, N, S dan P. Dekomposisi bahan organik oleh beberapa jamur dan bakteri juga akan membantu mengurangi bahan organik yang ada menjadi kompos yang dapat dimanfaatkan tanaman (Hidayat dkk, 2018).

## **II.2 Metabolit Mikroorganisme**

### **II.2.1 Metabolit primer**

Metabolit primer adalah produk mikroorganisme pada saat fase adaptasi hingga fase pertumbuhan logaritmik. Memperbanyak jumlah media secara kontinya dapat dilakukan untuk meningkatkan kuantitas metabolit primer yang dihasilkan. Senyawa metabolit primer adalah senyawa yang dihasilkan oleh

hidup yang bersifat esensial pada proses metabolisme sel



keseluruhan proses sintesis dan perombakan zat-zat ini yang dilakukan oleh organisme untuk kelangsungan hidupnya. Senyawa metabolit primer terdiri dari karbohidrat, protein dan lemak.

Banyak produk metabolit primer memiliki nilai ekonomi tinggi dan telah diproduksi dengan fermentasi. Beberapa produk metabolit primer seperti etanol, asam sitrat, asam glutamate, lixin, nukleotida, polisakarida, dan vitamin diproduksi besar secara komersial.

Ciri-ciri metabolit primer:

- a. Terlibat langsung dalam fungsi fisiologi normal, protein dan enzim.
- b. Terdapat dalam organisme atau sel
- c. Berat molekul dari monomer hingga polimer (>1500 dalton) (Vivi dkk, 2018).

### **II.2.2 Metabolit sekunder**

Metabolit sekunder diproduksi saat mikroorganismenya mengalami fase stasioner, jadi mikroorganismenya dikembangkan dan ditumbuhkan hingga fase stasioner, lalu kondisi sistem fermentasi diubah sehingga mikroorganismenya akan menghasilkan metabolit sekunder secara optimal. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh mikroorganismenya melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital, seperti asam amino dan asam lemak.



Ciri-ciri metabolit sekunder:

- a. Tidak terlihat langsung dalam metabolisme seperti pertumbuhan , perkembangan, dan reproduksi.
- b. Tidak esensial, ketiadaan jangka pendek tidak berakibat kematian.
- d. Senyawa organik dengan berat molekul 50-1500 dalton (Vivi dkk, 2018).

## II.3 *Actinomyces* Tanah

### II.3.1 Lingkungan dan Populasi

Berdasarkan klasifikasinya, *Actinomyces* termasuk dalam kerajaan *Bacteria* di kelas *Schizomycetes*, subkelas *Actinobacteridae*, ordo *Actinomycetales* yang dikelompokkan lagi menjadi 13 subordo yang terdiri dari 48 famili dengan 219 genus. Kelompok bakteri ini merupakan kelompok mikroorganisme yang mampu mendegradasi bahan organik tanah yang kompleks (Zhi *et al*, 2009).

*Actinomyces* terdiri dari 10 - 50% total populasi mikroba dalam tanah. Organisme ini ditemukan dalam tanah (hampir semua), kompos, dan sedimen. Kelimpahan populasi *Actinomyces* di dalam tanah adalah terbesar kedua setelah bakteri, yaitu rentang dari 500.000 - 100.000.000 proppagul per gram tanah. Proppagul adalah bagian dari suatu mikroorganisme yang dapat tumbuh dan berkembangbiak (Waluyo, 2018).





*Actinomycetes* bersifat aerob, karena itu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan. Oleh karena itu, tidak dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang basah. *Actinomycetes* tidak toleran terhadap desikasi, tetapi sporanya tidak. *Actinomycetes* tumbuh sangat lambat pada suhu 5°C, dan dapat diisolasi lebih banyak dari tanah yang lebih panas daripada tanah yang dingin. Demikian pula dengan sporanya yang dapat tumbuh pada semua keadaan, baik tanah yang lebih panas maupun tanah yang lebih kering, tetapi tidak berarti organisme tersebut menyukai panas (Waluyo, 2018).

*Actinomycetes* merupakan anggota yang dominan dari populasi mikroba di tanah. Disini mereka berperan utama dalam penghancuran sampah organik. Banyak penghuni tanah merupakan sumber penting bagi antibiotik. Sterptomisin, eritromisin, kloramfenikol yang dijual sebagai "*Chloromycetin*", dan tetrasiklin dijual sebagai "*Aureomycin*" dan "*Tetramycin*" adalah produk dari *Actinomycetes* (Djide, 2016).

### II.3.2 Karakteristik *Actinomycetes*

*Actinomycetes* awalnya dinamakan "*Ray fungi*" (Waluyo, 2018). *Actinomycetes* sering juga disebut dengan aktinomisit. Umumnya, *Actinomycetes* akan berkembang membentuk filamen seperti jamur. Ukuran kecil dan struktur selnya yang rumit menyebabkan dikelompokkan sebagai bakteri (Wilyan dkk, 2008). Ada dua hal penting untuk membedakan antara

dengan *Actinomycetes*, yakni: 1) *Actinomycetes* tidak mempunyai



nukleus, sehingga dimasukkan prokariotik; 2) bentuk hifa *Actinomyces* dengan diameter 0,5 - 1,0 mm, sehingga lebih kecil dari hifa jamur (diameternya 3-8 mm) (Waluyo. 2018).

Seperti jamur, *Actinomyces* umumnya bersifat aerob. *Actinomyces* cenderung terlihat tumbuh lebih jelas setelah senyawa kimia dipecah habis dan kelembapan menjadi rendah. Pada dasarnya, mikroba ini tahan terhadap asam (Wilyan dkk, 2008).



**Gambar 1. Morfologi *Actinomyces* (1) spora berantai berbentuk oval (2) hifa lurus bercabang tidak bersekat (Sektiono dkk, 2016).**

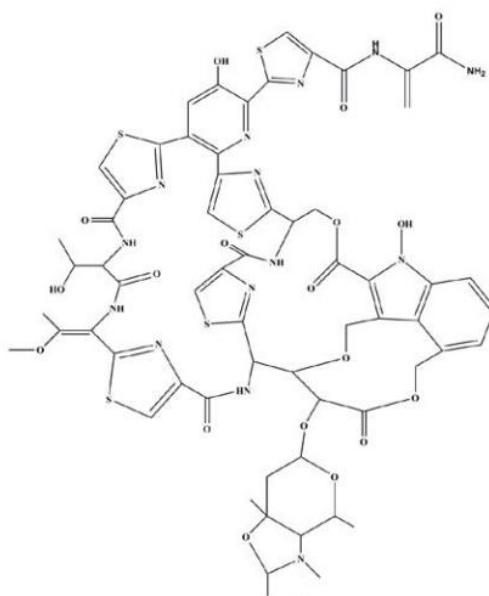
Sel *Actinomyces* berbentuk memanjang yang disebut dengan miselium. Mula-mula sel ini tidak bersekat, tetapi akhirnya bersekat setelah membelah diri. Pada bagian hifa, *Actinomyces* membentuk tegakan konidia. Konidia adalah alat untuk mengembangbiakkan diri secara vegetatif. Sementara itu, hifa adalah kumpulan beberapa miselium. Biasanya *Actinomyces* hidup berkelompok (Wilyan, 2008).



### II.3.3 Senyawa Metabolit Sekunder *Actinomycetes*

Saat ini, aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder sangat menarik. Ini dipicu oleh kebutuhan yang luas untuk penemuan antibiotik baru terhadap strain klinis yang resistan terhadap multi-obat dan terapi kegagalan dalam pengobatan infeksi yang dihasilkan. Sekitar 70% dari semua antibiotik diketahui berasal dari *Actinomycetes*, dan sebagian besar berasal dari *Streptomyces* spp. Strain. Adapun beberapa contoh senyawa yang dihasilkan diantaranya:

a. Tiazomisin

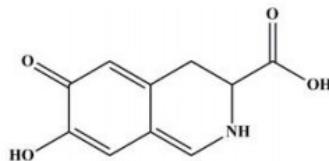


Gambar 2. Struktur Tiazomisin (Solecka *et al*, 2012).

Tiazomisin menghambat pertumbuhan bakteri secara selektif biosintesis protein. Tiazomisin tidak menunjukkan resistensi silang terhadap antibiotik yang tersedia secara klinis ( $\beta$ -laktam, vankomisin, kuinolon, oksazolidinon).



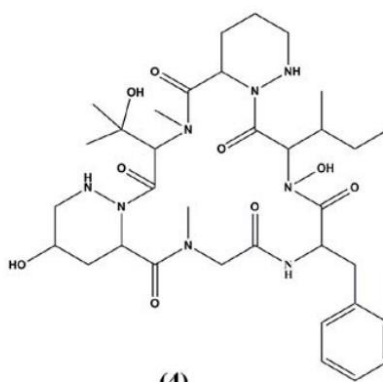
b. Alkaloid isoquinoline JS-1 (C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>)



**Gambar 3. Struktur Alkaloid isoquinoline JS-1 (Solecka et al, 2012).**

Alkaloid isoquinoline JS-1 (C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>) yang baru diisolasi oleh Solecka et al. dari *Streptomyces sp.* Menunjukkan aktivitas antibakteri dengan menghambat DD-peptidases. DD-peptidases adalah enzim terlibat dalam biosintesis dinding sel bakteri. Senyawa baru ini paling aktif melawan *Bordetella bronchiseptica* dan *S. aureus*, termasuk strain MRSA. JS-1, tidak memiliki hemolitik atau genotoksik properti, sehingga aktivitas antibakteri dapat ditingkatkan dengan modifikasi potensial.

c. Pargamycin A (PRGA)



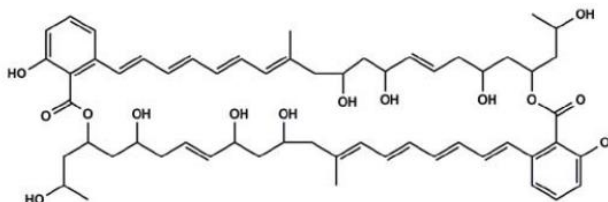
**Gambar 4. Struktur Pargamycin A (Solecka et al, 2012).**

Senyawa baru lainnya, pargamycin A (PRGA), diisolasi dari *actinomycetes* dari tanah strain *Amycolatopsis sp.* ML1-hF4. Ini adalah



antibiotik peptida siklik yang menunjukkan nilai MIC lebih tinggi terhadap MRSA dibandingkan terhadap strain VRE. Mekanisme tindakan melibatkan gangguan cepat fungsi membran bakteri. Beberapa bisindole pyrroles, khususnya lynamycins A-E, diisolasi dari strain *Marinispora* yang diisolasi dari laut. Senyawa ini menunjukkan aktivitas spektrum luas terhadap bakteri Gram-negatif dan Gram-positif sel, termasuk *S. aureus* yang resisten metisilin dan *E. faecium* yang kebal terhadap vankomisin. Lynamycins hadir juga sebagai antitumor dan antiangiogenik.

d. Lipoxazolidinones



**Gambar 5. Struktur Lipoxazolidinones (Solecka *et al*, 2012).**

Beberapa lipoxazolidinones (A (10), B, C) diperoleh dari strain *Actinomycetes* laut NPS008920. 2-alkylidene-5-alkyl- ini 4-oksazolidinon, lipoksazolidinon A ( $C_{19}H_{31}NO_3$ ), lipoxazolidinone B ( $C_{20}H_{33}NO_3$ ) dan lipoxazolidinone C ( $C_{18}H_{29}NO_3$ ), menunjukkan aktivitas antibakteri yang luas. Lipoxazolidinone A adalah yang paling ampuh dan aktif melawan Bakteri gram positif (MIC = 0,5-5  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) dan melawan Strain *Haemophilus influenzae* (MIC = 12  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ).



Senyawa dengan struktur kimia (2-alkylidene-4-oxazolidinone) unik di alam yang merupakan sumber potensial antibiotik baru (Solecka *et al*, 2012).

## II.4 Antimikroba

Saat ini, resistensi antibiotik mikroorganisme adalah salah satu ancaman terbesar bagi kesehatan global, keamanan pangan, dan pembangunan. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) Laporan Global tentang pengawasan resistensi antimikroba telah menetapkan bahwa resistensi bakteri terhadap obat yang biasa digunakan dalam pengobatan infeksi telah mencapai tingkat yang mengkhawatirkan di banyak bagian dunia (WHO 2014). Pada 2017, WHO merilis daftar pertama sebagian besar menyangkut "patogen prioritas" untuk kesehatan manusia katalog dua belas keluarga bakteri yang antibiotik baru sangat dibutuhkan (WHO 2017). Menurut ulasan independen O'Neill (2016) tentang 700.000 orang di seluruh dunia meninggal setiap tahun akibat infeksi yang resistan terhadap obat. Jika tren saat ini berlanjut, infeksi semacam itu dapat menyebabkan kematian (Krzyszniak *et al*, 2018).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri terdiri atas (Djide, 2016):

- a. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri. Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Antibakteri bekerja memblokir tahap metabolisme spesifik bakteri, seperti sulfonamide, trimethoprim, PAS dan sulfon.



- b. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel. Dinding sel terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida. Antibakteri golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam pembentukan dinding sel mikroorganisme.
- c. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Antibakteri secara langsung bekerja pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler yang berupa komponen penting dari dalam sel mikroorganisme yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida.
- d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri. Dalam kelangsungan hidupnya, bakteri perlu mensintesis berbagai protein, dimana sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Antibakteri mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesa protein terhambat. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Antibakteri yang berinteraksi dengan ribosom 30S antara lain aminoglikosida dan tetrasiklin, sedangkan yang berinteraksi dengan ribosom 50S antara lain kloramfenikol, linkomisin, klindamisin dan eritromisin.



- e. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Dalam hal ini antibakteri mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Antibakteri kelompok ini bekerja dengan cara berikatan dengan enzim polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Sebagai contoh, kuinolon menghambat DNA girase dan rifampisin mengikat dan menghambat DNA-dependent RNAPolymerase yang ada pada bakteri.

## II.5 Media Pertumbuhan

Menentukan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme pada dasarnya identik dengan mengetahui komposisi sel. Hal ini disebabkan nutrisi dibutuhkan oleh sel mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang. Agar pertumbuhan terjadi secara optimum maka semua unsur yang dibutuhkan oleh sel haruslah tersedia. Unsur yang paling banyak dibutuhkan oleh mikroorganisme secara umum disebut dengan makroelemen yang mencakup karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, sulfur, fosfor, kalsium, kalium, magnesium dan besi. Enam komponen (C, O, H, N, S dan P) merupakan komponen pada karbohidrat, lipid, protein, dan asam nukleat. Empat makroelemen ada dalam sel sebagai kofaktor dalam banyak enzim, kompleks dengan ATP, dan stabilitas ribosom dan membran sel. Besi ( $Fe^{2-}$  dan  $Fe^{3-}$ ) adalah bagian dari *cytochrome* dan kofaktor untuk enzim dan protein

a elektron (Hidayat dkk, 2018).



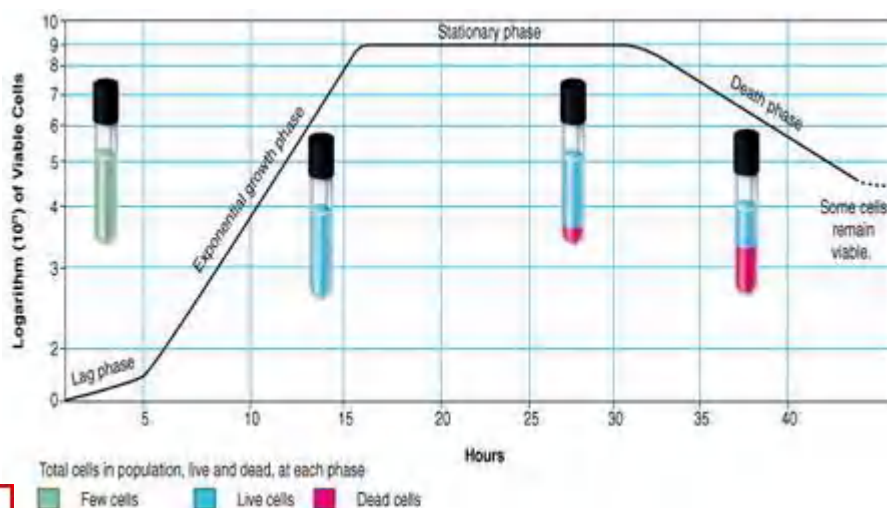


Selain makonutrien dikenal pula mikronutrien yaitu nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah kecil/sedikit. Contoh mikro nutrisi adalah mangan, seng, kobalt, molibdenum, nikel dan tembaga. Senyawa-senyawa ini umumnya merupakan senyawa kontaminan pada air, makanan dan nutrisi lainnya yang seringkali telah mencukupi kebutuhan mikroorganisme untuk tumbuh. Sebagai contoh seng ( $Zn^{2+}$ ) ada pada sisi aktif beberapa enzim tetapi juga terlihat dalam asosiasi pengaturan dan katalis subunit (contoh *E. coli carbamoyltransferase*). Mangan ( $Mn^{2+}$ ) membantu banyak enzim untuk mengkatalis pemindahan gugus fosfat (Hidayat dkk, 2018).

## II.6 Pertumbuhan mikroorganisme

### II.6.1 Kurva pertumbuhan

Pertumbuhan bakteri dibagi menjadi empat tahapannya yaitu fase lag, fase logaritma/eksponensial, fase stasioner dan fase kematian seperti dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Kurva pertumbuhan bakteri (Wignyanto & Nurhidayat, 2017).



1. Fase *lag* : mikroorganisme mulai menyesuaikan diri dengan lingkungan baru, terjadi pada fase ini. Beberapa enzim dan zat perantara dibentuk agar keadaannya memungkinkan bisa terjadi untuk pertumbuhan lebih lanjut, fase ini ukuran sel telah membesar tetapi belum terjadi pembelahan diri.
2. Fase pertumbuhan yang dipercepat: pertumbuhan masih lambat atau waktu generasinya masih panjang, walaupun sudah mulai ada pembelahan diri. Fase pertumbuhan yang dipercepat bersama-sama dengan fase permulaan sering disebut *phase of adjustment*.
3. Fase pertumbuhan logaritma: fase ini mengalami pertumbuhan dalam hal jumlah dan juga ukuran. Pada fase logaritma atau terkadang dikenal dengan fase eksponensial ini, jumlah sel yang ada dalam kultur mengalami kenaikan jumlah yang pesat. Waktu generasi pada fase ini berlangsung singkat dan tetap. Metabolisme pada fase ini berlangsung paling cepat, jadi sintesis bahan sel sangat singkat dan tetap. Kondisi ini berlangsung terus sampai salah satu atau beberapa nutrisi habis atau telah terjadi timbunan metabolisme yang bersifat racun yang menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat.
4. Fase stasioner : pada fase ini, jumlah mikroorganisme cenderung stabil, karena jumlah sel yang membelah diri dan yang mati sama. Kematian bakteri disebabkan karena adanya penurunan kandungan nutrisi dan meningkatkan timbunan zat-zat racun.



5. Fase kematian yang dipercepat diikuti fase kematian logaritma. Fase ini biasa dikenal dengan fase menurun. Pada fase ini kecepatan kematiannya semakin meningkat sedang kecepatan pembelahan terus menerus menurun akhirnya menjadi nol. Fase kematian logaritma kecepatan kematian menjadi maksimal dan jumlah sel yang mati meningkat dengan cepat (Wignyanto & Nurhidayat, 2017).

### II.6.2 Hal-hal yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba

Medium pertumbuhan yang baik adalah medium yang mengandung semua nutrisi yang diperlukan oleh organisme yang akan ditumbuhkan (Sri dkk, 2018).

#### a. Temperatur

Sebagian besar mikroorganisme tumbuh baik pada temperatur tubuh manusia, dengan variasi yang tidak terlalu jauh. Pada beberapa bakteri tertentu, dapat hidup pada temperatur yang ekstrim, akan tetapi pertumbuhan akan menurun dari suhu pertumbuhan normalnya. Suhu ekstrim kemungkinan dapat menyebabkan gangguan aktivitas enzimatis, atau gangguan fungsi membran lipid, atau dapat merubah konformasi protein. Pada awal pembentukan protein, merupakan fase yang sangat sensitif terhadap suhu.

Mikroorganisme dapat diklasifikasikan dalam tiga kategori

asaskan temperatur yang sesuai untuk pertumbuhannya yaitu:



1. Psikrofil, tumbuh baik pada suhu rendah, yaitu antara 15-20°C. Beberapa dapat tumbuh pada suhu dibawah 0°C dan biasanya bakteri kelompok ini dapat menyebabkan pembusukan makanan dalam refrigerator. *Pseudomonas* dapat tumbuh pada suhu rendah.
2. Mesofil, tumbuh baik pada suhu 30 - 37°C. Mikroorganisme patogen termasuk dalam kelompok mesofil, yang tumbuh baik pada suhu tubuh hospes. Mamalia mempunyai suhu optimum 37-44°C.
3. Termofil, tumbuh baik pada suhu 50-60°C, bahkan ada tahan hidup pada 100°C. Mikroorganisme termofil biasanya pada daerah vulkano, dapat tahan hidup pada musim panas. Beberapa bakteri termofil bermanfaat bagi manusia untuk pembuatan pupuk kompos. *Bacillus stearothermophilus* dimanfaatkan sebagai sumber enzim yang stabil terhadap panas.

b. Nutrien

Nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri sangat bervariasi, dari sumber C dan N, sampai lebih kompleks yang diperoleh dari sel mamalia. Semua bakteri memerlukan asam nukleat dan protein untuk hidup.



Bakteri yang beradaptasi mengikuti evolusi untuk tumbuh dalam tanah atau air secara alami mungkin dapat tumbuh dengan bahan organik sederhana. Adaptasi untuk tumbuh pada jaringan hewan atau susu atau permukaan membran, mungkin memerlukan bahan organik yang lebih kompleks. Kebutuhan tersebut meliputi macam-macam asam amino, vitamin, basa, asam nukleat, inositol, kolin, hemin, asam lemak tidak jenuh. Bahan-bahan anorganik yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri antara lain :  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , N dan S,  $\text{NH}_3$ , dan  $\text{SO}_4^{2-}$ , Sebagai *trace element* diperlukan Fe,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ .

c. Konsentrasi ion hidrogen (pH)

Sebagian besar organisme memiliki kisaran pH optimum yang sangat sempit, pH optimum harus ditentukan secara empiris untuk masing-masing spesies. Sebagian besar organisme tumbuh baik pada pH antara 6,0 - 8,0 disebut neutrophil. Asidofil tumbuh baik pada pH optimum 3,0. Alkalifil mempunyai pH optimum 10,5.

d. Aerasi

Bakteri dapat dibedakan pada kemampuan untuk tumbuh dengan adanya oksigen atau tidak adanya oksigen. Hal tersebut mungkin sangat berpengaruh terhadap patogenesis dan juga punya arti penting pada proses isolasi dan identifikasi bakteri.



## II.7 Fermentasi

Tahapan fermentasi terdiri dari 3 tahapan yaitu:

1. *Propagasi inoculum* merupakan tahapan dimana mikroorganisme induk untuk proses fermentasi dikembangkan sehingga diperoleh mikroorganisme yang jumlahnya cukup untuk fermentasi skala besar.
2. Fermentasi skala pilot, merupakan tahapan fermentasi skala kecil untuk mengetahui formulasi media fermentasi yang menghasilkan produk optimum.
3. Fermentasi skala besar, merupakan tahapan produk skala sebenarnya setelah fermentasi skala pilot sesuai dengan formulasi (Vivi dkk, 2018).

## II.8 Cara pengujian antimikroba

### II.8.1 Metode difusi

#### II.8.1.1 Metode difusi agar

Alat yang digunakan pada metode ini yaitu pencadang atau disk. Prinsip metode ini yaitu agen antimikroba yang terdapat pada pencadang/disk akan berdifusi ke dalam medium agar berisi mikroorganisme uji dan akan menghambat pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan adanya zona hambat (bening).

Kelemahan metode ini yaitu tidak dapat membedakan efek bakterisida dan bakteriostatik serta tidak sesuai untuk menentukan konsentrasi hambat minimum karena tidak diketahui secara pasti jumlah agen antimikroba yang kedalam medium agar. Meskipun demikian, metode ini memiliki



kelebihan seperti sederhana, murah dan mudah untuk menginterpretasikan hasil yang diperoleh.

### **II.8.1.2 Metode gradient antimikroba (e-test)**

Metode ini menggabungkan prinsip metode dilusi dan difusi dalam menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM). Hal ini didasarkan pada kemungkinan terbentuknya gradient konsentrasi zat antimikroba yang diuji pada media agar. Adapun prosedur kerja metode ini yaitu strip yang mengandung zat antimikroba dengan gradient konsentrasi meningkat dari satu ujung ke ujung lainnya dimasukkan ke dalam media agar yang telah berisi mikroba uji. Kemudian diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Nilai KHM ditentukan pada bagian antar strip yang memiliki zona hambat paling kecil.

### **II.8.1.3 Metode Kromatografi Lapis Tipis-Bioautografi**

Metode ini menggabungkan kromatografi lapis tipis dengan deteksi biologis dan kimia. Beberapa penelitian telah menggunakan metode ini untuk menentukan aktivitas antibakteri dan antifungi. Ada tiga metode bioautografi yang dapat digunakan yaitu metode kontak, metode bioautografi langsung, metode bioautografi pencelupan, dan metode difusi lainnya.

### **II.8.2 Metode dilusi**

Metode dilusi merupakan metode yang paling tepat untuk penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) karena, konsentrasi zat antimikroba dapat pada media padat (dilusi padat) dan cair (mikro dan marodilusi)



dapat diketahui. Dilusi cair dan padat dapat digunakan secara kuantitatif untuk mengukur aktivitas antimikroba. Nilai KHM yang didapatkan didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari zat antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan biasanya dinyatakan dalam mg/L atau mg/mL (Balouri *et al*, 2016).

## II.9 Uraian bakteri uji

### II.9.1 *Escherichia coli*

Devisi	: Protophyta
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri *E. coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0,5 micrometer. Volume sel *E. coli* berkisar 0,6 - 0,7  $\mu\text{m}^3$ . Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20 - 40°C dengan suhu optimumnya pada suhu 37°C dan tergolong bakteri gram negatif (Escherich, 1885).





## II.9.2 *Staphylococcus aureus*

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schyzomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Family	: Micrococcaceae
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bola dengan diameter 0,5 - 1,5 micrometer tidak mempunyai alat gerak dan tidak tahan asam. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 37°C. Pada suhu biasanya terdapat pada kulit, saluran pernafasan bagian atas, saluran air kemih, mulut, hidung, luka yang terinfeksi, selaput lender dan tempat lainnya (Shabrina & Bani, 2012).

