

**ISOLASI DAN SKRINING BAKTERI SIMBION DARI
BINTANG LAUT (*Protoreaster nodosus*) ASAL
PERAIRAN PANGKEP SEBAGAI PENGHASIL
ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**ISOLATION AND SCREENING OF SYMBIOTIC
BACTERIA FROM SEA STAR (*Protoreaster
nodosus*) FROM PANGKEP WATERS AS
ANTIBACTERIA PRODUCERS AGAINST
*Staphylococcus aureus***

**FINSYANI PUTRI VIRASHTRIANA
N011 19 1116**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI DAN SKRINING BAKTERI SIMBION DARI BINTANG LAUT
(*Protoreaster nodosus*) ASAL PERAIRAN PANGKEP SEBAGAI
PENGHASIL ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**ISOLATION AND SCREENING OF SYMBIOTIC BACTERIA FROM SEA
STAR (*Protoreaster nodosus*) FROM PANGKEP WATERS AS
ANTIBACTERIA PRODUCERS AGAINST *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

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

**FINSYANI PUTRI VIRASHTRIANA
N011 19 1116**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

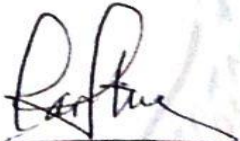
**ISOLASI DAN SKRINING BAKTERI SIMBION DARI BINTANG LAUT
(*Protoreaster nodosus*) ASAL PERAIRAN PANGKEP SEBAGAI
PENGHASIL ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus***

FINSYANI PUTRI VIRASHTRIANA

N011 19 1116

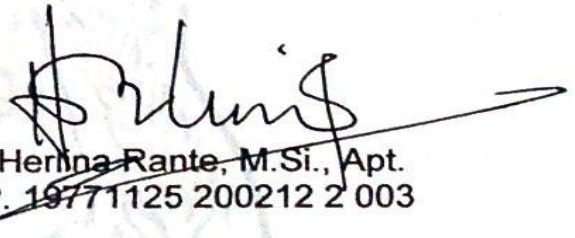
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Pembimbing Pendamping,



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

Pada tanggal 5 7 2023

SKRIPSI
ISOLASI DAN SKRINING BAKTERI SIMBION DARI BINTANG LAUT
(*Protoreaster nodosus*) ASAL PERAIRAN PANGKEP SEBAGAI
PENGHASIL ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*

ISOLATION AND SCREENING OF SYMBIONIC BATERIA FROM SEA
STAR (*Protoreaster nodosus*) FROM PANGKEP WATERS AS
ANTIBACTERIA PRODUCERS AGAINST *Staphylococcus aureus*

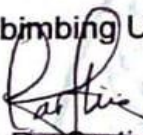
Disusun dan diajukan oleh :

FINSYANI PUTRI VIRASHTRIANA
011191116

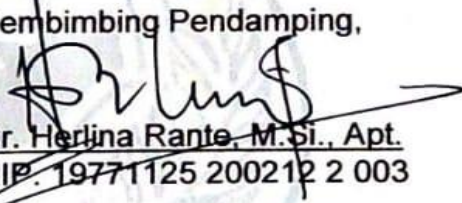
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal .. Juli 2023 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

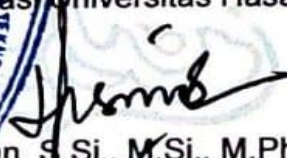
Pembimbing Utama,


Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt
NIP. 19611111 198703 2 001

Pembimbing Pendamping,


Dr. Herlina Rante, M.Si., Apt
NIP. 19771125 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. 19860116 201012 2 009



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Finsyani Putri Virashtriana

NIM : N011191116

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Isolasi dan Skrining Bakteri Simbion dari Bintang Laut (*Protoreaster nodosus*) asal Perairan Pangkep sebagai Penghasil Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya gunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 5 Juli 2023

Yang Menyatakan



Finsyani Putri Virashtriana

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas limpahan rahmat, berkat, dan hidayah-Nya maka penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai syarat untuk lulus dan memperoleh gelar sarjana dengan baik. Penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari keterbatasan pengetahuan penulis dan penulis menyadari bahwa tanpa adanya bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak akan terselesaikan. Oleh karena itu, dengan ketulusan dan kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :


1. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt., selaku pembimbing utama dan ibu Dr. Herlina Rante, M.Si., Apt., selaku pembimbing pendamping atas segala bimbingan, arahan, dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
2. Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt., dan Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt., selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan koreksi dan arahan mengenai skripsi ini.
3. Dekan Fakultas Farmasi yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama menyelesaikan administrasi skripsi saya.
4. Bapak Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt., selaku pembimbing akademik yang telah mendorong dan memberikan motivasi untuk penulis dalam penyusunan skripsi ini.

5. Bapak/ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu dan pengetahuannya selama saya berkuliah hingga selesainya skripsi ini.
6. Ibu Haslia, S.Si., selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi FFUH, yang tulus dan sabar selalu membantu, mendukung, menasehati, dan memberikan saran kepada penulis selama penelitian ini.
7. Kedua orang tua penulis yang tersayang, Ayah Lutfi Antowin, dan Ibu Sjalfiana Sjafri, serta kakak-kakak penulis yang terkasih dan tercinta, Muhammad Finsya Risyadani Aditama dan Muhammad Finsya Indra Permana yang selalu memberikan doa, semangat, dukungan, dan perhatian, serta menjadi tempat bagi penulis untuk berkeluh kesah.
8. Saudari Nadiyyah Mardhatillah Armin selaku sahabat penulis baik di dalam ranah penelitian maupun di luar ranah penelitian yang selalu sabar, ikhlas, dan tulus memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis.
9. Saudara Christopher Petra Purnomo selaku *partner* penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Teman-teman MICRO DEXI, Ainun, Ica, Nadi, Toper, Yusril, Khairah, Ila, Pumah, Susan, Ventur, Vyna, dan Zacky yang telah banyak membantu penulis dalam melakukan penelitian.

11. Teman-teman surgawi, Atikah, Aulia, Alya, Tiara, Nadi, Asma, Bihul, Amel, Zalwa, Pebbi, Ucha, Wahda, dan Yusnita yang selalu menghibur dan memberi bantuan kepada penulis.
12. Saudara Mesakh Diki Saputra dan saudari Adiella Husna Purnomo Putri selaku sahabat penulis yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.
13. Serta semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan namanya satu per satu.

Semoga Allah SWT. membalas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat dan dapat menjadi dasar bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

Makassar, 5 Juli 2023



Finsyani Putri Virashtriana

ABSTRAK

Finsyani Putri Virashtriana. *Isolasi dan Skrining Bakteri Simbion dari Bintang Laut (*Protoreaster nodosus*) asal Perairan Pangkep sebagai Penghasil Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. (Dibimbing oleh Sartini dan Herlina Rante).*

Antibiotik merupakan salah satu jenis antimikroba yang sering digunakan dalam mengobati infeksi yang disebabkan bakteri patogen, tetapi dengan penggunaan yang salah dapat menimbulkan kasus resistensi. Bakteri *Staphylococcus aureus* diketahui memiliki kemampuan adaptasi terhadap berbagai macam antibiotik sehingga menimbulkan kasus resistensi. Salah satu kekayaan alam yang berpotensi sebagai sumber antimikroba baru adalah sumber daya laut. Organisme laut yang dapat dimanfaatkan adalah bintang laut terkhususnya dengan spesies *Protoreaster nodosus*. Untuk mencegah eksploitasi terhadap *P. nodosus*, bakteri simbion digunakan sebagai penghasil antimikroba yang baru. Bakteri simbion adalah bakteri yang berasosiasi dengan inangnya dan menghasilkan metabolit sekunder yang identik dengan inangnya. Isolasi dilakukan menggunakan media *Marine Agar*, dilanjutkan dengan uji antagonis dan fermentasi isolat menggunakan media *Nutrient Broth* dengan ekstrak yeast 1%. Hasil fermentasi kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dan dilanjutkan dengan skrining aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi cakram. Selain itu dilakukan uji identifikasi senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis. Terdapat 3 isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan kode BL12, BL32, dan BL13. Isolat dengan kode BL32 diketahui memiliki kekuatan daya hambat tertinggi sebesar 11,61 mm pada hari fermentasi ke-3. Isolat BL32 diketahui positif mengandung senyawa alkaloid dan negatif pada steroid.

Kata Kunci: *P. nodosus*, bakteri simbion, antibakteri, *S. aureus*

ABSTRACT

Finsyani Putri Virashtriana. *Isolation and Screening of Symbiotic Bacteria from Sea Star (*Protoreaster nodosus*) from Pangkep Waters as Antibacteria Producers Against *Staphylococcus aureus*.* (supervised by Sartini and Herlina Rante).

Antibiotic are the type of antimicrobial that are often used to treat infections caused by pathogenic bacteria, but if it used incorrectly it can cause cases of resistance. *Staphylococcus aureus* are known to have the ability to adapt to various kinds of antibiotics, causing cases of resistance. One of the potential natural resources as source of new antimicrobials is marine resources. Marine organisms that can be used are sea star, especially *Protoreaster nodosus* species. To prevent the exploitation of *P. nodosus*, symbiotic bacteria are used to produce new antimicrobials. Symbiotic bacteria are bacteria that are associated with their host and produce secondary metabolites that are identical to their host. Isolation was carried out using Marine Agar media, followed by antagonist test and fermentation using Nutrient Broth and yeast extract 1%. The fermented products were then extracted using ethyl acetate solvent (1:1 v/v) and followed by screening for antimicrobial activity using the disc diffusion method. In addition, a compound identification test was carried out using Thin Layer Chromatography (TLC). There were 3 isolates that showed antibacterial activity against *S. aureus* with codes BL12, BL32, and BL13. Isolate with code BL32 is known to have the highest inhibition strength of 11,61 mm on the 3rd day of fermentation. BL32 isolate was found to be positive for alkaloid compounds and negative for steroids.

Keywords: *P. nodosus*, symbiotic bacteria, antibacteria, *S. aureus*

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMAKASIH	vii
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	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Bintang Laut	4
II.1.1 Klasifikasi Bintang Laut <i>Protoreaster nodosus</i>	4
II.1.2 Morfologi Bintang Laut <i>Protoreaster nodosus</i>	5
II.1.3 Kandungan dan Manfaat	5
II.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	5
II.2.1 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	6
II.2.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	6
II.2.3 Patogenitas <i>Staphylococcus aureus</i>	7
II.3 Antimikroba	7
II.3.1 Mekanisme Kerja Antimikroba	8
II.4 Bakteri Simbion	10
II.5 Isolasi Mikroorganisme	10
II.6 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme	11
II.7 Fermentasi	13
II.8 Uji Aktivitas Antimikroba	14
II.9 Ekstraksi	16
II.10 Identifikasi Mikroorganisme	18
II.10.1 Uji Aktivitas Biokimia	18

II.10.1 Uji Pengecatan Gram	20
II.11 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
II.11.1 Identifikasi Alkaloid	21
II.11.2 Identifikasi Steroid	21
BAB III METODE KERJA	22
III.1 Alat dan Bahan	22
III.2 Metode Kerja	23
III.2.1 Penyiapan Alat	23
III.2.2 Penyiapan Bahan	23
III.2.3 Pengambilan Sampel	25
III.2.4 Ekstraksi <i>Protoreaster nodosus</i> (P. nodosus)	25
III.2.5 Preparasi Sampel <i>Protoreaster nodosus</i>	25
III.2.6 Isolasi Bakteri Simbion	26
III.2.7 Pemurnian Bakteri Simbion	26
III.2.8 Uji Antagonis Bakteri Simbion	26
III.2.10 Fermentasi Isolat Bakteri Simbion	26
III.2.11 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fermentasi	27
III.2.12 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	27
III.2.13 Uji Aktivitas Biokimia	28
III.2.14 Uji Pengecatan Gram	28
III.2.15 Pengumpulan Data, Analisis Data, dan Penarikan Kesimpulan	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
IV.1 Isolasi Bakteri Simbion	29
IV.2 Uji Antagonis	30
IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi	31
IV.4 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fermentasi	32
IV.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis	34
IV.6 Uji Aktivitas Biokimia	36
IV.7 Uji Pengecatan Gram	37
BAB V PENUTUP	39
V.1 Kesimpulan	39
V.2 Saran	39

DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

1. Karakteristik morfologi bakteri simbion	29
2. Karakteristik isolat bakteri	30
3. Nilai Rf	35
4. Pengujian aktivitas biokimia pada bakteri simbion <i>P. nodosus</i>	37
5. Komposisi media NA	46
6. Komposisi media MA	46
7. Komposisi media NB	46
8. Komposisi media SCA	46
9. Komposisi media SIM	47
10. Komposisi media MRVP	47

DAFTAR GAMBAR

1. <i>Protoreaster nodosus</i>	4
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
3. Grafik pertumbuhan mikroorganisme	11
4. Hasil isolasi bakteri simbion <i>P. nodosus</i>	29
5. Uji Antagonis terhadap <i>S. aureus</i>	31
6. Grafik Fermentasi	32
7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fermentasi	33
8. Uji Kromatografi Lapis Tipis	34
9. Identifikasi senyawa alkaloid (1), steroid (2)	35
10. Hasil pengecatan Gram	37
11. Sampel <i>Protoreaster nodosus</i>	49
12. Hasil uji fermentasi hari ke-1	49
13. Hasil uji fermentasi hari ke-3	50
14. Hasil uji fermentasi hari ke-5	50
15. Uji Aktivitas Biokimia	50

DAFTAR LAMPIRAN

1. Skema kerja penelitian	45
2. Komposisi media	46
3. Perhitungan nilai Rf	48
4. Gambar hasil penelitian	49

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Antibiotik merupakan salah satu jenis antimikroba yang digunakan untuk mengobati dan mencegah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi antibiotik, yakni kemampuan dari bakteri yang dapat melemahkan daya kerja antibiotik (Muntasir *et al.*, 2022). Bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) memiliki kemampuan adaptasi terhadap berbagai macam antibiotik sehingga menimbulkan kasus resistensi (Afifurrahman *et al.*, 2014). World Health Organization atau WHO (2017) memasukkan *S. aureus* ke dalam daftar bakteri yang segera membutuhkan antibiotik baru.

Sumber daya laut berpotensi sebagai sumber antimikroba baru. Organisme laut seperti alga, spons, dan rumput laut diketahui memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai agen antimikroba (Cita *et al.* 2017; Jafriati *et al.*, 2019; Pina-Perez *et al.* 2017). Hasil dari kekayaan laut yang lainnya adalah bintang laut. Bintang laut termasuk dalam kelas Asteroidea dari filum Echinodermata yang diketahui memiliki kekuatan regenerasi yang baik (Nurhadi dan Yanti, 2018).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hussain *et al* (2019) diketahui bahwa ekstrak bintang laut dengan jenis *Protoreaster linckii* dapat menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif. Metabolit sekunder yang berperan sebagai agen antimikroba adalah glikosida steroid dan saponin (Ivanchina *et al.*, 2000; Jha dan Zi-Rong, 2004). Diketahui bintang laut dengan jenis *Protoreaster nodosus* (*P. nodosus*) memiliki senyawa bioaktif steroid, glikosida steroid, antrakuinon, alkaloid, fosfolipid, peptida, dan asam lemak (Thao *et al.*, 2015).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat bakteri yang bersimbion dengan organisme inangnya dan menghasilkan metabolit sekunder yang identik dengan organisme inangnya yang disebut dengan bakteri simbion (Burgess *et al.*, 2003; Marzuki *et al.*, 2021). Bakteri simbion berpotensi sebagai sumber daya yang dapat diperbarui dalam produksi senyawa bioaktif dan mudah untuk dibudidayakan (Penesyhan *et al.*, 2009; Pringgenies *et al.*, 2020; Rocha-Martin *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fajri *et al* (2021) mengenai bakteri simbion *P. nodosus* yang diperoleh dari perairan Takalar, diisolasi sebanyak 4 isolat bakteri yang diketahui menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri yang luas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella* Thyposa. Isolat yang diperoleh memiliki rata-rata diameter zona hambat di atas 11 mm.

Perbedaan lingkungan tempat hidup seperti suhu, salinitas, dan pH dapat mempengaruhi bakteri simbion yang ditemukan di inangnya (Jackson *et al.*, 2018). Oleh karena itu, perlu dilakukan uji isolasi dan skrining bakteri simbion dari *P. nodosus* asal perairan Pangkep sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap *S. aureus*.

I.2 Rumusan Masalah

1. Apakah bakteri simbion *P. nodosus* menghasilkan senyawa antibakteri terhadap *S. aureus*?
2. Bagaimana profil KLT antara ekstrak fermentasi bakteri simbion *P. nodosus* dan ekstrak *P. nodosus*?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah bakteri simbion *P. nodosus* menghasilkan senyawa antibakteri terhadap *S. aureus*.
2. Untuk mengetahui bagaimana profil KLT ekstrak fermentasi bakteri simbion *P. nodosus* dan ekstrak *P. nodosus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Bintang Laut

Bintang laut merupakan hewan yang berasal dari filum Echinodermata yang berbentuk simetri radial dan biasanya memiliki lima lengan atau lebih. Hewan ini memiliki rangka yang berfungsi sebagai perlindungan bukan sebagai alat gerak. Mulutnya berada di bagian tengah bawah tubuh. Hewan ini bergerak menggunakan sistem vaskular air. Bintang laut diketahui memiliki kemampuan regenerasi yang baik (Nurhadi dan Yanti, 2018).

II.1.1 Klasifikasi Bintang Laut *Protoreaster nodosus*



Gambar 1. *Protoreaster nodosus* (Khalid et al, 2021)

Kingdom	: Animalia
Filum	: Echinodermata
Ordo	: Valvatida
Famili	: Ophideasteridae
Kelas	: Asteroidea
Genus	: Protoreaster
Spesies	: <i>Protoreaster nodosus</i> (Khalid et al, 2021)

II.1.2 Morfologi Bintang Laut *Protoreaster nodosus*

Bintang laut dengan jenis *Protoreaster nodosus* memiliki warna putih yang apabila dikeringkan menjadi warna oranye dengan ujung lengan berwarna hitam dan memiliki duri-duri tajam (spikula) yang berwarna hitam. Bintang laut ini berbentuk simetri radial, lebar dan keras, memiliki lima lengan dengan ukuran 17-20 cm (Khalid *et al*, 2021).

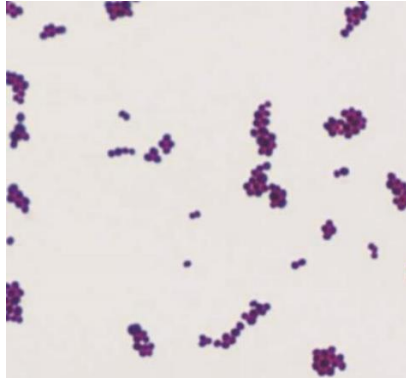
II.1.3 Kandungan dan Manfaat

Bintang laut dengan jenis *Protoreaster nodosus* memiliki senyawa bioaktif steroid, glikosida steroid, antrakuinon, alkaloid, fosfolipid, peptida, dan asam lemak yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antifungi antioksidan, antiinflamasi, dan imunostimulator (Piter *et al*, 2019; Thao *et al.*, 2015).

II.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi tersering di dunia. Bakteri ini merupakan flora normal kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan manusia. Selain itu, bakteri ini juga dapat ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi yang serius apabila sistem imun melemah yang disebabkan oleh perubahan hormon, penyakit, luka, dan obat-obat yang dapat memengaruhi imunitas (Rahmadani *et al*, 2017).

II.2.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. *Staphylococcus aureus* (Jawetz dan Adelberg's, 2013)

Kingdom : Procaryota

Divisi : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus* (Juliantina *et al*, 2009)

II.2.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang berbentuk kokus (bundar) dengan ukuran kecil, halus, menonjol, dan berkilau, serta berwarna kuning keemasan. Koloni pertumbuhan bakteri ini membentuk kelompok yang tidak teratur (menyerupai buah anggur). Bakteri ini bersifat non-motil, tidak memiliki spora, anaerob fakultatif, katalase positif, dan oksidase negatif dan dapat tumbuh dalam waktu 24 jam pada suhu 6,5-46°C pada pH 4,2-9,3 (Djide dan Sartini, 2006; Nurwantoro dan Abbas, 2001).

II.2.3 Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Patogenitas merupakan kemampuan mikroorganisme dalam menyebabkan suatu penyakit pada inangnya (Djide dan Sartini, 2016). Keracunan yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* merupakan gejala intoksikasi paling banyak dilaporkan, setiap tahunnya meliputi 20%-25% dari seluruh keracunan yang berasal dari makanan. Gejala keracunan disebabkan oleh tertelannya enterotoksin yang diproduksi oleh bakteri *Staphylococcus* (Djide dan Sartini, 2006).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat memproduksi enzim koagulase, yakni enzim yang dapat menyebabkan penggumpalan plasma. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan berbagai toksin, di antaranya (Djide dan Sartini, 2006) :

- A. Eksotoksin alfa yang sangat beracun.
- B. Toksin beta yang terdiri dari hemolisin yang dapat menyebabkan lisis pada sel darah merah.
- C. Toksin F dan S yang merupakan protein eksoseluler yang bersifat leukositik.
- D. Hialuronidase, yaitu enzim yang dapat memecah asam hialuronat sehingga menyebabkan penyebaran bakteri ke seluruh tubuh.
- E. Suatu grup enterotoksin yang terdiri atas protein sederhana.

II.3 Antimikroba

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk membunuh maupun menghambat mikroorganisme. Obat-obat yang

digunakan untuk membasmi mikroorganisme harus bersifat sangat toksis terhadap target tetapi relatif tidak toksis pada jasad inang atau hospes.

Sifat dari antimikroba adalah (Djide dan Sartini, 2016) :

- A. Bakteriostatika, yaitu bahan atau obat yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Pada pemberian bakteriostatika, jumlah mikroorganisme menjadi stasioner dan tidak dapat berkembang biak.
- B. Bakteriosida, yaitu bahan atau obat yang dapat membunuh mikroorganisme. Pada pemberian bakteriosida, jumlah mikroorganisme akan berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan multiplikasi atau berkembang biak.

II.3.1 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme kerja antimikroba antara lain (Djide dan Sartini, 2016) :

- A. Penginaktifan enzim tertentu. Mekanisme ini umumnya dimiliki oleh antiseptika maupun desinfektansia dari senyawa turunan aldehida, amida, karbanilida, etilen-oksida, halogen, senyawa merkuri, dan senyawa amonium kuartener.
- B. Denaturasi protein. Mekanisme antimikroba dengan denaturasi protein dan konjugasi protein sel bakteri umumnya dimiliki oleh antiseptika atau desinfektansia dari senyawa turunan alkohol, halogen, peroksida, turunan fenol, dan senyawa amonium kuartener.
- C. Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri. Mekanisme ini biasa dimiliki oleh senyawa turunan amin dan guanidin, turunan fenol,

dan senyawa amonium kuarterner. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma bakteri dapat menyebabkan bocornya kkonstituen sel yang penting dan bakteri akan mengalami kematian.

- D. Intekalasi ke dalam DNA. Mekanisme ini dimiliki oleh senyawa turunan trifenilmetan dan turunan akridin. Mekanisme ini bekerja dengan cara mengikat secara kuat asam nukleat, menghambat sintesis DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.
- E. Pembentukan khelat. Mekanisme ini dimiliki oleh turunan fenol yang dapat membentuk khelat dengan ion Fe dan Cu, kemudain khelat tersebut akan masuk ke dalam sel bakteri dan menyebabkan gangguan fungsi enzim-enzim, sehingga mikroorganisme mengalami kematian.
- F. Bersifat sebagai antimetabolit. Mekanisme ini dimiliki oleh senyawa sulfonamida dan trimetoprin dengan cara memblok tahap metabolik spesifik mikroba.
- G. Penghambatan terhadap sintesa dinding sel. Mekanisme ini dimiliki oleh penisilin, sefalosporin, vankomisin, sikloserin, dan basitrasin yang dapat menghambat sintesis atau aktivitas enzim yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme.
- H. Penghambatan fungsi permeabilitas membran sel. Pada mekanisme ini antimikroba bekerja secara langsung pada membran sel yang dapat memengaruhi permeabilitasnya dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler. Antimikroba dengan mekanisme ini dapat

berinteraksi dengan sterol membran sitoplasma pada sel jamur dan dapat merusak membran sel bakteri Gram negatif.

- I. Penghambatan sintesis protein. Pada mekanisme ini antimikroba dapat berinteraksi dengan ribosom 30S ataupun dengan ribosom 50S.
- J. Penghambatan asam nukleat. Pada mekanisme ini antimikroba akan memengaruhi metabolisme asam nukleat seperti rifampisin.

II.4 Bakteri Simbion

Bakteri simbion merupakan bakteri yang dapat berasosiasi dengan inangnya dan menghasilkan metabolit sekunder yang identik dengan organisme inangnya (Burgess *et al.*, 2003; Marzuki *et al.*, 2021). Bakteri simbion berpotensi sebagai sumber daya yang dapat diperbarui dalam produksi senyawa bioaktif serta mudah untuk dibudidayakan dan mencegah eksploitasi yang berlebihan pada organisme inangnya (Penesyant *et al.*, 2009; Pringgenies *et al.*, 2020; Rocha-Martin *et al.*, 2014). Perbedaan lingkungan tempat hidup seperti suhu, salinitas, dan pH dapat mempengaruhi bakteri simbion yang ditemukan di inangnya (Jackson *et al.*, 2018).

II.5 Isolasi Mikroorganisme

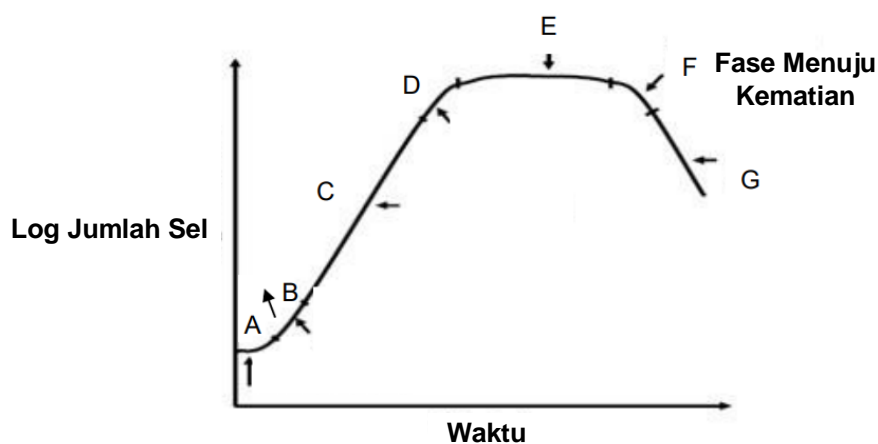
Isolasi mikroorganisme adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan atau memindahkan mikroorganisme tertentu dari lingkungan alamiahnya ke dalam medium baru sehingga diperoleh kultur murni. Kultur murni merupakan kultur yang sel mikrobanya berasal dari pembelahan dari

satu sel tunggal. Ada beberapa cara isolasi mikroorganisme yaitu (Mikdarullah dan Nugraha, 2017) :

- A. Metode gores atau *streak plate*. Metode ini dilakukan dengan cara menggoreskan *loop ose* di atas media agar dengan pola tertentu.
- B. Metode tuang atau *pour plate*. Metode ini dilakukan dengan cara mencampurkan suspensi biakan dengan medium.
- C. Metode sebar atau *spread plate*. Metode ini dilakukan dengan cara menuangkan suspensi biakan di atas media agar yang sudah memadat kemudian disebar menggunakan *trigalski* atau *L glass*.

II.6 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan adalah pertambahan teratur seluruh komponen sel makhluk hidup. Terdapat enam fase pertumbuhan mikroorganisme (Djide dan Sartini, 2016).



Gambar 3. Grafik pertumbuhan mikroorganisme : (A) Fase permulaan, (B) Fase pertumbuhan dipercepat, (C) Fase logaritma, (D) Fase pertumbuhan yang mulai terhambat, (E) Fase stasioner yang maksimum, (F) Fase kematian dipercepat, (G) Fase kematian logaritma (Djide dan Sartini, 2016).

- A. Fase permulaan. Pada fase ini mikroorganisme akan menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru dan menghasilkan enzim serta zat-

zat perantara yang berguna untuk pertumbuhan lebih lanjut. Pada fase ini sel mulai membesar, tetapi belum melakukan pembelahan sel.

- B. Fase pertumbuhan dipercepat. Pada fase ini mikroorganisme mulai melakukan pembelahan diri tetapi waktu generasinya masih panjang. Bersama dengan fase permulaan, fase ini biasa disebut juga dengan "*lag phase*" atau "*phase of adjustment*".
- C. Fase pertumbuhan logaritma. Pada fase ini mikroorganisme memiliki metabolisme paling cepat sehingga menyebabkan pertumbuhan yang lebih pesat, tetapi waktu generasinya cenderung pendek dan konstan. Keadaan ini akan berlangsung sampai nutrisi habis atau terjadi penumpukan sisa metabolisme yang bersifat toksik. Jika mikroorganisme pada fase ini dipindahkan ke dalam medium baru yang memiliki komposisi yang sama, maka mikroorganisme akan langsung mengalami fase pertumbuhan logaritma, tanpa melalui fase adaptasi.
- D. Fase pertumbuhan mulai terhambat. Pada fase ini pertumbuhan mikroorganisme mulai menurun disebabkan kurangnya nutrisi dan terjadi penumpukan sisa metabolisme yang toksik, serta perubahan lingkungan seperti pH dan lain-lain. Jika dilakukan penambahan nutrisi atau penetralan senyawa toksik, maka fase logaritma dapat diperpanjang.
- E. Fase stasioner. Pada fase ini jumlah mikroorganisme yang mati sama dengan yang hidup. Ukuran sel pada fase ini juga lebih kecil karena

nutrisi yang didapat semakin sedikit. Panjangnya fase ini bergantung dengan kemampuan mikroorganisme menghadapi faktor pertumbuhan serta perubahan yang terjadi di dalam mediumnya.

- F. Fase kematian yang dipercepat dan fase kematian logaritma. Fase ini disebut juga dengan fase penurunan kematian disebabkan terjadinya peningkatan kecepatan kematian diikuti dengan penurunan kecepatan pembelahan. Pada fase kematian logaritma maka kecepatan kematian mencapai maksimum.

II.7 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses dalam melakukan dan menghasilkan produk dari pembiakan mikroorganisme. Agar proses fermentasi dapat berjalan dengan baik dan optimal, terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan, antara lain (Kristiandi *et al*, 2021) :

- A. Aseptis. Aseptis adalah proses untuk menurunkan kontaminasi pada alat, bahan, produk, dan ruangan. Proses ini biasa dilakukan dengan desinfektasi terhadap udara maupun benda yang ada dalam proses pembuatan fermentasi.
- B. Komposisi medium pertumbuhan. Faktor-faktor penting dalam komposisi medium yang perlu diperhatikan agar mikroorganisme dapat tumbuh dengan optimal adalah nutrisi, oksigen, kelembaban, pH, suhu, dan kontaminan lainnya.
- C. Kultur dalam fermentasi. Kultur adalah bahan yang terdiri atas nutrisi untuk menumbuhkan mikroorganisme. Untuk mendapatkan

pembiakan mikroorganisme yang baik maka diperlukan kondisi nutrisi yang seimbang, tidak adanya zat penghambat, steril, dan pH yang sesuai.

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk proses fermentasi mikroorganisme, antara lain (Kristiandi *et al*, 2021) :

- A. Kultur permukaan / *surface fermentation* dilakukan dengan cara menanamkan mikroorganisme ke dalam medium cair.
- B. Kultur terendam / *submerged fermentation* dilakukan dengan cara memasukkan mikroorganisme ke dalam medium cair yang diletakkan di fermentor. Kelebihan dari metode ini adalah proses fermentasi yang dapat dikontrol dan cepat, tidak memerlukan banyak ruang pemurnian produk murah, dan mudah dijaga dalam kondisi steril.
- C. Kultur padat / *solid-state fermentation* dilakukan dengan cara menanamkan mikroorganisme ke dalam medium padat
- D. Kultur dengan pengocokan / *shaker culture*. Pada metode ini medium dikocok setelah diinokulasikan mikroorganisme.

II.8 Uji Aktivitas Antimikroba

Pada pemeriksaan uji aktivitas antimikroba terdapat beberapa prinsip, antara lain (Pelu A, 2022) :

- A. Merupakan metode yang secara langsung mengukur aktivitas antimikroba terhadap inokulum bakteri.
- B. Merupakan metode yang secara langsung mendeteksi keberadaan mekanisme resistensi spesifik pada inokulum bakteri.

C. Merupakan metode khusus untuk mengukur interaksi antara mikroba dan antimikroba, serta konsentrasi suatu zat antimikroba untuk mendapat pengobatan yang efektif dan efisien.

Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan beberapa metode pengujian, di antara lain (Pelu A, 2022) :

A. Metode Difusi

1. Metode disc diffusion (tes Kirby Bauer)

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba dengan cara piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan di atas media agar yang telah diinokulasikan mikroorganisme, kemudian agen antimikroba akan berdifusi pada media agar. Daerah yang jernih diindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba.

2. Metode E-test

Metode ini digunakan untuk mengestimasi nilai MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (konsentrasi hambat minimum), yakni konsentrasi minimal dari suatu agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

3. Ditch-plate technique

Metode ini menggunakan sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong agar dan mikroba uji digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

4. Metode sumuran.

Metode ini dilakukan dengan cara membuat sumuran pada media agar dan larutan agen antimikroba dimasukkan ke dalam sumuran.

Suspensi bakteri dicampurkan ke dalam media agar.

B. Metode Dilusi.

Metode ini dibagi menjadi dua, yaitu dilusi padat dan dilusi cair.

Metode ini biasa digunakan untuk mengukur KHM (konsentrasi hambat minimum) dan KBM (konsentrasi bunuh minimum). Metode dilusi cair dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair, sementara pada metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasikan mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba (Fitriana *et al*, 2019).

II.9 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Proses ekstraksi adalah masuknya cairan penyari ke dalam sel, masuknya cairan penyari ke dalam sel (osmosis) akan semakin mudah apabila dinding sel sudah tidak menjadi utuh lagi. Cairan penyari yang masuk akan membuat zat aktif yang berada di dalam sel terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan cairan penyari yang berada di luar sel, maka pada tahap ini terjadi proses difusi. Proses difusi ini akan terus terjadi sampai konsentrasi zat aktif yang berada di luar sel dan di dalam sel seimbang (Najib A, 2018).

Pembagian metode ekstraksi berdasarkan suhu disesuaikan dengan komponen kimia yang akan disari. Bagi komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan dapat menggunakan metode yang melibatkan proses pemanasan demikian pula sebaliknya (Najib A, 2018).

Metode ekstraksi secara panas adalah sebagai berikut :

- A. Infusa. Infusa adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15-20 menit (Mukhriani, 2014).
- B. Refluks. Pada metode ini sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Mukhriani, 2014).
- C. Dekok. Ekstraksi dengan metode ini dilakukan dengan pemanasan pada temperatur 90° selama 30 menit (Hasrianti *et al*, 2016).

Metode ekstraksi tanpa menggunakan pemanasan adalah sebagai berikut :

- A. Maserasi. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan serbuk simplisia dan pelarut ke dalam wadah inert yang tertutup pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai keseimbangan antara konsnetrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014).
- B. Perkolasi. Pada metode ini, serbuk sampel dibasahi dengan perlahan dalam sebuah perkolator. Pelarut ditambahkan pada bagian atas

serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Mukhriani, 2014).

- C. Sokletasi. Pada metode ini dilakukan dengan cara menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (atau kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang digunakan dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur (Mukhriani, 2014).

II.10 Identifikasi Mikroorganisme

Identifikasi mikroorganisme perlu dilakukan untuk mengetahui karakteristik maupun sifat dari mikroorganisme hasil isolasi. Identifikasi mikroorganisme dapat dilakukan menggunakan uji aktivitas biokimia maupun pengecatan (Sapitri dan Afrinasari, 2019).

II.10.1 Uji Aktivitas Biokimia

Mikroorganisme tumbuh dan berkembang biak menggunakan berbagai zat hara di lingkungan sekitarnya. Penggunaan zat hara bergantung pada aktivitas metabolisme mikroba. Metabolisme mikroba dapat menghasilkan hasil sampingan yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme. Uji aktivitas biokimia dilakukan untuk mengetahui aktivitas metabolisme mikroorganisme yang dilihat dari kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan dan menguraikan molekul kompleks. Uji aktivitas biokimia dapat dilakukan dengan (Sapitri dan Afrinasari, 2019) :

- A. Uji Indol dan Motilitas. Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang menggunakan triptofan sebagai sumber energi dengan menggunakan enzim triptofanase. Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino yang terdapat pada protein sehingga dapat digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon. Enzim triptofanase akan mengkatalisasi penguraian gugus indol dari triptofan.
- B. Uji Methyl-Red. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan asam campuran dan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri yang menempati saluran pencernaan. Mikroorganisme yang dapat memfermentasikan asam campuran akan menurunkan pH medium sehingga indikator Methyl-Red tetap berwarna merah.
- C. Uji Voges Proskauer. Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang mampu memfermentasi 2,3-butanadiol. Uji ini tidak langsung untuk mengetahui adanya 2,3-butanadiol, melainkan senyawa prekusornya yaitu asetoin.
- D. Uji Sitrat. Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan suatu mikroorganisme dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber energi. Bila mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai sumber energi dan karbonnya maka asam akan dihilangkan dari medium dan menyebabkan peningkatan pH yang diikuti dengan perubahan warna medium dari hijau menjadi biru.

II.10.1 Uji Pengecatan Gram

Uji pengecatan Gram adalah contoh pewarnaan diferensial yang memisahkan antar bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif akan berwarna ungu karena dapat mempertahankan kompleks zat warna kristal violet-yodium meskipun sudah diberikan dekolorisator, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah karena kompleks tersebut larut saat pemberian dekolorisator dan mempertahankan zat warna keduanya. Perbedaan pada pewarnaan Gram dapat disebabkan oleh Perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Sebagian besar dinding bakteri Gram positif terdiri atas peptidoglikan, sedangkan dinding penyusun bakteri Gram negatif adalah lipid yang tinggi. Lipid akan larut dalam larutan alkohol dan aseton (Sapitri dan Afrinasari, 2019) :

II.11 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah analisis sederhana yang digunakan untuk melakukan penegasan terhadap senyawa yang terkandung pada ekstrak. Nilai R_f dan warna noda yang diperoleh pada KLT dapat memberikan identitas senyawa yang terkandung (Forestryana dan Arnida, 2020).

Kromatografi Lapis tipis merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen

kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak yang berbeda berdasarkan tingkat kelpolarannya (Alen *et al*, 2017).

II.11.1 Identifikasi Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Alkaloid berkhasiat sebagai antidiare, antidiabetes, antimikroba, dan antimalaria (Ningrum *et al*, 2016).

Uji identifikasi alkaloid dapat menggunakan reagen Dragendorff. Ekstrak yang positif mengandung alkaloid akan ditandai dengan adanya perubahan menjadi jingga (Ergina *et al*, 2014).

II.11.2 Identifikasi Steroid

Steroid merupakan terpenoid lipid yang dikenal dengan empat cincin menyatu. Struktur senyawa cukup beragam disebabkan adanya gugus fungsi teroksidasi yang terikat pada cincin dan terjadinya oksidasi cincin karbonnya (Oktaviantri *et al*, 2019).

Untuk uji indentifikasi steroid dapat dilakukan menggunakan reagen Liebermann Buchard yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah-jingga untuk positif terpenoid dan perubahan warna menjadi biru-hijau untuk positif steroid (Siadi, 2012).