

**ISOLASI DAN SKRINING AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI *ACTINOMYCETES* SAMPEL TANAH  
BAKAU DI HUTAN BAKAU LUPPUNG, BULUKUMBA**

**ISOLATION AND SCREENING OF *ACTINOMYCETES*  
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MANGROVE SOIL  
SAMPLES IN LUPPUNG FOREST, BULUKUMBA**

Disusun dan diajukan oleh

**NURUL FITRI SYAHRIR  
N111 16 537**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**ISOLASI DAN SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
*ACTINOMYCETES* SAMPEL TANAH BAKAU DI HUTAN BAKAU  
LUPPUNG, BULUKUMBA**

**ISOLATION AND SCREENING OF *ACTINOMYCETES*  
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MANGROVE SOIL SAMPLES IN  
LUPPUNG FOREST, BULUKUMBA**

SKRIPSI

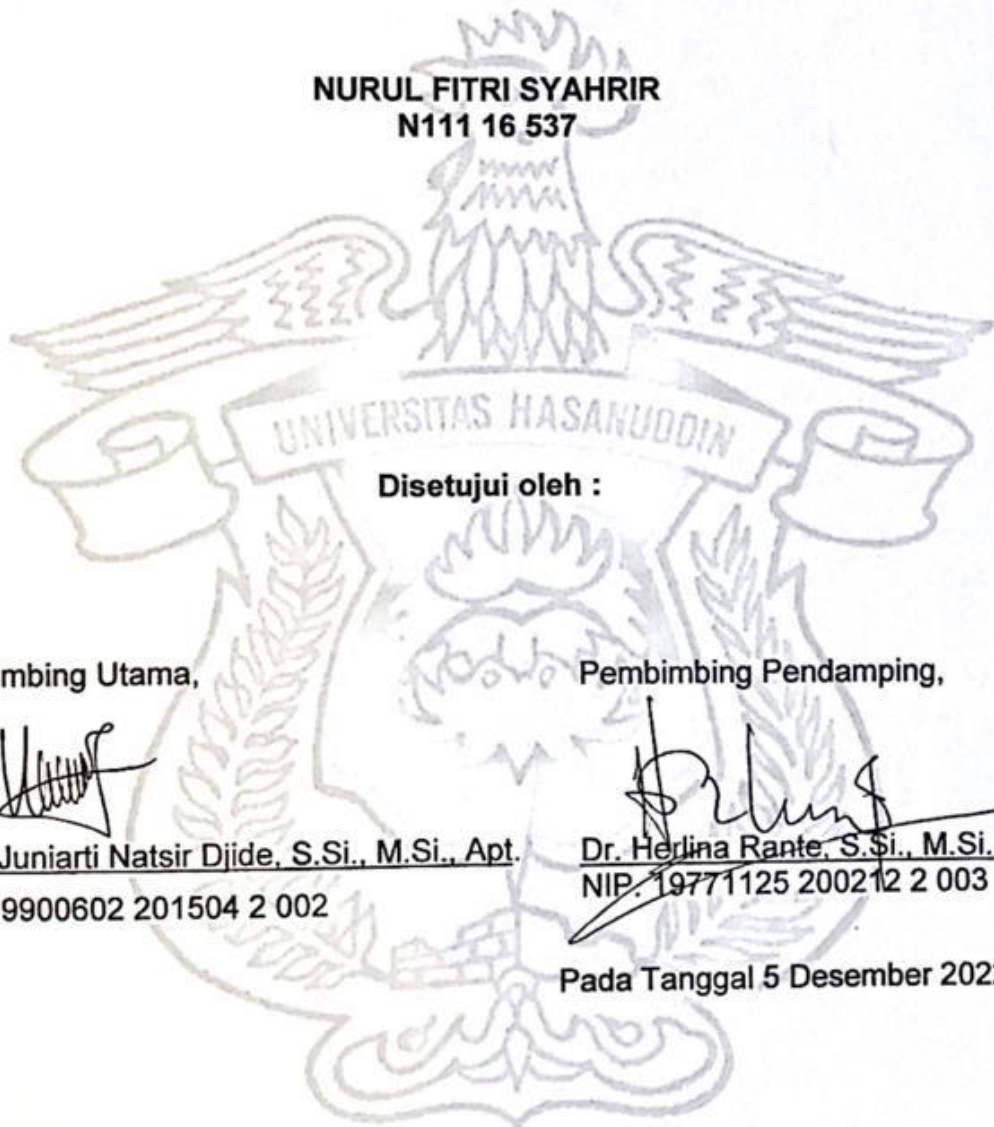
untuk melengkapi tugas-tugas dan  
memenuhi syarat-syarat untuk  
mencapai gelar sarjana

**NURUL FITRI SYAHRIR  
N111 16 537**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**ISOLASI DAN SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
ACTINOMYCETES SAMPEL TANAH BAKAU DI HUTAN BAKAU  
LUPPUNG, BULUKUMBA**

**NURUL FITRI SYAHRIR  
N111 16 537**



**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama,**

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Nana Juniarti Natsir Djide'.

**Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.**

**NIP. 19900602 201504 2 002**

**Pembimbing Pendamping,**

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Dr. Herlina Rante'.

**Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.**

**NIP. 19771125 200212 2 003**

**Pada Tanggal 5 Desember 2022**

## LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI DAN SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
ACTINOMYCETES SAMPEL TANAH BAKAU DI HUTAN BAKAU  
LUPPUNG, BULUKUMBA**

**ISOLATION AND SCREENING OF ACTINOMYCETES  
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MANGROVE SOIL SAMPLES IN  
LUPPUNG FOREST, BULUKUMBA**

Disusun dan diajukan oleh:

**NURUL FITRI SYAHRIR  
N111 16 537**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 5 Desember 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



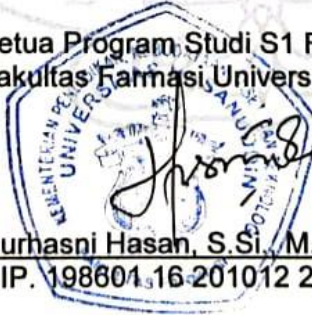
Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19900602 201504 2 002

Pembimbing Pendamping



Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19780728 200212 2 003

Ketua Program Studi S1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M. Pharm.Sc., Ph. D., Apt.  
NIP. 198601.16.201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nurul Fitri Syahrir  
NIM : N111 16 537  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul Isolasi Dan Skrinning Aktivitas Antibakteri *Actinomycetes* Sampel Tanah Bakau Di Hutan Bakau Luppung Bulukumba merupakan hasil karya saya sendiri 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 saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 5 Desember 2022

Yang menyatakan,



Nurul Fitri Syahrir

## UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur dipanjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa, atas segala limpahan berkah rahmatnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kendala yang dihadapi, namun dengan bantuan berbagai pihak skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis mengungkapkan rasa hormat, serta ungkapan rasa terima kasih terdalem kepada yang terhormat ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S. Si., M. Si., Apt. selaku pembimbing utama yang telah banyak meluangkan waktu dan pikirannya dalam mengarahkan penulis selama penyusunan skripsi. Terima kasih banyak kepada ibu Dr. Herlina Rante, S. Si., M. Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktunya selama ini untuk memberikan bimbingan, saran, motivasi, menyumbangkan ide-ide kepada penulis, memberikan arahan, nasehat. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, terima kasih kepada :

1. Dekan dan Wakil Dekan, serta staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan serta motivasi kepada penulis selama proses perkuliahan.
2. Bapak Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. dan bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Apt. selaku tim penguji ujian skripsi yang

telah memberi kritik dan saran yang sangat membantu dalam penyusunan skripsi ini.

3. Ibu Apt. Nana Juniarti ND, S.Si., M.Si., yang telah menjadi orang tua telah banyak meluangkan waktunya dalam membimbing dan memberikan nasehat akademik yang membangun kepada penulis.
4. Seluruh laboran laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, khususnya ibu Haslia, S.Si. atas segala bantuan fasilitas selama penulis mengerjakan penelitian.
5. Kedua orang tua tercinta bapak Letda Inf. Syahrir Burhan dan ibu Hanina yang selalu mendengarkan dan memberikan dukungan kepada penulis baik moral maupun materil, serta terima kasih kasih juga penulis ucapkan pada Nurfadillah Syahrir dan Muh. Farhan Syahrir sebagai adik dari penulis yang juga selalu memberi motivasi dan masukan selama proses pengerjaan skripsi.
6. Semua teman angkatan saya, NEOST16MINE yang telah berproses bersama penulis sejak mahasiswa baru hingga mencapai gelar sarjana baik selama perkuliahan maupun selama proses penelitian.
7. Teman-teman WANITAH (Rima, Ainun, Fatimah, Puput, Zenit, Lala, Afda, Cinci, Lis, Fira, Kesya, Mawa, Aya, dan Rini) yang selalu menyemangati penulis di saat-saat terendah dalam hidup penulis.
8. Kepada Dimas F Saputra yang senantiasa menjadi pengingat, memotivasi, serta selalu bersedia menemani penulis dalam proses penyelesaian penelitian ini.

9. Kepada Ibnu Firman Mahsyurah, S.T. dan Fathul Mubarak Syahrawi S.T. yang senantiasa bersedia menemani dan mendengarkan keluah kesah penulis.
10. Teman-teman BARISTA yaitu Gina Melati Saira, Nurul Wahidah Sul, dan Andi Masrura Nur yang telah menjadi sahabat serta selalu menguatkan dimasa-masa tersusah penulis.
11. Kepada Perpus Crew yaitu Kak Syafira Pratiwi, Kak Vulky, Kak Azatil, Kak Rika, Kak Risur, Kak Grace, dan Kak Aldi yang senantiasa menemani penulis dalam proses penelitian di laboratorium mikrobiologi.

Ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu namun tidak sempat disebutkan namanya satu persatu. Semoga Tuhan yang Maha Esa membalas semua kasih dan kebaikan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa di dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun dari berbagai pihak. Kiranya skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam pembangunan serta pengembangan ilmu pengetahuan khususnya pada bidang Farmasi.

Makassar, 5 Desember 2022



Nurul Fitri Syahrir



## ABSTRAK

**NURUL FITRI SYAHRIR.** *Isolasi dan Skrinning Aktivitas Antibakteri Actinomycetes Sampel Tanah Bakau Di Hutan Bakau Luppung Bulukumba.* (Dibimbing oleh Nana Juniarti Natsir Djide dan Herlina Rante).

*Actinomycetes* merupakan bakteri saprofit penghasil senyawa bioaktif yang umum ditemukan pada lingkungan terestrial dan akuatik. Saat ini jenis senyawa bioaktif unik dari *Actinomycetes* terestrial sebagian besar telah diketahui sehingga pencarian *Actinomycetes* diarahkan pada lingkungan laut. Tanaman Mangrove memiliki lahan basah yang terletak di wilayah interfase antara lingkungan laut dan darat sehingga dapat menjadi sumber potensial untuk isolasi mikroorganismenya. Isolasi dilakukan menggunakan media *International Streptomyces Project-4* (ISP-4) dan ISP-4 dalam air laut (ISP-4 + air laut), dilanjutkan dengan uji antagonis dan fermentasi isolat aktif menggunakan media M1. Hasil fermentasi diekstraksi menggunakan metode ekstraksi cair-cair etil asetat:air (1:1v/v) dilanjutkan dengan uji aktivitas menggunakan metode difusi cakram. Sebanyak 6 isolat dipilih yaitu 3 kandidat isolat dari medium ISP-4 diberi kode BK-1 hingga BK-3 dan 3 kandidat isolat dari medium ISP-4 + air laut diberi kode BKAL-1 hingga BKAL-3, isolat BK-1 menunjukkan pertumbuhan yang cepat dan aktivitas baik. Hasil pengujian aktivitas antimikroba hasil fermentasi isolat BK-1 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar  $13.70 \pm 0,65$  mm serta aktivitas fungistatik terhadap *Candida albicans* dengan daya hambat sebesar  $13.32 \pm 1,64$  mm dan *Aspergillus niger* sebesar  $10.34 \pm 0,24$  mm. Hasil menunjukkan *Actinomycetes* yang diisolasi dari tanah rizosfer tanaman mangrove memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antimikroba, namun optimalisasi terhadap proses fermentasi perlu dilakukan.

**Kata kunci:** antimikroba, mangrove, *Actinomycetes*, rizosfer

## ABSTRACT

**NURUL FITRI SYAHRIR.** *Isolation And Screening Of Actinomycetes Antibacterial Activity Of Mangrove Soil Samples In Luppung Forest, Bulukumba* (Supervised by Nana Juniarti Natsir Djide and Herlina Rante).

Actinomycetes are saprophytic bacteria that produce bioactive compounds commonly found in terrestrial and aquatic environments. The search for new actinomycetes has shifted to marine ecosystems since most of the active compounds from terrestrial actinomycetes have been studied. Mangrove plants are located in wetlands in the interface area between marine and terrestrial environments, which is a potential source for diverse Actinomycetes. Isolation was carried out using International Streptomyces Project-4 (ISP-4) and ISP-4 media in seawater (ISP-4 + seawater), followed by antagonistic assay and fermentation of active isolate in M1 media. The fermented product was extracted using the liquid-liquid extraction method in ethyl acetate:water (1:1v/v), followed by an antimicrobial activity testing assay using the disc diffusion method. A total of six isolates were selected, three fished from medium ISP-4 (coded as BK-1 to BK-3) and three fished from medium ISP-4 + seawater (coded BKAL-1 to BKAL-3). Isolate BK-1 showed fast growth and good antimicrobial activity and then was subjected to fermentation. The results of the antimicrobial activity assay of extracts of fermented isolate BK-1 showed that the ethyl acetate extract had an inhibitory effect on the growth of *Escherichia coli* of  $13.70 \pm 0.65$  mm, fungistatic activity against the inhibition zone of  $13.32 \pm 1.64$  mm on *Candida albicans* and  $10.34 \pm 0.24$  mm on *Aspergillus niger*. In conclusion, Actinomycetes isolated from the rhizosphere soil of mangrove plants exhibited potential as antimicrobial compound producers; however, optimization of the fermentation process is suggested.

**Key words:** *antimicrobial, mangrove, Actinomycetes, rhizosphere*

## DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Hutan Bakau (Mangrove)	4
II.2 <i>Actinomycetes</i>	6
II.2.1 Lingkungan dan Populasi <i>Actinomycetes</i>	7
II.2.2 Klasifikasi <i>Actinomycetes</i>	8
II.2.3 Senyawa Metabolit <i>Actinomycetes</i>	8
II.3 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme	11
II.4 Fermentasi	14
II.4.1 Proses Fermentasi	15
II.5 Mikroba Uji	17
II.5.1 <i>Escherichia coli</i>	17
II.5.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
II.5.3 <i>Candida albicans</i>	18
II.5.4 <i>Aspergillus niger</i>	19
II.6 Antimikroba	20
II.6.1 Uji Aktivitas Antimikroba	22
II.6.1.1 Metode Difusi	22
II.6.1.2 Metode Dilusi	23

BAB III METODE PENELITIAN	24
III.1 Alat dan Bahan	24
III.2 Metode Penelitian	24
III.2.1 Penyiapan Sampel	24
III.2.2 Sterilisasi Alat	25
III.2.3 Penyiapan Medium	25
III.2.3.1 Penyiapan Medium ISP-4	25
III.2.3.2 Penyiapan Medium ISP-2	26
III.2.3.3 Penyiapan Medium NA	26
III.2.3.4 Penyiapan Medium PDA	26
III.2.3.5 Penyiapan Medium M1 <i>Seed</i>	26
III.2.3.6 Penyiapan Medium M1 <i>Fermentation</i>	27
III.2.3.7 Penyiapan Medium MHA	27
III.2.4 Isolasi <i>Actinomyces</i>	27
III.2.5 Penyiapan Mikroba Uji	28
III.2.6 Uji Antagonis	28
III.2.7 Pembuatan Starter	29
III.2.8 Fermentasi dan Ekstraksi Isolat <i>Actinomyces</i>	29
III.2.9 Uji Aktivitas Antimikroba	30
III.2.10 Analisis Data, Pembahasan, dan Kesimpulan	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
IV.1 Isolasi <i>Actinomyces</i>	32
IV.2 Uji Antagonis	35
IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi	36
IV.4 Aktivitas Antimikroba	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
V.1 Kesimpulan	43
V.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	49

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>halaman</b>
1. Karakteristik isolat <i>Actinomycetes</i>	32
2. Hasil uji antagonis isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap mikroba uji	33
3. Pengukuran rata-rata diameter zona hambat (mm) ekstrak etil asetat dan air isolat <i>Actinomycetes</i> BK-1	38
4. Komposisi Media NA	48
5. Komposisi Media PDA	48
6. Komposisi Media MHA	48
7. Komposisi Media ISP-4	48
8. Komposisi Media ISP-4 + Air laut	49
9. Komposisi Media ISP-2	49
10. Diameter zona hambat pada bakteri uji <i>E. coli</i>	50
11. Diameter zona hambat pada bakteri uji <i>C. albicans</i>	50
12. Diameter zona hambat pada bakteri uji <i>A. niger</i>	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Zonasi Persebaran Jenis Pohon Mangrove	5
2. Rumus Struktur Tetrasiklin	9
3. Rumus Struktur Eritromisin	10
4. Rumus Struktur Streptomisin	11
5. Grafik Fase Pertumbuhan Mikroorganismen	11
6. Hasil Peremajaan isolat murni <i>Actinomyces</i> BK-1 (a) metode gores sinabung pada cawan petri, (b) metode agar miring pada tabung reaksi	36
7. Kurva hubungan antara diameter zona hambat (mm) dan lama fermentasi (hari) Isolat <i>Actinomyces</i> kode BK-1 terhadap bakteri uji <i>C. albicans</i> .	38
8. Kurva hubungan antara diameter zona hambat (mm) dan lama fermentasi (hari) Isolat <i>Actinomyces</i> kode BK-1 terhadap bakteri uji <i>A. niger</i> .	39
9. Peta lokasi pengambilan sampel	54
10. Tempat Pengambilan Sampel	54
11. Hasil uji antagonis isolat terhadap <i>C. albicans</i>	55
12. Hasil uji antagonis isolat terhadap <i>A. niger</i>	55
13. Hasil fermentasi selama 12 hari	55
14. Hasil uji fermentasi isolat terhadap <i>C. albicans</i>	56
15. Hasil uji fermentasi isolat terhadap <i>A. niger</i>	56
16. Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap <i>E. coli</i>	56
17. Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap <i>C. albicans</i>	57
18. Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap <i>A. niger</i>	57

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	47
2. Komposisi Media	48
3. Tabel Diameter Zona Hambat	50
4. Lokasi Pengambilan Sampel	52
5. Gambar Hasil Penelitian	53

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Di negara berkembang seperti Indonesia, penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab utama tingginya angka kematian. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi, 2008). Pengobatan yang dapat dilakukan untuk penyakit infeksi adalah dengan penggunaan antibiotik (Utami, 2011).

Timbulnya berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, mendorong berbagai penelitian agar mampu menghasilkan antibiotik baru yang memiliki potensi serta efek yang maksimal untuk mengobati penyakit infeksi. Salah satu mikroorganisme penghasil antibiotik adalah *Actinomycetes* (Waluyo, 2009). *Actinomycetes* merupakan bakteri gram positif yang tersebar luas di alam penghasil senyawa (Amrita *et al.*, 2012). Sebagian besar senyawa bioaktif berpotensi sebagai antibiotik, salah satunya *Streptomyces* yang merupakan organisme penghasil antibiotik utama yang dieksploitasi untuk kepentingan industri farmasi (Bredholdt *et al.*, 2007).

*Actinomycetes* ditemukan melimpah di tanah (Kumar *et al.*, 2010) dan juga paling banyak ditemukan di rizosfer, hal ini dikarenakan rizosfer mampu mengeluarkan eksudat-eksudat yang berguna sebagai sumber



energi bagi kehidupan mikroorganisme disekitar perakaran (Rao, 1994). *Actinomycetes* yang diperoleh dari tanah dikenal mampu memproduksi metabolit sekunder (Sharma *et al.*, 2011). Salah satu lingkungan tanah sebagai sasaran eksplorasi *Actinomycetes* adalah ekosistem hutan bakau (Santhi *et al.*, 2010; Khanna *et al.*, 2011).

Hutan bakau merupakan ekosistem pantai dengan kondisi lingkungan yang ekstrem dan dengan kondisi salinitas tinggi, pasang surut yang ekstrim, tekanan angin yang kuat, suhu tinggi dan berlumpur, serta tanah yang anaerob (Mitsch & Gosselink, 2000; Alongi, 2009). Untuk merespon kondisi tersebut, maka organisme penyusun ekosistem bakau mampu mengembangkan kemampuan beradaptasi secara morfologi, biologis, ekologis, dan fisiologis (Mitsch & Gosselink, 2000; Alongi, 2009). *Actinomycetes* merupakan salah satu kelompok bakteri yang mampu hidup di ekosistem hutan bakau. Kelompok bakteri tersebut memiliki karakter fisiologi, biokimia, dan struktur selular yang spesifik untuk beradaptasi terhadap cekaman lingkungan (tekanan, salinitas, dan suhu) yang diekspresikan melalui produksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi (Basilio *et al.*, 2003).

Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi *Actinomycetes* dari tanah bakau. Penelitian Retnowati dkk. (2017) menemukan sebanyak 167 isolat *Actinomycetes* yang terdistribusi pada rizosfer 7 jenis bakau, sebanyak 77 isolat *Actinomycetes* menunjukkan aktivitas antibakteri melawan bakteri patogen, terdiri dari 52 isolat melawan bakteri Gram-

positif (*narrow spectrum*) dan 25 isolat melawan bakteri Gram-negatif (*broad spectrum*).

Hutan bakau Luppung merupakan lokasi wisata alternatif di Bulukumba yang menawarkan pesona alam bahari dipadu hijaunya hutan mangrove yang eksotis dengan luas hutan mangrove kurang lebih 13 hektar. Melihat potensi *Actinomycetes* yang telah diteliti dari tanah bakau serta belum adanya penelitian lanjut mengenai tanah bakau dari Hutan Bakau Luppung Bulukumba ini, maka penelitian ini difokuskan pada isolasi *Actinomycetes* yang berasal dari tanah bakau di Hutan Bakau Luppung Bulukumba yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah isolat mikroba *Actinomycetes* sampel tanah bakau di Hutan Bakau Luppung dapat menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi mikroba *Actinomycetes* tanah bakau di Hutan Bakau Luppung yang berpotensi sebagai antibakteri.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Hutan Bakau (Mangrove)**

Ekosistem mangrove ialah suatu sistem di alam sebagai tempat berlangsungnya kehidupan yang merefleksikan hubungan timbal balik antara makhluk hidup dan lingkungannya, serta antara makhluk hidup itu sendiri, berada di wilayah pesisir, terpengaruh oleh pasang surut air laut, serta didominasi oleh spesies pohon ataupun semak yang khas serta dapat tumbuh di dalam perairan payau/asin (Santoso, 2000).

Sekitar 24 famili dan antara 54 sampai dengan 75 spesies mangrove yang tersebar di dunia, Asia merupakan wilayah yang mempunyai keanekaragaman jenis mangrove paling tinggi (Irwanto, 2006). Penyebaran mangrove di wilayah Asia antara lain: 41 jenis di Filipina , 32 jenis di Ceylon, 27 jenis di Thailand, dan tidak kurang dari 89 jenis pohon mangrove di Indonesia (Odum, 1996).

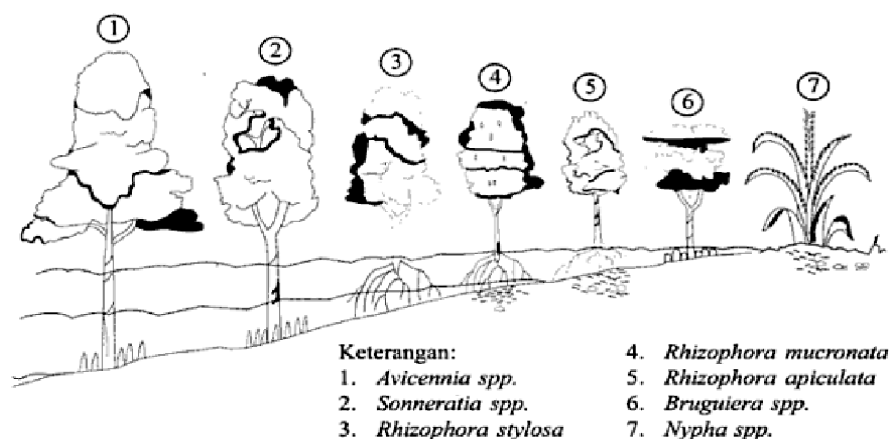
Dari sekian banyak jenis mangrove yang tumbuh di Indonesia, jenis mangrove yang paling banyak dijumpai adalah mangrove jenis bakau (*Rhizophora* sp.), api-api (*Avicennia* sp.), bogem atau pedada (*Sonneratia* sp.), dan tancang (*Bruguiera* sp.). Tomlinson (1986) menggolongkan mangrove menjadi tiga kelompok, sebagai berikut:

A. Flora mangrove mayor (flora mangrove sebenarnya), yaitu tumbuhan atau flora yang mampu memberikan tegakan murni dan secara

dominan mencirikan suatu komunitas, secara morfologi memiliki bentuk adaptif khusus terhadap lingkungan mangrove, bentuk adaptif tersebut misalnya bentuk akar dan viviparitas. Selain itu, flora mangrove jenis ini mempunyai mekanisme fisiologis dalam mengontrol garam. Jenis mangrove yang termasuk dalam golongan ini antara lain *Avicennia* sp., *Rhizophora* sp., *Bruguiera* sp., *Ceriops* sp., *Kandelia* sp., *Sonneratia* sp., *Lumnitzera* sp., *Laguncularia* sp., dan *Nypa* sp.

B. Flora Mangrove minor, yaitu tumbuhan atau flora mangrove yang tidak mampu membentuk tegakan murni sehingga secara morfologi tidak berperan dalam struktur komunitas. Jenis mangrove yang termasuk dalam golongan ini antara lain *Excoecaria* sp., *Xylocarpus* sp., *Heritiera* sp., *Aegiceras* sp., *Aegialitis* sp., *Acrostichum* sp., *Campostemon* sp., *Scyphiphora* sp., *Pemphis* sp., *Osbornia* sp., dan *Pelliciera* sp.

C. Asosiasi Mangrove, mangrove yang termasuk dalam golongan ini antara lain *Cerbera* sp., *Acanthus* sp., *Derris* sp., *Calamus* sp.



**Gambar 1. Zonasi persebaran jenis pohon mangrove (Arief, 2003)**

## II.2 *Actinomycetes*

*Actinomycetes* adalah organisme tanah yang memiliki sifat-sifat yang umum dimiliki oleh bakteri dan jamur tetapi juga mempunyai ciri khas yang cukup berbeda. Pada lempeng agar, *Actinomycetes* dapat dibedakan dengan mudah dengan bakteri yang sebenarnya. Tidak seperti koloni bakteri sebenarnya yang jelas berlendir dan tumbuh dengan cepat, sedangkan koloni *Actinomycetes* muncul perlahan menunjukkan konsistensi berbutuk dan melekat erat pada permukaan agar. Pengamatan yang diteliti pada suatu koloni di bawah mikroskop yang membentuk spora aseksual untuk perkembangbiakannya (Rao, 1994).

*Actinomycetes* telah diakui sebagai sumber penting bagi senyawa bioaktif alami. Dari sekitar 18.000 senyawa bioaktif bakteri yang dikenal saat ini, lebih dari 10.000 diketahui dihasilkan oleh *Actinomycetes* dari genus *Streptomyces* selama lebih dari 70 tahun. Banyak antibiotik komersial seperti tetrasiklin, eritromisin, vancomisin, dan streptomycin yang berasal dari metabolisme sekunder *Actinomycetes*. Selain itu, *Actinomycetes* juga banyak menghasilkan metabolit non-antibiotik, seperti enzim, penghambat enzim, pengatur imunologi, anti-oksidasi. reagen, dan sebagainya. (Chavan, 2013; Sofariyanti *et al.*, 2019).

Secara umum, *Actinomycetes* terbagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama yaitu *Streptomyces* dan kedua disebut *rare-Actinomycetes*. *Streptomyces* merupakan genus yang paling mendominasi kelompok *Actinomycetes* dan genus ini telah banyak diteliti

karena kemampuannya dalam memproduksi senyawa bioaktif. Sedangkan *rare-Actinomycetes*, digunakan sebagai istilah untuk menyebut genus selain *Streptomyces*. *Rare-Actinomycetes* terdiri dari 201 genus dan relatif lebih sulit diisolasi, serta pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan dengan *Streptomyces* (Krismawati *et al.*, 2015; Nurkanto & Agusta, 2015).

### II.2.1 Lingkungan dan Populasi *Actinomycetes*

*Actinomycetes* termasuk bakteri yang tidak tahan asam, berbentuk batang, gram positif, bersifat anaerob atau anaerob fakultatif (mampu tumbuh baik jika ada terdapat O<sub>2</sub> bebas atau tidak ada O<sub>2</sub>). *Actinomycetes* tidak toleran terhadap asam dan jumlahnya menurun pada keadaan lingkungan dengan pH dibawah suhu 5,0. Rentang pH yang paling cocok untuk perkembangbiakan *Actinomycetes* adalah antara 6,5 – 8,0. Tanah yang tergenang air tidak cocok untuk pertumbuhan *Actinomycetes*, sedangkan tanah gurun yang kering atau setengah kering dapat mempertahankan populasi dalam jumlah besar, karena adanya spora. Pertumbuhan optimum pada suhu antara 28 – 37°C, tetapi beberapa *Actinomycetes* masih dapat tumbuh dalam jumlah besar pada suhu 55 – 65°C (Jawetz *et al.*, 2001).

Populasi *Actinomycetes* berada pada urutan kedua setelah bakteri, bahkan kadang-kadang hampir sama *Actinomycetes* hidup saprofit dan aktif mendekomposisi bahan organik, sehingga dapat meningkatkan kesuburan tanah. *Actinomycetes* merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu mendegradasi selulosa disamping bakteri, kapang dan

khamir. Jenis *Actinomycetes* tergantung pada tipe tanah, karakteristik fisik, kadar bahan organik, dan pH lingkungan (Jawetz *et al.*, 2001).

*Actinomycetes* terdiri dari 10 – 20% total populasi mikroba dalam tanah. Jumlah *Actinomycetes* meningkat dengan adanya bahan organik yang mengalami dekomposisi. Organisme ini ditemukan (hampir semua) dalam kompos dan sedimen (Jawetz *et al.*, 2001).

### **II.2.2 Klasifikasi *Actinomycetes***

*Actinomycetes* termasuk ordo *Actinomycetales* yang terdiri atas 3 famili yaitu (Waluyo, 2009):

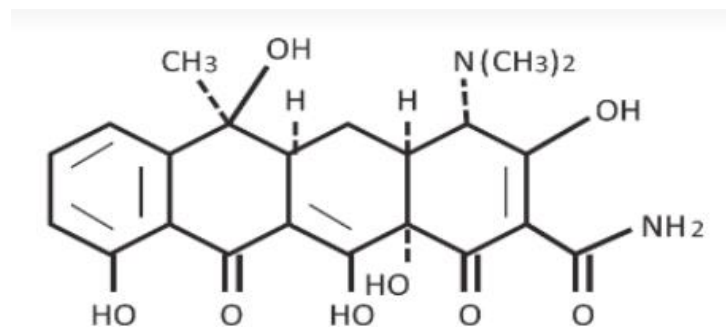
- a. Famili *Mycobacteriaceae*. Sel- sel tidak membentuk miselium atau hanya miselium yang rudimenter. Misalnya *Mycobacterium* dan *Mycococcus*.
- b. Familia *Actinomycetaceae*. Tidak membentuk spora dan motil. Misalnya *Actinomyces* dan *Nocardia*.
- c. Familia *Streptomycetaceae*. Membentuk miselium, miselium vegetatif tidak terbagi-bagi. Misalnya *Streptomyces*, *Micromonosora* dan *Thermoactinomyces*.

### **II.2.3 Senyawa Metabolit *Actinomycetes***

Salah satu sumber metabolit sekunder yang bersifat antibiotika dapat berasal dari *Actinomycetes*. Banyak antibiotika komersial, seperti: tetrasiklin, eritromisin, dan streptomycin berasal dari metabolisme sekunder *Actinomycetes* (Weber *et al.*, 2015).

a. Tertrasiklin

Tetrasiklin ditemukan sekitar tahun 1940 yang merupakan antibiotik yang mengganggu proses sintesis protein. Antibiotik ini juga merupakan antibiotik pilihan yang mampu menghambat bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Senyawa ini diperoleh dari *Streptomyces aureofaciens* dan *Streptomyces rimosus* (Russel *et al.*, 1990). Mekanisme kerja tetrasiklin pada proses sintesis protein yaitu antibiotik ini akan berikatan dengan subunit 30S rRibosom sehingga akan menghambat ikatan aminoasil tRNA pada sisi A rRibosom sehingga akan mengganggu ikatan peptide (Chopra, 2001).

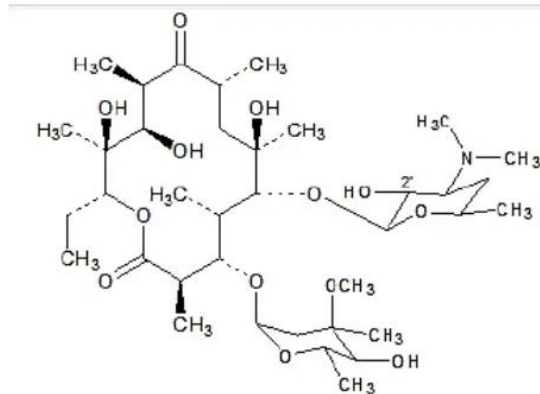


**Gambar 2. Struktur kimia tertrasiklin (Griffin *et al.*, 2010)**

b. Eritromisin

Eritromisin adalah golongan makrolida yang bersifat bakteriostatik serta efektif terhadap kuman gram positif dan negatif. Eritromisin bekerja dengan merusak sintesis protein dalam sel, seperti halnya golongan tetrasiklin dan kloramfenikol. Eritromisin dihasilkan oleh suatu strain *Streptomyces erythreus* (Azwar, 2004).

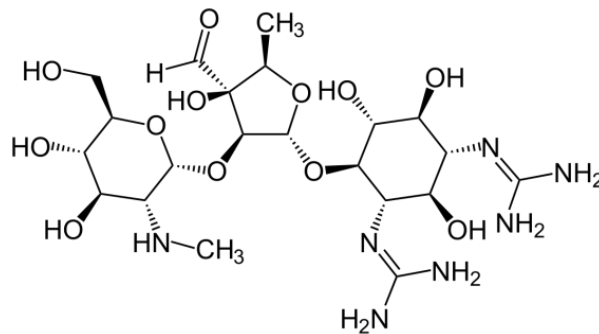




**Gambar 3. Struktur kimia eritromisin (Ashutosh, 2014)**

c. Streptomisin

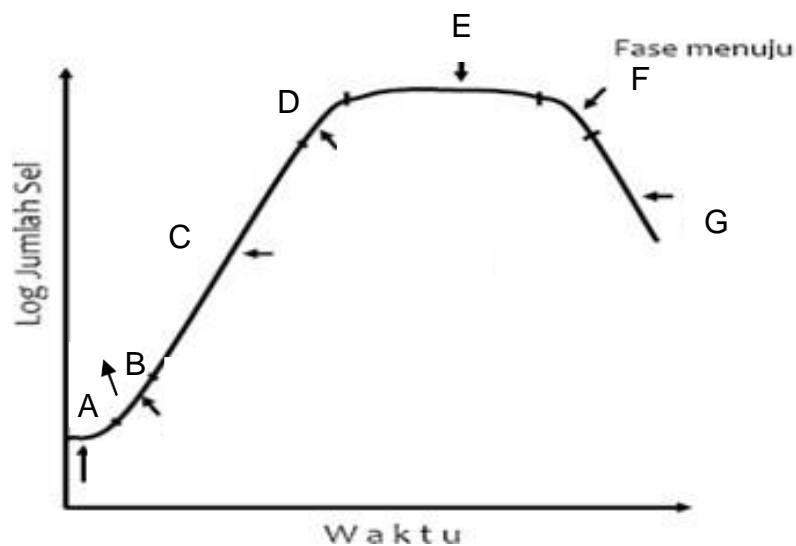
Antibiotik pada dasarnya dibuat dalam skala industri dengan cara menginokulasi spora dari kapang atau *streptomyces*, strain *streptomyces griseus* dan *actinomycetes* lainnya menghasilkan streptomisin dan berbagai antibiotik lainnya. Streptomisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida. Antibiotik ini memiliki spektrum luas dan bersifat bakterisidal dengan penghambat pada sintesis protein. Antibiotik ini berikatan pada sub unit 30S ribosom bakteri (beberapa juga pada subit 50S ribosom) dan menghambat translokasi peptidal-tRNA dari situs A ke situs P, dan menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA dan mengakibatkan bakteri tidak mampu menyintesis protein vital untuk pertumbuhannya (Pratiwi, 2008).



Gambar 4. Struktur kimia streptomisin (Kolyva & Karakousis, 2012)

### II.3 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan jumlah atau volume serta ukuran sel. Pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan sigmoid.



Gambar 5. Grafik Fase Pertumbuhan Mikroorganisme (Djide *et al.*, 2009): (A) Fase adaptasi, (B) Fase pertumbuhan, (C) Fase pertumbuhan logaritma, (D) Fase pertumbuhan mulai terhambat, (E) Fase stationer maksimum, (F) Fase kematian dipercepat, dan (G) Fase kematian logaritma.

Fase pertumbuhan mikroorganisme terbagi menjadi enam fase yang dijabarkan sebagai berikut (Djide *et al.*, 2009):

- A. Fase permulaan (adaptasi). Pada fase ini, mikroorganisme melakukan penyesuaian diri dengan lingkungannya yang baru. Berbagai macam enzim dan zat-zat perantara yang dibentuk pada fase ini, sehingga memungkinkan akan terjadi pertumbuhan lebih lanjut. Sel-sel pada fase ini mulai membesar, tetapi belum melakukan pembelahan sel.
- B. Fase pertumbuhan dipercepat. Bersama-sama dengan fase permulaan fase ini disebut fase penyesuaian diri "*lag phase*" atau "*phase of adjustment*" terhadap faktor lingkungan yang ada. Populasi sel yang ada mulai menyesuaikan diri terhadap jenis nutrisi yang baru, enzim induktif dibentuk oleh sel selama fase penyesuaian diri ini. Kecepatan pertumbuhan makin lama makin tinggi waktu generasi (waktu yang dibutuhkan oleh populasi sel untuk berkembang menjadi dua kali lipat).
- C. Fase pertumbuhan logaritma. Pada saat ini, anggota populasi sel berkembang biak dengan kecepatan maksimum yang konstan. Waktu generasi paling pendek dan konstan pada setiap titik digaris fase ini. Ukuran sel paling minimum dengan dinding sel dan membran sitoplasma paling tipis. Kecepatan metabolismenya paling tinggi. Bila populasi sel dari fase ini dipindahkan ke medium baru dengan komposisi dan kondisi lingkungan yang sama, maka dalam medium baru ini populasi sel akan langsung mengalami fase pertumbuhan

logaritma, tanpa melalui fase adaptasi. Berakhirnya fase logaritma ini disebabkan oleh habisnya nutrisi (sebagian atau seluruh komponen).

- D. Fase pertumbuhan mulai terhambat. Pada fase ini, kecepatan pertumbuhan menurun. Jumlah sel mati semakin bertambah, disebabkan oleh peracunan metabolit. Pada fase ini pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah populasi naik karena jumlah sel yang tumbuh masih banyak dibanding dengan jumlah sel yang mati.
- E. Fase stasioner maksimum. Pada saat ini, jumlah sel yang hidup seimbang dengan jumlah sel yang mati yang disebabkan oleh peracunan metabolit. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun nutrisi sudah mulai habis. Karena kekurangan zat nutrisi, maka sel kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel menjadi lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan kimia.
- F. Fase kematian dipercepat. Pada fase ini, jumlah sel yang mengalami kematian makin lama makin banyak, sedangkan jumlah pembentukan sel baru makin lama makin menurun.
- G. Fase kematian logaritma. Pada fase ini, tidak terjadi perkembangbiakan sel, yang terjadi adalah kematian sel dengan kecepatan konstan.

## II.4 Fermentasi

Fermentasi dalam mikrobiologi industri digambarkan sebagai proses untuk mengubah bahan dasar menjadi produk yang dikehendaki dalam kultur mikroba tertentu. Sistem fermentasi dapat dilakukan dengan tiga metode, yaitu (Djide *et al.*, 2009) :

### a. Sistem *Batch*

Sistem ini adalah sistem yang paling sederhana dan sering digunakan di laboratorium untuk mendapatkan produk sel atau metabolitnya. Fermentasi sistem *batch* adalah sistem tertutup, artinya semua nutrisi yang dibutuhkan mikroba selama pertumbuhan dan pembentukan produk berada di dalam 1 fermentor. Jadi tidak ada penambahan bahan atau pengambilan hasil selama fermentasi berlangsung.

### b. Sistem *Fed-Batch*

Sistem ini tidak tertutup seperti halnya sistem *batch*. Selama fermentasi, substrat, nutrisi, atau inducer dapat ditambahkan ke dalam fermentor. Sistem *fed-batch* dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu sistem volume tetap dan sistem volume berubah. Sistem volume tetap berarti setiap ada penambahan medium baru ke dalam fermentor, ada medium lama, produk, atau sel yang dikeluarkan sebanyak medium baru yang dimasukkan fermentor; sedangkan sistem volume berubah,

berarti ke dalam fermentor ditambahkan medium baru tetapi tidak ada medium lama atau produk yang dikeluarkan dari dalam fermentor.

c. Sistem *Continuous*

Sistem fermentasi ini biasanya digunakan dalam skala industri. Sistem *continuous* adalah sistem batch yang fase eksponensialnya diperpanjang, dengan tetap menjaga fluktuasi nutrisi dan jumlah sel/biomassa. Mikroba diberi nutrisi/medium segar, sementara itu sejumlah sel atau medium dikeluarkan dari sistem dengan kecepatan yang sama. Hal ini menjamin tingkat kestabilan dari faktor-faktor seperti volume kultur, biomassa, konsentrasi produk dan substrat, pH, suhu, dan oksigen terlarut.

#### **II.4.1 Proses Fermentasi**

Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam proses fermentasi mikroorganisme antara lain (Fardiaz, 1988):

a. Kultur Permukaan (*Surface Culture*)

Pada metode ini, medium diinokulasikan spora atau miselium fungi. Miselium akan tumbuh diseluruh permukaan medium cair membentuk suatu koloni bervariasi. Ini merupakan metode yang paling mudah dan murah, akan tetapi memiliki beberapa kerugian yaitu pertumbuhan yang tidak homogen dimana koloni terdiri dari beberapa miselium yang berbeda pertumbuhannya dan lingkungan tumbuhnya dimana miselium yang berada diatas permukaan koloni berada dalam kondisi yang lebih

aerob dibandingkan yang di bawah permukaan koloni, hal ini berkebalikan pada keadaan kontak dengan medium.

b. Kultur Dengan Pengocokan (*Shaker Culture*)

Pada metode ini medium dikocok setelah diinokulasikan spora atau miselium sehingga pertumbuhan akan tampak pada seluruh medium. Kelebihan metode ini dibandingkan dengan metode kultur permukaan yaitu pemanfaatan medium oleh mikroorganisme lebih efisien, mempercepat pertumbuhan dan pertumbuhannya lebih homogen.

c. Kultur Dengan Pengocokan, Mengalirkan Udara (*Stirred Aerate Culture*)

Metode ini merupakan pengembangan dari metode kultur dengan pengocokan, menggunakan pengaduk medium dan jalur udara atau oksigen. Dikarenakan efisiensi pengocokan dan aerasi produksi dapat meningkat pesat dan ini merupakan metode yang paling efisien untuk memproduksi metabolit fungi dalam skala besar.

d. Kultur Berkelanjutan (*continuous culture*)

Metode ini dilakukan dengan cara berkala mengganti medium pada fermentor dengan medium fermentasi yang baru, hal ini akan menyebabkan proses fermentasi akan terus berlangsung. Metode ini akan sangat bermanfaat untuk penelitian laboratorium fermentasi, karena dengan menjaga ketersediaan medium baru kita dapat

menjaga proses fermentasi pada tahapan yang diinginkan sementara efek yang lain dipelajari.

## **II.5 Mikroba Uji**

### **II.5.1 *Escherichia coli***

Klasifikasi *E. coli* dijabarkan sebagai berikut (Elfidasari, 2011):

Divisi : *Protophyta*  
Kelas : *Schilomycetes*  
Ordo : *Eubacteriales*  
Famili : *Enterobacteriaceae*  
Genus : *Escherichia*  
Spesies : *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki bentuk basil, ada yang monobasil (individu), diplobasil, dan/atau streptobasil, tidak membentuk spora ataupun kapsula, memiliki diameter 1,1–1,5 x 2,0–6,0 µm. Bakteri *E. coli* memiliki pergerakan motil atau pun tidak motil, dan peritrikus. Ada yang bersifat aerob dan anaerob fakultatif dan merupakan penghuni normal usus. Suhu yang baik untuk pertumbuhan *E. coli* yaitu 8°C - 46°C, namun suhu optimalnya adalah 37°C (Elfidasari, 2011).

### **II.5.2 *Staphylococcus aureus***

Klasifikasi *S. aureus* dijabarkan sebagai berikut (Citra *et al.*, 2009):



Kingdom : *Procaryota*  
Divisio : *Firmicutes*  
Kelas : *Bacilli*  
Order : *Bacillales*  
Famili : *Staphylococcaceae*  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk kokus, bersifat non-motil, non-spora, dan anaerob fakultatif. Bakteri *S. aureus* menyerupai bola dengan garis tengah  $\pm 1 \mu\text{m}$  dan dapat tersusun menyerupai buah anggur, membentuk rantai (3-4 sel), berpasangan atau satu-satu. Bakteri *S. aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46°C dan pH 4,2-9,3. Koloninya tumbuh dengan diameter mencapai 4 mm dalam waktu 24 jam. Bentuk koloni berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau pada perbenihan padat. Bakteri *S. aureus* membentuk koloni yang berwarna abu-abu sampai kuning emas tua (Dewi, 2013).

### **II.5.3 *Candida albicans***

Klasifikasi *C. albicans* dijabarkan sebagai berikut (Siregar, 2002):

Kelas : *Deutromycota*  
Famili : *Cryptococcaccae*  
Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans*

*Candida albicans* merupakan organisme yang memiliki dua wujud dan bentuk secara simultan (*dimorphic organism*). Bentuk pertama yaitu *yeast-like state* (non-invasif dan *sugar fermenting organism*) dan kedua adalah *fungus form* memproduksi *structure* seperti akar yang sangat panjang/*rhizoids* dan dapat memasuki mukosa (invasif). Sel-sel *C. albicans* berbentuk lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran 2-5  $\mu\text{m}$  x 5-28,5  $\mu\text{m}$ . *C. albicans* mudah tumbuh pada media *Saboraud Dextrose Agar* dan memiliki koloni yang menonjol pada permukaan medium, permukaan halus, licin, berwarna putih kekuning-kuningan, dan berbau ragi (Cover *et al.*, 1989; Siregar, 2002).

#### **II.5.4 *Aspergillus niger***

Klasifikasi *A. niger* dijabarkan sebagai berikut (Fardiaz, 1922):

Kelas : *Deutromycetes*

Famili : *Moniliaceae*

Genus : *Aspergillus*

Spesies : *Aspergillus sp*

*Aspergillus niger* adalah salah satu spesies yang paling umum dari genus *Aspergillus*. *A. niger* menyebabkan penyakit yang disebut jamur hitam pada buah dan sayuran tertentu seperti anggur, bawang merah, dan kacang tanah, dan merupakan kontaminan makanan yang umum (Refai *et al.*, 2014). Ciri-ciri makroskopis: koloni terdiri dari dasar putih atau kuning

kompak yang diliputi oleh lapisan padat berwarna coklat gelap sampai hitam. Diameter koloni 65-75 mm. Ciri-ciri mikroskopis: *biseriate*, bentuk fisikel bulat (*spherical*) berukuran 44  $\mu\text{m}$ , metula 13  $\mu\text{m}$  dan fialid 9,75  $\mu\text{m}$  (Oramahi & Haryadi, 2006), kepala konida berukuran besar (berdiameter 3 mm x 15-20  $\mu\text{m}$ ). Konidiafor berdinding halus, *hyaline* atau berubah gelap menuju vesikel. Konidia berbentuk *globose* sampai *subglobose* (berdiameter 3,5-5  $\mu\text{m}$ ), coklat tua sampai hitam dan berdinding kasar (Refai *et al.*, 2014).

## **II.6 Antimikroba**

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Antimikroba dapat digunakan baik dalam pengobatan manusia, pertanian, bahan makanan, hewan peliharaan, dan unit keluarga. Dalam bidang pengobatan manusia, antimikroba membawa perubahan besar dalam mengatasi penyakit menular pada manusia. Beberapa antimikroba dalam bidang farmasi antara lain antibiotika, antiseptika, disinfektansia, dan preservatif (Djide & Sartini, 2014; Paul *et al.*, 2019; Saga & Yamaguchi, 2009).

Berikut penjabaran mengenai mekanisme kerja antimikroba (Djide & Sartini, 2014):

1. Menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim sehingga dapat merusak dinding sel mikroorganisme. Contoh: penisilin, sefalosporin, dan vankomisin.
2. Menghambat fungsi permeabilitas membran sel dengan cara bekerja langsung pada membrane sel yang mempengaruhi permeabilitas hingga menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroorganisme (bakteri). Contoh: pada jamur yaitu Amfoterisin B dan nistatin, pada bakteri yaitu polimiksin dan kolistin.
3. Menghambat sintesis protein dengan mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesa protein terhambat. Antimikroba ini dapat berinteraksi dengan:
  - a. Ribosom 30S, contohnya yaitu aminoglikosida dan tetrasiklin
  - b. Ribosom 50S, contohnya yaitu kloramfenikol, klindamisin, eritromisin
4. Menghambat asam nukleat dengan cara mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Contoh: rifampisin yang mengikat dan menghambat *DNA-dependent RNA polymerase* yang ada pada bakteri.
5. Bersifat sebagai antimetabolit. Antimikroba ini bekerja dengan cara memblokir tahap metabolik spesifik mikroorganisme, misalnya pada

sulfonamida dan trimetoprim. Sulfonamida menghambat pertumbuhan sel dengan cara menghambat sintesis asam folat pada bakteri.

## **II.6.1 Uji Aktivitas Antimikroba**

Pengujian aktivitas antimikroba secara *in vitro* dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi (Balouiri *et al.*, 2016).

### **II.6.1.1 Metode Difusi**

Metode difusi terbagi menjadi tiga yaitu metode difusi-cakram agar, metode gradien antimikroba (E-test), dan metode-metode difusi lainnya.

#### **1. Metode Difusi-cakram Agar**

Dalam prosedur terkenal ini, pelat agar diinokulasi dengan inokulum standar dari mikroorganisme uji. Lalu, kertas cakram (berdiameter sekitar 6 mm) berisi senyawa uji pada konsentrasi yang diinginkan, ditempatkan pada permukaan agar-agar. Cawan petri diinkubasi dalam kondisi yang sesuai. Umumnya, agen antimikroba berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji dan kemudian diameter zona pertumbuhan penghambatan diukur.

#### **2. Metode Gradien Antimikroba**

Metode gradien antimikroba menggabungkan prinsip metode pengenceran dengan metode difusi untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Ini didasarkan pada kemungkinan menciptakan gradien konsentrasi agen antimikroba yang diuji dalam

media *agar plate*. Metode ini digunakan untuk penentuan MIC antibiotik, antijamur dan antimikobakteri.

### 3. Metode-Metode Difusi Yang Lain

Metode difusi lebih lanjut digunakan pada laboratorium penelitian mikrobiologi untuk menyaring ekstrak, fraksi atau zat murni untuk mengetahui potensi antimikroba atau untuk menyelidiki antagonisme antara mikroorganisme. Di antara metode ini, yang paling umum ialah metode difusi well agar, difusi plug agar, dan garis-silang.

#### **II.6.1.2 Metode Dilusi**

Metode dilusi adalah yang paling tepat untuk menentukan nilai MIC, karena metode ini memungkinkan untuk memperkirakan konsentrasi agen antimikroba yang diuji dalam agar (pengenceran agar) atau media kaldu (pengenceran makro atau pengenceran mikro). Metode pengenceran kaldu atau agar dapat digunakan untuk mengukur secara kuantitatif aktivitas antimikroba in vitro terhadap bakteri dan jamur. Nilai MIC yang tercatat kemudian didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang diuji yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diuji, dan biasanya diekspresikan dalam mg/mL atau mg/L.