

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FUNGI
ENDOFIT ALGA (*Eucheuma cottonii*) DARI PERAIRAN
PANGKEP, SULAWESI SELATAN TERHADAP
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli***

**ISOLATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF
ALGAE ENDOPHYTIC FUNGI (*Eucheuma cottonii*) FROM
PANGKEP COAST, SOUTH SULAWESI AGAINST
Staphylococcus aureus and *Escherichia coli***

AINUN AMALIAH SALAM

N011 19 1037



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FUNGI
ENDOFIT ALGA (*Eucheuma cottonii*) DARI PERAIRAN
PANGKEP, SULAWESI SELATAN TERHADAP
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli***

**ISOLATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF
ALGAE ENDOPHYTIC FUNGI (*Eucheuma cottonii*) FROM
PANGKEP COAST, SOUTH SULAWESI AGAINST
Staphylococcus aureus and *Escherichia coli***

SKRIPSI

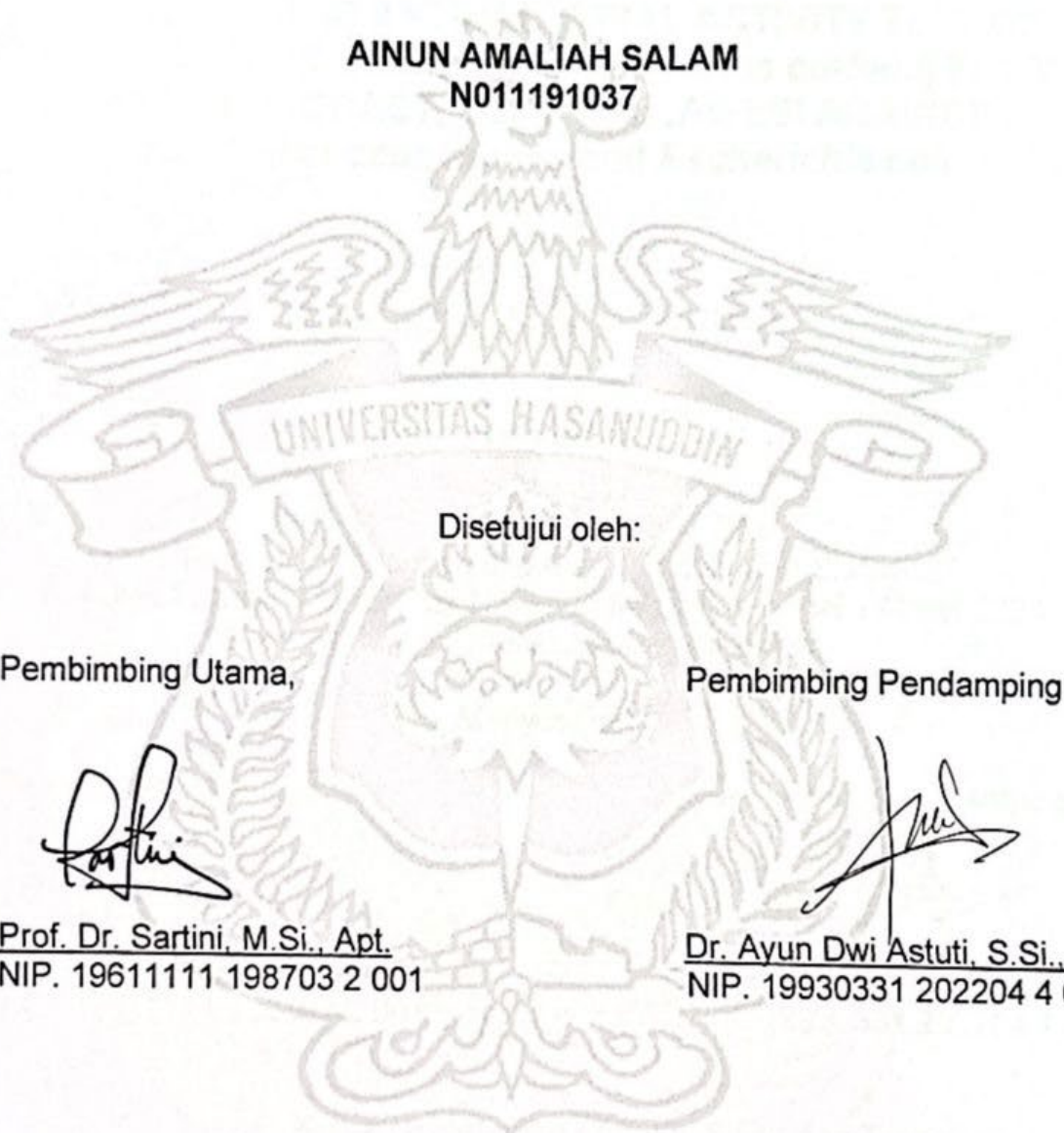
Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat
untuk mencapai gelar sarjana

**AINUN AMALIAH SALAM
N011 19 1037**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FUNGI
ENDOFIT ALGA (*Eucheuma cottonii*) DARI PERAIRAN
PANGKEP, SULAWESI SELATAN TERHADAP
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli***

**AINUN AMALIAH SALAM
N011191037**



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

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

Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt.
NIP. 19930331 202204 4 001

LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FUNGI
ENDOFIT ALGA (*Eucheuma cottonii*) DARI PERAIRAN
PANGKEP, SULAWESI SELATAN TERHADAP
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli***

**ISOLATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF
ALGAE ENDOPHYTIC FUNGI (*Eucheuma cottonii*) FROM
PANGKEP COAST, SOUTH SULAWESI AGAINST
Staphylococcus aureus and *Escherichia coli***

Disusun dan diajukan oleh:

**AINUN AMALIAH SALAM
N011191037**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 1 Maret 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

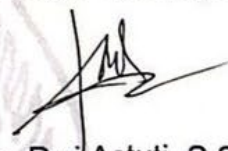
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pendamping,



Dr. Ayun. Dwi Astuti, S.Si., Apt.
NIP. 19930331 202204 4 001

Ketua Departemen Farmasi Sains dan Teknologi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


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

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 di suatu 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, 1 Maret 2024

Yang menyatakan,



Ainun Amaliah Salam

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah. Tiada kata yang pantas untuk diucapkan selain puji Syukur kehadiran Allah SWT karena atas izin dan rahmat-Nya sehingga penulis mampu merampungkan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Penulis sangat berharap agar skripsi ini tidak memiliki kekurangan, tetapi penulis menyadari bahwa pengetahuan penulis sangatlah terbatas, sehingga penulis banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai banyak pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dr. Ayun. Dwi Astuti, S.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping saya yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran, dan pemikiran kepada penulis sejak perencanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA,. Apt. dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku penguji saya yang telah memberikan masukan dan saran dalam penelitian saya.
3. Dekan Fakultas Farmasi yang telah memberikan fasilitas dan bantuan dalam menyelesaikan surat persuratan skripsi saya.

4. Bapak/Ibu dosen yang telah memberikan ilmunya selama mengikuti perkuliahan hingga terselesainya skripsi ini serta seluruh staf Fakultas Farmasi atas segala fasilitas dan bantuan yang diberikan selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
5. Kedua orang tua saya, Bapak Abd. Salam,S.Sos. dan Ibu Basria.S.Ag. yang telah bekerja keras serta memberikan kasih sayang dan doanya kepada penulis untuk mampu sampai pada tahap ini. Juga terkhusus kepada Suami saya Muh. Alkadri,S.Or. yang selalu mendoakan serta memberi dukungan agar penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

Terkhusus kepada teman-teman penulis Sahabat Laut (Nadiya, Susan, Finsyani dan Christopher) yang telah banyak membantu dalam penelitian saya. Kepada sahabat Micro Dexi (Khairah, Zacky, Pumah, Ila, Ica, Vyna, Yusril dan Ventur) yang selalu menemani dalam pengerjaan dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini. Serta teman-teman seperjuangan (DEX19EN) yang telah memberikan doa dalam penyelesaian tugas akhir ini.

Makassar, 1 Maret 2024



Ainun Amaliah Salam

ABSTRAK

AINUN AMALIAH SALAM. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Fungi Endofit Alga *Euclima cottonii* dari Perairan Pangkep, Sulawesi Selatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (dibimbing oleh Sartini dan Ayun Dwi Astuti).

Makroalga merupakan salah satu biota laut yang kaya akan metabolit sekunder dan dimanfaatkan sebagai antibakteri. Salah satu jenis makroalga yang banyak dijumpai di perairan Indonesia adalah *Euclima cottonii*. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat fungi endofit dari alga (*E. cottonii*) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* serta untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak hasil fermentasi fungi endofit *E. cottonii*. Isolasi fungi endofit dilakukan menggunakan metode tanam langsung dilanjutkan dengan skrining antibakteri menggunakan metode blok agar, kemudian fermentasi fungi endofit dilakukan menggunakan metode fermentasi substrat cair, dan uji daya hambat dilakukan menggunakan metode difusi agar serta dilakukan pengujian KLT. Berdasarkan hasil isolasi didapatkan 1 koloni fungi endofit. Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada hasil fermentasi isolat yaitu fraksi etil asetat diperoleh zona hambat dengan nilai $16,08 \pm 0,91$ mm terhadap *S. aureus* dan $9,55 \pm 1,64$ mm terhadap *E. coli*. Pada skrining fitokimia diketahui bahwa hasil fermentasi fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan steroid.

Kata Kunci : *Euclima cottonii*, Fungi Endofit, Antibakteri

ABSTRACT

AINUN AMALIAH SALAM. Isolation and Antibacterial Activity Test of Algae Endophytic Fungi (*Euclima cottonii*) from Pangkep Coast, South Sulawesi Against *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (supervised by Sartini and Ayun Dwi Astuti).

Macroalgae is a type of marine biota that contains massive amounts of secondary metabolites that can be used as an antibacterial agent. One type of macroalgae that is often found in Indonesian waters is *Euclima cottonii*. This research aims to obtain isolates of endophyte fungi from algae (*E. cottonii*) that were known to have antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* bacteria and to identify the secondary metabolite compounds which have antibacterial activity in fermented endophytic fungal extract *E. cottonii*. Isolation of endophyte fungi was carried out using the direct planting method followed by antibacterial screening using the agar block method, then fermentation of endophyte fungi using the liquid substrate fermentation method, and the inhibition test using the agar diffusion method and TLC testing was carried out. Based on the isolation results 1 endophytic fungal colony was obtained. The results of testing the antibacterial activity of the fermented isolate, namely the ethyl acetate fraction, obtained an inhibition zone with a value of 16.08 ± 0.91 mm against *S. aureus* and $9,55 \pm 1,64$ mm against *E. coli*. In the phytochemical screening, it was discovered that the fermentation of the ethyl acetate fraction contained flavonoid, alkaloids and steroid compounds.

Keywords : *Euclima cottonii*, Endophytic fungi, Antibacterial

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Alga (<i>Eucheuma cottonii</i>)	5
II.1.1 Klasifikasi	5
II.1.2 Ciri-ciri Tumbuhan	6
II.1.3 Kandungan dan Manfaat	6
II.2 Fungi Endofit	6
II.3 Bakteri Uji	7
II.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8

II.3.2 <i>Eschericia coli</i>	9
II.4 Isolasi Fungi	10
II.5 Fase Pertumbuhan Fungi	11
II.6 Fermentasi	12
II.7 Antimikroba	13
II.8 Uji Aktivitas Antimikroba	14
II.9 Ekstraksi	15
II.10 Kromatografi Lapis Tipis	17
BAB III METODE PENELITIAN	15
III.1 Alat dan Bahan	18
III.2 Metode Kerja	18
III.2.1 Penyiapan Alat dan Medium	18
III.2.2 Pengambilan Sampel	19
III.2.3 Isolasi Fungi Endofit	20
III.2.4 Pemurnian Fungi Endofit	20
III.2.5 Skrining Antibakteri	20
III.2.6 Fermentasi Isolat	21
III.2.7 Ekstraksi Alga	21
III.2.8 Uji Daya Hambat	22
III.2.9 Skrining Fitokimia	22
III.2.10 Pengumpulan dan Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
IV.1 Isolasi dan Pemurnian Fungi Endofit	25

IV.2 Skrining Antibakteri Fungi Endofit	27
IV.3 Fermentasi dan Uji Daya Hambat	28
IV. 4 Skrining Fitokimia	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	37
V.1 Kesimpulan	37
V.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data hasil pengukuran zona bening pada <i>S. aureus</i>	29
2. Data hasil pengukuran zona bening pada <i>E. coli</i>	30
3. Data hasil skrining fitokimia	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alga (<i>Eucheuma cottonii</i>)	5
2. Kurva Pertumbuhan Fungi	11
3. Hasil isolasi dan kontrol ruang	25
4. Hasil pemurnian fungi endofit	26
5. Hasil skrining aktivitas antibakteri	28
6. Hasil uji daya hambat pada <i>S. aureus</i>	29
7. Hasil uji daya hambat pada <i>E. coli</i>	29
8. Hasil uji KLT	33
9. Hasil Uji Flavonoid	35
10. Hasil Uji Alkaloid	35
11. Hasil Uji Steroid	36
12. Pengambilan sampel	45
13. Sterilisasi permukaan	45
14. Isolasi	45
15. Inokulasi	45
16. Skrining antimikroba	45
17. Fermentasi fungi endofit	45
18. Ekstraksi alga	46
19. Penguapan pelarut	46
20. Uji daya hambat	46

21. Uji KLT	46
22. Hasil uji daya hambat pada <i>S. aureus</i> dan <i>E.coli</i>	47

DAFTAR SINGKATAN

<i>E. cottonii</i>	= <i>Eucheuma cottonii</i>
<i>S. aureus</i>	= <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	= <i>Escherichia coli</i>
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
SDA	= <i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
PDY	= <i>Potato Dextrose Yeast</i>
NA	= <i>Nutrient Agar</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel	Halaman
1. Skema kerja	44
2. Dokumentasi penelitian	45

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Indonesia memiliki keanekaragaman biota laut, salah satunya adalah alga yang telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang kehidupan. Salah satu jenis alga yang memiliki potensi besar dan banyak dibudidayakan adalah jenis alga merah (*Rhodophyceae*), yaitu *Eucheuma cottonii*. *E. cottonii* memiliki potensi sebagai penghasil karaginan. Karaginan merupakan senyawa polisakarida yang memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, antipiretik dan aktivitas biologis lainnya. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki *E. cottonii* antara lain adalah senyawa fenolik (flavonoid) dan senyawa steroid/triterpenoid. Flavonoid dalam *E. cottonii* merupakan senyawa yang mempunyai kemampuan aktivitas antibakteri (Andriani *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Andriani *et al.*, (2015), dimana pada penelitiannya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap ekstrak alga *E. cottonii* dengan menggunakan pelarut metanol. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak metanol yang paling efektif sebagai antibakteri pada konsentrasi 4% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 7,85 mm dan *Escherichia coli* sebesar 6,25 mm.

Dalam eksplorasi senyawa metabolit sekunder memerlukan alga *E. cottonii* dalam jumlah yang banyak. Alga memerlukan waktu yang lebih lama

dalam pertumbuhannya. Maka dari itu, solusi yang dapat dilakukan yaitu dengan cara mengisolasi fungi endofitnya. Hal ini dikarenakan kemampuannya dalam memproduksi metabolit sekunder yang sama atau lebih besar dari tanaman inangnya dalam jangka waktu yang relatif lebih singkat dan memerlukan alga yang lebih sedikit (Trianasta *et al.*, 2021).

Beberapa penelitian mengenai isolasi fungi endofit juga telah dilakukan terhadap beberapa jenis alga, seperti pada penelitian yang dilakukan Herwin (2018) yang mengisolasi fungi endofit yang memiliki aktivitas sebagai antibiotika dari alga merah jenis *Gracilaria verrucosa* sebagai sumber penghasil antibiotika. Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Adriani (2015) yang mengisolasi fungi endofit dari *Caulerpa racemose* dari Takalar sebagai antibakterial terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal yang sama juga diteliti oleh Trianasta *et al.*, (2021) namun sampelnya diperoleh dari perairan yang berbeda yaitu dari Pulau Lemukutun, hasil yang diperoleh menunjukkan kemampuan fungi endofit menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan kategori penghambatan mulai dari sedang hingga kuat.

S. aureus dan *E. coli* telah dilaporkan resisten terhadap beberapa golongan antibiotika seperti golongan aminoglikosida, polimiksin, beta lactam dan sebagainya (Berliana & Hilda, 2015). Resistensi antibiotika merupakan permasalahan penting dalam bidang Kesehatan. Resistensi bakteri terhadap antibiotika dapat menyulitkan dalam proses pengobatan penyakit. Oleh karena itu, diperlukan cara untuk memperoleh antibiotik baru melalui

eksplorasi dari bahan alam dan penemuan mikroba penghasil antibiotika (Rollando, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sartika *et al.* (2013) yang mengisolasi fungi endofit dari *E. cottonii* menunjukkan zona hambat pertumbuhan pada bakteri *S. aureus* sebesar 17,33 mm dan *E. coli* sebesar 16,33 mm, nilai zona hambat dapat dikategorikan dalam kategori kuat. Penelitian menggunakan sampel yang sama juga dilakukan oleh Ismail (2010), dimana isolat alga *E. cottonii* yang diperoleh dari Rappoa, Kabupaten Bantaeng memberikan aktivitas antibakteri pada beberapa mikroba uji termasuk *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil penelitian tersebut didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Iskandar *et al.* (2009), yang mengatakan bahwa *E. cottonii* mengandung senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai senyawa antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri.

Dari beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dengan mengambil sampel di perairan yang berbeda-beda, maka penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel alga *E. cottonii* dari perairan Kecamatan Labakkang Kabupaten Pangkep untuk melihat aktivitas antibakteri dari isolat fungi endofitnya. Hal ini didasari pada perbedaan kondisi dan lokasi perairan yang berbeda-beda, seperti suhu, pH serta nutrien dapat memberikan pengaruh aktivitas mikroorganisme yang bersimbion pada inangnya (Murniasih, 2018).

I.2 Rumusan masalah

1. Apakah hasil fermentasi fungi endofit dan ekstrak dari alga *E. cottonii* asal perairan Kecamatan Labakkang Kabupaten Pangkep memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*?
2. Golongan senyawa apakah yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak hasil fermentasi fungi endofit *E. cottonii*?

I.3 Tujuan penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari hasil fermentasi fungi endofit ekstrak dari *E. cottonii* asal perairan Kecamatan Labakkang Kabupaten Pangkep terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa pada ekstrak hasil fermentasi fungi endofit *E. cottonii* yang bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* melalui teknik skrining fitokimia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Alga *Eucheuma cottonii*



Gambar 1. Tumbuhan *Eucheuma cottonii*

Alga adalah organisme fotosintetik yang hidup di air. Alga mempunyai peran penting dalam menjaga keseimbangan dan kualitas lingkungan air. Selain itu, alga juga berfungsi sebagai sumber makanan dan penghasil oksigen (Fatma *et al*, 2019). Makroalga adalah tumbuhan tingkat rendah yang tumbuhnya menempel pada suatu substrat seperti pada karang, lumpur, pasir, batu, mangrove, dan benda keras. Salah satu kelompok makroalga yang paling sering ditemukan adalah alga merah. Salah satu contoh spesies dari alga merah adalah *Eucheuma cottonii* (Ghazali *et al*, 2018).

II.1.1 Klasifikasi

Kingdom : *Plantae*

Filum : *Rhodophyta*

Kelas : *Florideophyceae*
Ordo : *Gigartinales*
Famili : *Solieriaceae*
Genus : *Eucheuma*
Spesies : *Eucheuma cottonii* (Kasanah *et al*, 2021).

II.1.2 Ciri-ciri Tumbuhan

Tumbuhan alga *Eucheuma cottonii* memiliki talus yang tegak dengan cabang yang tidak beraturan, kuat, dan tebal. Tumbuhan ini memiliki variasi warna dari coklat kekuningan, hijau, hingga kuning. Panjang dari spesies ini dapat mencapai ukuran 30 cm. Tumbuhan ini biasa ditemukan di bawah zona pasang surut hingga zona subtidal atas, tumbuh di atas pasir hingga ke dasar laut bebatu sepanjang terumbu karang (Kasanah *et al*, 2021).

II.1.3 Kandungan dan Manfaat

Alga *Eucheuma cottonii* diketahui sebagai salah satu bahan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan radioaktif alami (Khandaker *et al*, 2019; Yanuarti *et al*, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Fahrul *et al* (2021) diketahui bahwa ekstrak alga *E. cottonii* mengandung senyawa fenolik, steroid / triterpenoid, flavonoid, dan saponin. Ekstrak alga *E. cottonii* diketahui juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Salmonella Thyposa*,

II.2 Fungi Endofit

Fungi atau jamur adalah organisme eukariotik dan memerlukan oksigen untuk hidup. Sel-sel jamur tidak berklorofil, dinding selnya tersusun atas

khitin, dan belum mengalami diferensiasi. Jamur bersifat kemoorganoheterotrof yakni memperoleh energi dari oksidasi senyawa organik (Harahap *et al*, 2021).

Secara umum, fungi dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan tipe selnya yakni khamir dan kapang. Khamir adalah jamur yang bersel satu atau uniseluler dan hidupnya sebagian saprofit dan ada pula yang parasit. Kapang adalah fungi yang multiseluler (bersel banyak) kapang tumbuh seperti benang-benang yang disebut hifa dan hifa tersebut bercabang menjadi satu kumpulan yang disebut miselium (Djide dan Sartini, 2016).

Fungi endofit adalah fungi yang terdapat dalam sistem jaringan tumbuhan, seperti daun, bunga, ranting, maupun akar. Fungi ini mampu menghasilkan mitotoksin, enzim, serta antibiotika dengan cara menghasilkan metabolit sekunder yang identik dengan inangnya. Asosiasi fungi endofit dengan tumbuhan inang mampu melindungi inangnya dari berbagai patogen (Winarsih, 2018).

II.3 Bakteri Uji

Bakteri adalah mikroorganisme prokariotik (tidak memiliki membran inti) dan uniselular (terdiri dari satu sel). Bakteri umumnya tidak memiliki klorofil. Bakteri biasa dikelompokkan berdasarkan bentuk dan sifatnya terhadap pengecatan Gram. Bentuk bakteri dapat dikelompokkan ke dalam bentuk batang (*basil*), bulat (*coccus*), dan spiral. Berdasarkan sifatnya terhadap pengecatan dikenal dengan Gram positif dan Gram negatif (Hidayat *et al*, 2018).

II.3.1 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang berbentuk *coccus* (bulat) dan tersusun secara tidak beraturan menyerupai anggur. Koloni bakteri ini berwarna putih hingga kuning emas, tepi utuh, kenaikan permukaan melengkung dan tekstur halus, basah, dan buram. Bakteri ini bersifat non-motil, anaerob fakultatif, dan tidak memiliki spora serta menghasilkan enzim katalase. Bakteri ini banyak ditemukan pada selaput hidung, kulit dan kantung rambut (Rollando, 2019).

II.3.1.1 Klasifikasi

Domain : *Bacteria*
Filum : *Furmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Sahli, 2023)

II.3.1.2 Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit, osteomielitis. Bakteri ini memproduksi berbagai toksin di antaranya: (1) eksotoksin alfa, (2) toksin beta yang terdiri dari hemolisin yang dapat menyebabkan lisis pada sel darah merah, (3) toksin F dan S yang merupakan protein eksoseluler dan bersifat leukositik, (4) enzim hialuronidase yang dapat memecah asam hialuronat yang

mempermudah penyebaran bakteri ke seluruh tubuh, dan (5) endotoksin yang terdiri dari protein sederhana (Djide dan Sartini, 2016).

II.3.2 *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang termasuk dalam kelompok *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini berbentuk batul dengan susunan sel tunggal yang dapat memfermentasi beberapa karbohidrat (laktosa, sukrosa, dan manitol), menghasilkan indol, dan bersifat motil. Bakteri ini banyak ditemukan pada usus besar manusia dan berperan dalam pembusukan sisa makanan (Rollando, 2019).

II.3.2.1 Klasifikasi

Domain : *Bacteria*
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Entrobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli* (Sumampouw, 2019)

II.3.2.2 Patogenitas *Escherichia coli*

Bentuk patogen dari bakteri *E. coli* yang berhubungan dengan penyakit manusia sangat beragam. Strain patogen tertentu dapat menyebabkan penyakit diare hingga disentri parah. Selain itu bakteri *E. coli* yang berhabitat di saluran kemih dapat menyebabkan sistitis atau

pielonefritis, atau infeksi ekstraintestinal lainnya seperti septikemia dan meningitis (Donnenberg dan Whittam, 2001).

II.4 Isolasi Fungi

Isolasi mikroorganisme adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan mikroorganisme dari lingkungan alami ke dalam medium baru untuk memperoleh kultur murni (Mikdarullah dan Nugraha, 2017). Isolasi fungi dapat dilakukan dengan 3 cara, antara lain (Fauziyyah dan Putri, 2016) :

A. Metode *Streak*

Metode ini dilakukan dengan cara menggoreskan hasil *swab* pada permukaan medium agar secara aseptis. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 hingga 72 jam.

B. Metode *spread*

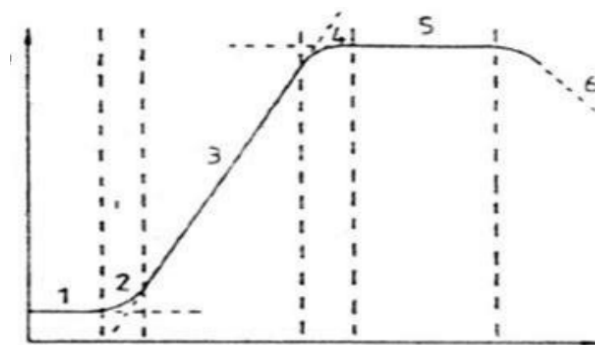
Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan secara aseptis masing-masing sampel ke dalam akuades steril dengan konsentrasi tertentu. Kemudian larutan sampel diinokulasikan secara *spread* di atas medium agar. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 24-72 jam.

C. Metode tanam langsung

Metode ini dilakukan dengan cara menempelkan sampel secara aseptis di atas medium agar. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 24-72 jam.

II.5 Fase Pertumbuhan Fungi

Fungi dapat berkembangbiak secara aseksual dan seksual. pertumbuhan fungi terjadi pada ujung hifa dimana proses pertumbuhan awal terjadi sampai membentuk septum. Pertumbuhan fungi melibatkan transportasi dan asimilasi nutrisi yang keduanya saling terintegrasi ke dalam komponen seluler dan diikuti peningkatan biomassa serta berakhir pada pembelahan sel (Prayitno dan Hidayati, 2017).



Gambar 2. Kurva pertumbuhan fungi; (1) fase lag, (2) fase akselerasi, (3) eksponensial, (4)-(5) fase stasioner, dan (6) fase kematian (Prayitno dan Hidayati, 2017)

Pertumbuhan fungi dapat dilihat pada Gambar 2. (Prayitno dan Hidayati, 2017) :

Fase lag merupakan fase adaptasi dimana terjadi penyesuaian sel-sel fungi dengan lingkungan dan pembentukan enzim-enzim hidrolisis untuk menguraikan substrat. Selanjutnya adalah fase akselerasi dimana sel-sel fungi mulai memanfaatkan substrat dan tumbuh, serta fase lag menjadi fase aktif. Fase eksponensial adalah fase ketika sel-sel fungi tumbuh untuk memperbanyak jumlah sel dan aktivitas sel sangat meningkat. Pada fase stasioner sel-sel fungi mengalami penurunan dalam pembelahan sel dan

pertumbuhan sel mulai berhenti. Terakhir terdapat fase kematian atau fase kerusakan sel (fase autolisis) yang pada fase ini sel-sel fungi banyak yang mati akibat kekurangan nutrisi dan keracunan hasil metabolismenya sendiri (Prayitno dan Hidayati, 2017).

II.6 Fermentasi

Fermentasi adalah proses dalam melakukan dan menghasilkan produk dari pembiakan suatu mikroorganisme. Berdasarkan jenis media, fermentasi dibedakan menjadi dua yakni (Kumala *et al*, 2019) :

- A. Fermentasi padat / *solid state fermentation* (SFF). Metode ini biasa digunakan untuk substrat yang tidak larut atau tidak mengandung air untuk keperluan mikroba dan menggunakan medium padat. Metode ini biasa digunakan untuk produksi enzim dan asam organik.
- B. Fermentasi cair / *submerged fermentation* (SmF). Metode ini biasa digunakan untuk substrat yang larut dalam fase cair. Metode fermentasi ini membutuhkan aerasi dan agitasi.

Berdasarkan metodenya, fermentasi dibedakan menjadi tiga, antara lain (Sihotang *et al*, 2019) :

- A. Fermentasi *batch* (curah). Pada metode ini selama prosesnya tidak dilakukan penambahan medium baru sehingga termasuk dalam metode fermentasi sistem tertutup.
- B. *Fed-batch* (Curah sulang). Pada metode ini dilakukan penambahan medium baru sehingga termasuk dalam metode fermentasi sistem terbuka.

C. Kontinyu (sinambung). Pada metode ini dilakukan penambahan medium baru, volume tetap, dan fase fisiologi selnya konstan. Metode ini termasuk dalam metode fermentasi sistem terbuka.

II.7 Antimikroba

Antimikroba adalah bahan atau obat yang dapat digunakan untuk membunuh maupun menghambat mikroba penyebab infeksi. Suatu antimikroba memperlihatkan toksisitas yang selektif, dimana obatnya lebih toksis terhadap mikroorganisme dibandingkan pada sel inangnya. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroorganisme atau karena obat pada reaksi-reaksi biokimia penting dalam parasit lebih unggul daripada pengaruhnya terhadap sel inangnya karena perbedaan struktur (Djide dan Sartini, 2016).

Antimikroba dapat bersifat (Djide dan Sartini, 2016) :

- A. Bakterostatika, yaitu zat atau bahan yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam keadaan seperti ini jumlah mikroorganisme menjadi stasioner, tidak dapat lagi melakukan multiplikasi dan berkembangbiak.
- B. Bakteriosida, yaitu zat atau bahan yang dapat membunuh pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam keadaan seperti ini jumlah mikroorganisme akan berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan multiplikasi atau berkembangbiak.

Antimikroba memiliki mekanisme kerja utama ada lima cara antara lain (Djide dan Sartini, 2016) :

- A. Penginaktivasian enzim tertentu.
- B. Denaturasi protein.
- C. Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri.
- D. Interkalasi ke dalam DNA.
- E. Pembentukan khelat.
- F. Bersifat antimetabolit.
- G. Penghambatan terhadap sintesa dinding sel.
- H. Penghambatan fungsi permeabilitas membran sel.
- I. Penghambatan sintesis protein.
- J. Penghambatan asam nukleat.

II.8 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba memiliki prinsip, antara lain (Pelu A, 2022) :

- A. Metode untuk mengatur aktivitas antimikroba terhadap suatu mikroorganisme.
- B. Metode untuk mendeteksi keberadaan mekanisme resistensi spesifik pada suatu mikroorganisme.
- C. Metode untuk mengukur interaksi antara mikroba dengan antimikroba serta ukuran konsentrasi zat antimikroba untuk mendapatkan pengobatan yang efektif.

Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan beberapa metode pengujian, antara lain (Kusmiati dan Agustini, 2007) :

A. Metode difusi

1. Metode silinder, yakni dengan cara meletakkan beberapa silinder di atas media agar yang telah diinokulasikan mikroorganisme. Kemudian tiap silinder diisi dengan larutan yang akan diuji.
2. Metode sumuran, yakni dengan cara membuat lubang pada media agar yang telah diinokulasikan mikroorganisme. Kemudian tiap lubang diisi dengan larutan yang akan diuji.
3. Metode kertas cakram, yakni dengan cara meletakkan kertas cakram yang telah direndam dengan larutan uji di atas media agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme.

B. Metode dilusi

Metode ini dilakukan dengan cara melakukan pengenceran zat antimikroba dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi. Kemudian sejumlah mikroorganisme uji ditambahkan ke dalam masing-masing tabung dan pada interval waktu tertentu, dilakukan pemindahan dari tiap tabung ke dalam tabung berisi media steril (Kusmiati dan Agustina, 2007).

II.9 Ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan satu atau lebih senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Mekanisme ekstraksi dimulai dengan adsorpsi pelarut pada permukaan sampel yang dilanjutkan dengan difusi pelarut ke dalam sel dan pelarutan analit oleh pelarut. Setelah itu terjadi difusi analit-pelarut ke

permukaan sampel dan desorpsi analit-pelarut dari permukaan sampel ke dalam pelarut. Kecepatan difusi ini bergantung pada temperatur, luas permukaan sampel, jenis pelarut, perbandingan analit dengan pelarut, serta kecepatan dan lama pengadukan (Leba, 2017).

Pembagian metode ekstraksi berdasarkan suhu bersesuaian dengan senyawa yang akan disari. Untuk senyawa yang tahan terhadap pemanasan dapat menggunakan metode :

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

Untuk senyawa yang tidak tahan pemanasan dapat menggunakan metode sebagai berikut :

- A. Maserasi. Maserasi adalah metode penyarian senyawa dengan cara memasukkan serbuk simplisia dan pelarut ke dalam wadah inert yang tertutup pada suhu ruang. Proses ini dihentikan ketika tercapai

keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi senyawa dalam sel (Mukhriani, 2014).

- B. Sokletasi. Sokletasi adalah metode penyarian dengan cara menempatkan sampel yang sudah dibungkus dengan sarung selulosa (atau kertas saring) dalam klonsong yang berada di atas labu dan di bawah kondensor (Mukhriani, 2014).
- C. Perkolasi. Perkolasi adalah metode penyarian dengan cara membasahi serbuk sampel dengan pelarut dalam sebuah perkolator. pelarut ditambahkan di bagian atas dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Mukhriani, 2014).

II.10 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode analisis yang digunakan untuk memisahkan campuran senyawa. Pada prinsipnya pemisahan pada KLT didasarkan pada prinsip adsorpsi senyawa-senyawa oleh fase diam (adsorben) dan partisi oleh 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 kepolarannya. Pemisahan komponen senyawa dapat diamati melalui tampaknya bercak atau noda dengan nilai R_f yang berbeda. Nilai R_f yang baik terletak antara 0,2 hingga 0,8 (Alen *et al*, 2017; Leba, 2017; Rohman, 2020).

Nilai R_f dapat ditentukan menggunakan rumus (Rohman, 2020) :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh isolat}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$