

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBIOTIKA
DARI TANAH SEKITAR PEMBUANGAN LIMBAH
PABRIK GULA TAKALAR**

**ASMIRA AZISA NUR
N111 09 120**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBIOTIKA
DARI TANAH SEKITAR PEMBUANGAN LIMBAH
PABRIK GULA TAKALAR**

SKRIPSI

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

**ASMIRA AZISA NUR
N111 09 120**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

PERSETUJUAN

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI TANAH
SEKITAR PEMBUANGAN LIMBAH PABRIK GULA TAKALAR**



ASMIRA AZISA NUR

N111 09 120

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pertama

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

Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt
NIP.19481002 198203 2 001

Pada tanggal, 24 Juli 2013

PENGESAHAN

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI TANAH
SEKITAR PEMBUANGAN LIMBAH PABRIK GULA TAKALAR**

Oleh :

**ASMIRA AZISA NUR
N111 09 120**

**Dipertahankan Dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal : 24 Juli 2013**

Panitia Penguji Skripsi :

1. Usmar, S.Si., M.Si., Apt. (Ketua) :
2. Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt. (Sekretaris) :
3. Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt. (Ex officio) :
4. Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. (Ex officio) :
5. Sumarheni, S.Si., M.Sc., Apt. (Anggota) :

Mengetahui :

**Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin**

**Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah 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 dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 24 Juli 2013

Penyusun

Asmira Azisa Nur

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat mengerjakan penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penulis mempersembahkan rasa terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Ayahanda H. Azis Gunadi M. Nur dan Ibunda Hj. Suratmi, serta adik-adikku Asmiana, Asmi Suci, Isma Inggit, dan Bella Ajeng atas segala doa, kasih sayang, dorongan moril maupun material kepada penulis selama ini. Kepada Rizki Adrian, Amd.PK terima kasih juga atas dukungan dan motivasinya yang diberikan kepada penulis. Semoga Allah SWT selalu melindungi kalian semua.

Dengan segala ketulusan hati penulis juga menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama, Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama, yang telah banyak memberi nasehat akademik, memberi petunjuk, membagi ilmu dan menyumbangkan ide-ide dalam

membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

3. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt. selaku Wakil Dekan I, Prof. Dr. Rer-nat. Hj. Marianti A. Manggau, Apt. selaku Wakil Dekan II, dan Drs.Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan III.
4. Bapak dan Ibu staf pengajar Fakultas Farmasi UNHAS yang telah mendidik penulis selama masa perkuliahan.
5. Usmar, S.Si., M.Si., Apt., Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt. dan Sumarheni, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Kak Haslia S.Si. selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin, yang telah memberikan petunjuk dan saran serta fasilitas laboratorium selama penulis melakukan penelitian.
7. Kak Andi Dian Permana S.Si., Apt dan Kak Sherwin Armanda S.Si., Apt yang telah membantu dan memberi petunjuk serta saran selama penulis melakukan penelitian.
8. Rekan-rekan mahasiswa Fakultas Farmasi khususnya teman-teman angkatan Ginkgo 09 yang telah banyak berbagi suka dan duka.

9. Sahabat-sahabatku lin Fitriana Pakata S.Si, Siti Inayyah Arista, Cahyani Purnasari, Sallmia, Merliana Mansyur, dan Suhariani Lasuda atas dukungan, semangat, bantuan dan persahabatan selama ini. serta seluruh pihak yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak memberikan bantuan, motivasi dan inspirasi bagi penulis selama masa perkuliahan sampai penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, banyak kekurangan dan kelemahan. Di dunia tak ada satupun yang sempurna karena kesempurnaan hanya milik-Nya. Maka dari itu saran dan kritik membangun sangat penulis harapkan guna tambahan wawasan agar dalam pengerjaan penelitian selanjutnya dapat lebih baik.

Akhirnya semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi, amin

Makassar, 24 Juli 2013

Asmira Azisa Nur

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi mikroba penghasil antibiotika dari tanah sekitar pembuangan limbah pabrik gula Takalar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat mikroba penghasil antibiotika yang dilakukan dengan menggunakan metode tuang pada tahap isolasi mikroba. Isolat yang diisolasi, difermentasi selama 11x24 jam pada suhu kamar (28-30⁰C), kemudian diujikan aktivitas antibiotiknya dengan metode difusi. Hasil isolasi menghasilkan 5 isolat dan hanya 2 isolat yang aktif terhadap *Salmonella thyposa* dan *Escherichia coli*. Setelah dilakukan pengujian karakteristik terhadap dua isolat tersebut isolat A-1 dan A-2 menunjukkan karakteristik yang serupa dengan *Actinomyces*.

ABSTRACT

A research of the isolation of microbes producing antibiotic from the soil around the sugar factory sewage in Takalar has been done. The purpose of this study is to obtain isolates of microbes producing antibiotic are carried out using the cast method on stage microbial isolation. The isolate of microbes was fermented during 11 x 24 hours at room temperature (28-30°C), and then tested the antibiotic activity with diffusion method. The result yield 5 isolates and only 2 isolates were active against *Escherichia coli* and *Salmonella thyposa*. After testing the characteristics of the two isolates isolates A-1 and A-2 shows characteristics similar to Actinomyces.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN PENUNJUK	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Tanah dan Mikroba Tanah	5
II.2 Deskripsi Actinomycetes.	6
II.3 Deskripsi Tanaman Tebu	7
II.4 Skrining dan Isolasi Mikroorganisme	8
II.5 Fermentasi Mikroorganisme.....	11
II.6 Uji Aktivitas Antimikroba.....	11

II.7 Uraian Umum Antibiotika.....	14
II.7.1 Penggolongan Antibiotika.....	15
II.7.2 Mekanisme Kerja Antibiotika	15
II.8 Pengujian Aktivitas Antibiotika	16
II.8.1 Metode Pengenceran.....	16
II.8.2 Metode Difusi	16
II.9 Uraian Mikroba Uji.....	18
II.9.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
II.9.2 <i>Escherichia coli</i>	18
II.9.3 <i>Candida Albicans</i>	19
II.9.4 <i>Salmonella thyposa</i>	20
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	21
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	21
III.2 Metode Kerja.....	21
III.2.1 Sterilisasi Alat.....	21
III.2.2 Pembuatan Medium	22
III.2.3 Pengambilan dan Penyiapan Sampel	22
III.2.3.1 Pengambilan Sampel	22
III.2.3.2 Pra-Perlakuan Sampel	23
III.2.3.3 Pembuatan Suspensi Sampel	23
III.2.4 Pembiakan Mikroba dan Isolasi Biakan.....	23
III.2.4.1 Pembiakan Mikroba.....	23
III.2.4.2 Seleksi dan Isolasi Biakan.....	23

III.2.5 Penentuan Aktivitas Antibiotik Isolat Mikroba	24
III.2.5.1 Penentuan Aktivitas Antibakteri.....	24
III.2.5.2 Penentuan Aktivitas Antifungi.....	24
III.2.6 Fermentasi Biakan Murni	25
III.2.7 Penyiapan Mikroba Uji	25
III.2.7.1 Peremajaan Mikroba Uji	25
III.2.7.2 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji	26
III.2.8 Pengujian Aktivitas Antibiotik	26
III.2.9 Karakterisasi Mikroba.....	26
III.2.9.1 Pengamatan Morfologi dengan Pewarnaan Gram ...	26
III.2.9.2 Uji Glukosa, Laktosa, Sukrosa	27
III.2.9.3 Uji Katalase	27
III.2.9.4 Uji Oksidasi Fermentasi	27
III.2.9.5 Uji Hidrolisis Polisakarida	27
III.2.9.6 Uji Produksi Indol	28
III.2.9.7 Uji FTM.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
IV.1 Isolasi Mikroba Tanah.....	29
IV.2 Uji Antagonis Mikroba.....	31
IV.3 Uji Fermentasi Mikroba.....	32
IV.4 Aktivitas Antimikroba Metabolit Mikroba	34
IV.5 Aktivitas Biokimia Isolat Mikroba	36
IV.6 Pengamatan Mikroskopik.....	40

BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	42
	V.1 Kesimpulan	42
	V.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
Lampiran	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Supernatan Isolat	35
2. Hasil Karakterisasi Isolat A-1	37
3. Hasil Karakterisasi Isolat A-2	37
4. Hasil Pengamatan Mikroskopik Isolat	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pertumbuhan mikroba <i>Actinomycetes</i> dari sampel tanah yang dipanaskan pada medium SNA	30
2. Pertumbuhan fungi dari sampel tanah yang tidak dipanaskan pada medium PDA	30
3. Isolat mikroba yang telah dimurnikan pada medium SNA dan PDA	31
4. Hasil uji antagonis isolat	32
5. Hasil fermentasi dan hasil supernatan dari isolat A-1 dan A-2	34
6. Hasil uji aktivitas antimikroba isolat terhadap bakteri uji <i>S.thyposa</i>	35
7. Hasil uji aktivitas antimikroba isolat terhadap bakteri uji <i>E.colli</i>	35
8. Hasil uji aktivitas biokimia isolat A-1	38
9. Hasil uji aktivitas biokimia isolat A-2	39
10. Hasil pengamatan mikroskopik isolat A-1	40
11. Hasil pengamatan mikroskopik isolat A-2	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Medium	46
2. Skema Kerja	49

BAB I

PENDAHULUAN

Penemuan penisilin secara kebetulan oleh Sir Alexander Fleming pada tahun 1929 adalah faktor utama untuk dimulainya keaktifan riset yang menajutkan dan berhasil tentang bahan-bahan yang bersifat anti infeksi yang umum dikenal sebagai antibiotik. Antibiotika, yang ditemukan oleh Paul Ehrlich pada 1910, sampai saat ini masih menjadi obat andalan dalam penanganan kasus-kasus penyakit infeksi. Pemakaiannya selama 5 dekade terakhir mengalami peningkatan yang luar biasa, hal ini tidak hanya terjadi di Indonesia tetapi juga menjadi masalah di negara maju seperti Amerika Serikat. *The Center for Disease Control and Prevention in USA* menyebutkan terdapat 50 juta peresepan antibiotik yang tidak diperlukan (*unnecesecery prescribing*) dari 150 juta peresepan setiap tahun (1,2)

Antibiotika dapat ditemukan dalam berbagai sediaan, dan penggunaannya dapat melalui jalur topical, oral, maupun intravena. Banyaknya jenis pembagian, klasifikasi, pola kepekaan kuman, dan penemuan antibiotika baru seringkali menyulitkan klinisi dalam menentukan pilihan antibiotika yang tepat ketika menangani suatu kasus penyakit. Hal ini juga merupakan salah satu faktor pemicu terjadinya resistensi. Tidak mengherankan apabila bakteri dapat dengan mudah beradaptasi dengan paparan antibiotika, mengingat keberadaan dan

perkembangannya telah dimulai sejak kurang lebih 3,8 milyar tahun yang lalu. Resistensi pasti diawali adanya paparan antibiotika, dan meskipun hanya ada satu atau dua bakteri yang mampu bertahan hidup, mereka punya peluang untuk menghentikan perkembangan bakteri (3).

Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Selain berdampak pada morbiditas dan mortalitas, juga memberi dampak negatif terhadap ekonomi dan sosial yang sangat tinggi. Pada awalnya resistensi terjadi di tingkat rumah sakit, tetapi lambat laun juga berkembang di lingkungan masyarakat, khususnya *Streptococcus pneumoniae* (SP), *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Beberapa kuman resisten antibiotik sudah banyak ditemukan diseluruh dunia, yaitu *Staphylococcus Aureus* (MRSA) yang resisten terhadap *Metisilin*, *Enterococci* (VRE) yang resisten terhadap *Vancomycin*, *Pneumococci yang resisten terhadap Penisilin*, *Klebsiella pneumoniae* yang menghasilkan *Extended – Spectrum BetaLactamase* (ESBL), *Acinetobacter baumannii* dan *Mycobacterium tuberculosis yang resisten terhadap karbapenem*. Kuman resisten antibiotik tersebut terjadi akibat penggunaan antibiotik yang tidak bijak dan penerapan kewaspadaan standar yang tidak benar di fasilitas pelayanan kesehatan. Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi mikroba penghasil antibiotik baru yang dapat menangani masalah resisten tersebut. Salah

satu sumber mikroba penghasil antibiotik adalah mikroba yang terdapat didalam tanah (4).

Tanah secara alamiah terbentuk sebagai hasil dari kombinasi proses fisik, kimia dan biologi. Tanah merupakan media yang baik tempat tumbuh dan berkembangnya beraneka ragam mikroorganisme. Walaupun ditanah keras yang keras dan kering, mikroba bersifat dorman, yang akan tumbuh ketika ada kelembapan. Begitu juga lament actinomycetes bertahan hidup dalam tanah dalam keadaan spora dorman. Usaha untuk mengeksplorasi spesies baru mikroba dilakukan dengan penerapan teknik baru. Perlu dilakukan untuk meneliti meliputi kultivasi, isolasi, mikroba yang tidak dapat dikultivasi menggunakan teknik media konvensional untuk mengeksplorasi fungsi-fungsi baru mikroba tersebut termasuk metabolit sekunder atau antibiotika yang dikeluarkannya. Di dalam bidang eksplorasi senyawa-senyawa bioaktif baru yang dihasilkan oleh mikroba terus dilakukan. Walaupun hingga kini telah diketahui bahwa agak sulit untuk mendapatkan senyawa bioaktif baru apabila kita menggunakan metode konvensional dalam mengisolasi mikroba penghasil antibiotika baru (5).

Di Indonesia, limbah industri gula (ampas, blotong dan abu ketel) berpotensi besar sebagai sumber bahan organik, serta dapat mengatasi masalah pengadaaan bahan pembenah tanah, namun jika tidak ditangani secara baik dapat mengganggu lingkungan. Kesuburan tanah tidak hanya bergantung pada komposisi kimiawinya melainkan juga pada ciri alami

mikroorganisme yang menghuninya. Mikroorganisme yang menghuni tanah dapat dikelompokkan menjadi bakteri, *actinomycetes*, jamur, alga dan protozoa.

Tanah yang digunakan disini merupakan tanah pada lokasi sekitar pembuangan limbah pabrik gula tebu dimana limbah tersebut terdiri dari ampas blotong dan abu ketel yang mengandung bahan organik sebagai nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan berbagai mikroorganisme tanah (6).

Berdasarkan hal tersebut maka akan dilakukan penelitian mengenai isolasi mikroba penghasil antibiotika dari tanah sekitar pembuangan limbah pabrik gula tebu. Adapun permasalahan dalam penelitian ini adalah untuk melihat apakah dalam tanah pembuangan limbah pabrik gula terdapat mikroba penghasil antibiotika?, dengan tujuan untuk mendapatkan isolat mikroba penghasil antibiotika dari tanah sekitar pembuangan limbah pabrik gula.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Tanah dan Mikroba Tanah

Tanah dapat dipandang sebagai permukaan lahan di atas bumi yang menyediakan substrat bagi kehidupan tumbuhan dan hewan. Ciri-ciri lingkungan tanah bervariasi menurut letak dan iklimnya. Tanah juga memiliki kedalaman, sifat-sifat fisik, komposisi kimiawi dan asal yang berbeda. Ada lima kategori utama tanah, yaitu : *partikel mineral, bahan organik, air, gas, dan jasad hidup*.

Tanah merupakan salah satu habitat bagi mikroorganisme, dalam satu gram tanah terdapat jutaan bakteri, fungi, protozoa dan mikroorganisme lainnya. Populasi mikroorganisme dalam tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu : 1) Jumlah dan jenis zat hara dalam tanah, 2) Kelembaban, 3) Tingkat aerasi, 4) Suhu, 5) pH, dan 6) Perlakuan pada tanah, seperti pemupukan. (7)

Peranan penting mikroorganisme tanah ialah fungsinya yang membawa perubahan kimiawi pada substansi-substansi didalam tanah, terutama perubahan persenyawaan organik yang mengandung karbon, nitrogen, sulfur, fosfor menjadi persenyawaan anorganik.

Kesuburan tanah tidak hanya bergantung pada komposisi kimiawinya melainkan juga pada ciri alami mikroorganisme yang menghuninya. Mikroorganisme yang menghuni tanah dapat

dikelompokkan menjadi bakteri, actinomycetes, jamur, alga dan protozoa (8)

II. 2 Deskripsi *Actinomycetes*

Actinomycetes adalah organisme tanah yang memiliki sifat-sifat yang umum dimiliki oleh bakteri dan jamur tetapi juga mempunyai ciri khas yang cukup berbeda yang membatasinya menjadi satu kelompok yang jelas berbeda. Dalam hal ini taksonomi yang seksama, actinomycetes dikelompokkan dengan bakteri dalam kelas yang sama yaitu Schizomycetes tetapi terbatas hanya dalam ordo Actinomycetales. Pada lempeng agar, mereka dapat dibedakan dengan mudah dari bakteri yang sebenarnya. Tidak seperti koloni bakteri yang sebenarnya yang jelas berlendir dan tumbuh dengan cepat, koloni actinomycetes muncul perlahan, menunjukkan konsistensi berbutuk dan melekat erat pada permukaan agar.

Actinomycetes terdiri dari 10-50% total populasi mikroba dalam tanah. Kelimpahan populasi actinomycetes didalam tanah adalah terbesar kedua setelah bakteri. Actinomycetes bersifat aerobik, karena itu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan. Oleh karena itu, tidak dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang basah. Actinomycetes tumbuh sangat lambat pada suhu 5⁰C dan dapat diisolasi lebih banyak dari tanah yang lebih panas daripada tanah yang dingin. Demikian pula sporanya yang dapat tumbuh pada semua keadaan, baik pada tanah yang lebih panas maupun tanah yang lebih kering, tetapi tidak berarti organisme

tersebut menyukai panas. Pertumbuhan optimum pada suhu antara 28 – 37⁰C, tetapi beberapa actinomycetes tumbuh pada suhu 55 – 65 ⁰C, didalam kompos.

Actinomycetes toleran terhadap keadaan basa. Dalam tanah yang bersifat alkali, 95% dari isolat mikroba terdiri dari actinomycetes, berarti juga organisme tersebut tidak tahan terhadap asam. Pada PH lebih kecil daripada 5, actinomycetes hanya merupakan bagian kurang dari 1% dari populasi mikroba. (9,10)

II.3 Deskripsi Tanaman Tebu

Tebu (*Saccharum officinarum*) adalah tanaman yang ditanam untuk bahan baku gula. Tanaman ini hanya dapat tumbuh di daerah beriklim tropis. Tanaman ini termasuk jenis rumput-rumputan. Umur tanaman sejak ditanam sampai bisa dipanen mencapai kurang lebih 1 tahun. Di Indonesia tebu banyak dibudidayakan di pulau Jawa, Sumatra, dan Sulawesi (11)

Beberapa macam limbah dari tanaman tebu adalah :

1. Blotong adalah limbah padat pabrik gula yang berasal dari stasiun pemurnian, berbentuk seperti tanah berpasir berwarna hitam, memiliki bau tidak sedap jika masih basah. Blotong masih memiliki sifat dan kandungan zat yang masih berguna dan bermanfaat. Disamping itu, kelebihan limbah biomassa ini adalah mempunyai nilai kalor yang cukup tinggi. Blotong basah mempunyai kadar air 50 – 70%, dalam sehari dapat dihasilkan 3,8 – 4% dari jumlah tebu yang digiling.

2. Ampas tebu adalah suatu residu dari proses penggilingan tanaman tebu setelah diekstrak atau dikeluarkan niranya pada industri pemurnian gula sehingga diperoleh hasil samping sejumlah besar produk limbah berserat dan mempunyai tingkat higroskopis tinggi yang disebut ampas tebu (*baggase*). Ampas tebu dihasilkan dari 32% tebu atau sekitar 10,2 juta ton/tahun atau per musim giling se-Indonesia. Sebagian besar ampas tebu digunakan sebagai bahan bakar ketel untuk memproduksi energi. Sisanya terhampar di lahan pabrik sebagai limbah padat yang merugikan lingkungan jika tidak dimanfaatkan. Ampas tebu mudah terbakar karena mengandung air, gula, serat dan mikroba sehingga bila tertumpuk akan terfermentasi dan melepaskan panas. Jika suhu tumpukan mencapai 94°C akan terjadi kebakaran spontan.

3. Abu ampas tebu merupakan hasil perubahan secara kimiawi pembakaran ampas tebu murni. Ampas tebu berguna sebagai bahan bakar untuk memanaskan ketel dengan suhu mencapai 550°C - 600°C dan lama pembakaran 4 – 8 jam. (12,13)

II.4 Skrining dan Isolasi Mikroorganisme

Mikroorganisme di alam dapat diperoleh dalam bentuk tunggal, tetapi pada umumnya mikroorganisme di alam selalu dalam bentuk populasi campuran, baik yang mempunyai hubungan kerabat maupun tidak. Ada beberapa hal identifikasi bakteri dapat dibuat dari pengamatan preparat dari yang diwarnai dan dapat ditentukan ukuran, bentuk, dan

kelompok atau grup organismenya (apakah termasuk basillus, kokus, gram positif atau gram negatif) (14).

Metode – metode isolasi mikroorganisme dalam suatu bahan campuran :

1. Metode Goresan

Inokulum digoreskan dipermukaan medium agar nutrisi (NA) dalam cawan petri, dengan menggunakan jarum ose .

2. Metode Agar Sebar

Setetes inokulum diletakkan ditengah-tengah medium agar nutrisi (NA) dan dengan menggunakan batang kaca bengkok (hockey stick). Inokulum tersebut disebarkan untuk menginkubasikan pada cawan petri yang lain untuk menjamin penyebaran sel-selnya dengan baik. Pada beberapa cawan petri akan tumbuh koloni-koloni yang terpisah-pisah.

3. Metode Tuang

Langkah 1 : dengan jarum ose di pindahkan satu ose penuh suspensi asal ke tabung A (medium agar cair steril yang agak dingin). Tabung A tersebut dihomogenkkan dengan cara memutar pada tangan. Hal yang serupa dilakukan dari tabung A ke B dan dari B ke C dan seterusnya.

Langkah 2 : isi setiap tabung hasil pengenceran dituangkan ke cawan petri terpisah.

Langkah 3 : setelah inkubasi, cawan-cawan diperiksa kalau ada koloni yang terpisah-pisah. Dari cawan yang berisikan koloni-koloni terisolasi tersebut. Dapat diisolasi biakan murni mikroorganisme dengan

memindahkan sebagian dari satu koloni ke dalam tabung yang berisi medium steril yang baru (14,15).

Kultur murni adalah suatu koloni yang berasal dari satu sel mikroorganisme atau bakteri. Begitu penting kultur murni dalam identifikasi mikroorganisme (bakteri), maka cara-cara untuk memperoleh kultur menjadi sangat fundamental bagi bidang mikrobiologi. Cara termudah untuk memperoleh kultur murni adalah dengan cara penanaman dalam plat agar secara goresan atau dengan taburan seperti dijelaskan diatas sel-sel inokulum akan tersebar diatas media gar sedemikian rupa, sehingga koloni yang tumbuh merupakan koloni yang berasal dari satu sel.koloni-koloni tersebut selanjutnya digoreskan kembali pada medium agar yang lainnya untuk mengecek kemurniannya.

Hanya perlu diingat bahwa penggoresan inokulum pada agar media, kadang-kadang tidak berhasil untuk mendapatkan kultur murni karena (14):

1. bentuk organisme dalam suatu spesimen yang dapat menimbulkan problem dalam memilih organisme mana yang wajar diuji. Walaupun semua mikroorganisme dapat diidentifikasi, hal ini tentu dapat merepotkan waktu dan tidak efisien.
2. Mikroorganisme yang akan diuji kemungkinan berbeda dalam proporsi yang relatif kecil dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya.
3. Mikroorganisme terdapat tidak merata dalam suatu sumber isolasi.

II.5 Fermentasi Mikroorganisme

Fermentasi adalah proses yang dilakukan oleh mikroorganisme baik melalui proses aerobik ataupun anaerobik yang menyebabkan terjadinya perubahan kimia spesifik dari suatu substrat organik dan menghasilkan produk yang bernilai ekonomis (16)

Dalam proses fermentasi mikroorganisme, pemilihan medium sangat penting terhadap keberhasilan proses fermentasi karena medium menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan, energi, zat pembangun sel, dan substrat biosintesis selama fermentasi. Medium yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme mengandung sumber karbon (umumnya glukosa), sumber nitrogen (umumnya ammonia atau nitrat terkadang asam amino), fosfat, sulfat, magnesium, potassium, dan unsur mikro seperti besi, mangan, zink, tembaga. Dan sebagai tambahan, terkadang juga ditambahkan bahan alam pada médium seperti air rendaman jagung, ekstrak khamir, jus buah-buahan, dan protein terhidrolisa (16).

II.6 Uji Aktivitas Antimikroba

Metode penentuan kepekaan mikroba digunakan untuk mengetahui potensi dari suatu antibiotik dalam sampel atau menguji kepekaan antimikroba. Penentuan kepekaan mikroba patogen (bakteri dan fungi) terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan empat metode yakni metode dilusi, difusi, uji respon metabolik, dan uji enzimatik (17,18).

a. Uji Difusi

Uji difusi dilakukan pada medium padat, umumnya pada medium agar yang cocok untuk pertumbuhan mikroba uji. Komponen yang diujikan akan berdifusi di atas medium dalam pola radial dari suatu pencadangan atau kertas cakram. Komponen yang berdifusi dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji apabila memiliki sifat seperti antibiotik ataupun dapat memacu pertumbuhan mikroba uji jika komponen yang diuji merupakan faktor tumbuh suatu mikroorganisme. Diameter zona yang terbentuk menggambarkan kemampuan komponen yang diujikan, dan umumnya dibandingkan dengan bermacam konsentrasi standar atau komponen referensi yang telah diketahui.

Ada 5 macam uji difusi antara lain : (19)

1. Metode difusi silinder pipih. Metode ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh dengan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan pembanding terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini menggunakan plat silinder yang diletakkan pada media, kemudian larutan contoh dan pembanding dimasukkan ke dalamnya.
2. Metode difusi dengan mangkuk pipih. Cara perlakuan dari metode ini sama dengan metode silinder pipih, namun perbedaannya yaitu metode ini menggunakan lubang yang dibuat pada medium.
3. Metode difusi dengan kertas saring. Metode ini menggunakan kertas saring dengan bentuk dan ukuran tertentu, umumnya dengan garis

tengah 0,6 cm. Kertas saring tersebut akan ditetesi dengan larutan contoh dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat diameter zona hambatan yang terbentuk.

4. Metode difusi Kirby-Bauer. Metode ini menggunakan cawan yang berukuran 150 x 150 mm dan alat untuk meletakkan kertas saring. Keuntungan dari metode ini adalah dapat menguji berbagai larutan contoh secara bersamaan.
5. Metode difusi agar berlapis. Metode ini merupakan modifikasi dari metode difusi Kirby-Bauer. Perbedaannya yaitu metode ini menggunakan dua lapis agar, lapis pertama (*based layer*) berisi medium dan tanpa mengandung mikroba uji, sedangkan lapis kedua (*seed layer*) adalah medium yang mengandung mikroba uji.

b. Uji Turbidimetri (dilusi)

Pada uji ini digunakan medium cair yang cocok dengan mikroba uji dan efektifitas dari komponen uji diukur berdasarkan kemampuan komponen tersebut meningkatkan ataupun menurunkan nilai turbidimetri (kekeruhan) medium uji yang telah mengandung mikroba uji. Nilai kekeruhan ini berkaitan dengan pertumbuhan mikroba uji. Medium cair dibagi dalam beberapa seri tabung dan ditambahkan sejumlah komponen yang akan diujikan dengan konsentrasi tertentu. Kemudian pada masing-masing seri tabung diinokulasikan sejumlah mikroba uji dengan jumlah yang konstan lalu diinkubasikan dengan waktu dan temperatur tertentu. Pengamatan dapat dilakukan secara visual berdasarkan tingkat

kekeruhan ataupun dengan menggunakan spektrofotometer *visible* dengan panjang gelombang yang disesuaikan dengan warna medium untuk menghilangkan pengaruh warna medium pada pengukuran.

c. Uji respon metabolik

Prosedur uji respon metabolik sama dengan uji turbidimetri tetapi juga dilakukan pengukuran efek dari produk fermentasi terhadap mikroba uji yang diujikan berdasarkan total pertumbuhan mikroba uji. Pengukuran yang dilakukan adalah reaksi metabolisme mikroba uji selama pertumbuhannya. Beberapa reaksi metabolisme yang diukur pada pengujian ini antara lain adalah produksi asam, perubahan CO₂, absorpsi oksigen, dan aktifitas enzim dehidrogenase.

d. Uji enzimatik

Pengujian ini sangat spesifik, kuantitatif dan dapat dilakukan dalam waktu singkat untuk menentukan jumlah produk hasil fermentasi, juga dapat membedakan antara komponen yang aktif secara biologi dengan yang tidak aktif. Caranya adalah dengan menambahkan sejumlah enzim tertentu ke dalam medium kultur cair yang telah diinokulasikan mikroba uji dan komponen yang diujikan sehingga akan menyebabkan terjadinya beberapa perubahan pada hasil produk fermentasi.

II.7 Uraian Umum Antibiotika

Penemuan penisillin oleh Sir Alexander Fleming pada tahun 1929 merupakan faktor utama untuk dimulainya keaktifan riset yang menajubkan dan berhasil tentang bahan-bahan yang bersifat anti infeksi

yang umum dikenal sebagai antibiotika. Antibiotika menurut Waksman adalah bahan yang dihasilkan oleh mikroorganisme, yang mempunyai kemampuan menghambat atau mematikan mikroorganisme lain. (1)

II.7.1 Penggolongan Antibiotika

Antibiotika dapat digolongkan berdasarkan atas spektrum aktivitasnya yaitu :

1. Antibiotika dengan spektrum luas, efektif baik terhadap gram positif maupun gram negatif
2. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram positif
3. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram negatif
4. Antibiotika yang aktivitas dominan pada *Mycobacteriae*
5. Antibiotika yang aktif terhadap jamur
6. Antibiotika yang aktif terhadap neoplasma (anti kanker) (1)

II.7.2 Mekanisme Kerja Antibiotika

Berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotika dikelompokkan ke dalam :

1. Antibiotika yang mengganggu serta merusak metabolisme sel mikroba
2. Antibiotika yang menghambat sintesis dinding sel mikroba
3. Antibiotika yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba
4. Antibiotika yang menghambat sintesis protein sel mikroba
5. Antibiotika yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba (20)

II.8 Pengujian Aktivitas Antibiotika

II.8.1 Metode Pengenceran

Metode ini menggunakan teknik tabung pengenceran penghambatan pertumbuhan (berkurangnya pertumbuhan) yang dihasilkan oleh sampel yang diuji terhadap pertumbuhan mikroorganisme dapat diukur dengan alat fotokolorimeter. Prinsip kerjanya yaitu cahaya yang mengenai sel-sel mikroorganisme didalam sampel akan dihamburkan sedangkan cahaya yang diteruskan setelah melewati suspensi mikroorganisme akan mengaktifasi foto tabung yang akan mencatat persen transmittan (%T). Makin sedikit jenis sel didalam suspensi maka makin besar intensitas cahaya yang lolos dan semakin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

II.8.2 Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh media. Pada media ini kemampuan zat antibiotika ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara ini adalah :

1. Metode Difusi dengan Plat Silinder

Cara ini berdasarkan perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Pada

cara ini digunakan plate silinder yang diletakkan pada media kemudian larutan contoh dimasukkan kedalam plate silinder gtersebut.

2. Metode Difusi dengan Cup Plate

Prinsip cara ini sama dengan plat silinder perbedaannya disini digunakan mangkok yang dibuat langsung pada media agarnya.

3. Metode Difusi dengan Kertas Saring

Perbedaan metode ini dengan cara-cara diatas yaitu pada metode ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,0 cm yang nanti akan dicelupkan dalam larutan contoh dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan mengukur daerah hambatan yang terjadi.

4. Metode Difusi Kirby Bauer

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan metode difusi kertas saring. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring kedalam cawan petri yang berukuran 15x150 mm sehingga langsung diuji dengan berbagai variasi konsentrasi dalam larutan contoh.

5. Metode Agar Berlapis

Cara ini merupakan dari cara Kirby Bauer. Perbedaannya adalah pada cara ini menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama "Base Layer" tidak mengandung bakteri, sedangkan lapisan kedua "Up Layer" mengandung bakteri yang dicampurkan pada media agar. (21)

II.9 Uraian Mikroba Uji

II.9.1 *Staphylococcus aureus*

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1,0 μm , tidak mempunyai alat gerak dan tidak tahan asam. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 10-45⁰C dengan suhu optimum yaitu 37⁰C. Pada tubuh biasanya terdapat pada permukaan kulit, saluran pernafasan bagian atas, saluran kemih, mulut, hidung, luka yang terinfeksi, selaput lendir dan tempat-tempat lainnya.

II.9.2 *Escherichia coli*

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek dengan diameter 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , mempunyai flagella peritrik

yang digunakan sebagai alat untuk bergerak dan ada juga yang tidak bergerak. Bakteri ini bersifat anaerobik fakultatif dapat memfermentasi laktoda dan menghasilkan gas.

Bakteri ini biasa ditemukan dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan vertebrata. Dialam bebas biasa terdapat dalam air, tanah, dan bahan organik. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah suhu 37⁰C.

II.9.3 *Candida albicans*

Divisi	: Eumycophyta
Kelas	: Ascomycetes
Bangsa	: Saccharomycetales
Famili	: Cryptococcaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Species	: <i>Candida albicans</i>

Spesies candida dianggap Yeast karena tumbuh pada budaya tipikal pada ukuran 4-6 µm, berbentuk lingkaran atau oval dibawah kondisi dan suhu terbaik. Perhatian besar lebih banyak ditunjukkan kepada *Candida albicans* karena sering menyebabkan penyakit dibandingkan dengan spesies lainnya. Penyakit yang disebabkan oleh candida adalah kandidiasis. Kandidiasis ini paling sering dijumpai pada infeksi akut dan kronik dari kulit, kuku dan membran mukosa.

II.9.4 *Salmonella thyposa*

Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Species	: <i>Salmonella thyposa</i>

Salmonella thyposa merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, berukuran 2 sampai 4 μ x 0,6 μ , bergerak dengan flagel peritrik (kecuali *Salmonella gallinarum* dan *Salmonella pullorum*). Tidak bersimpai dan tidak berspora, tetapi memiliki fimbria. Bakteri bersifat aerob dan aerob fakultatif. Suhu optimum pertumbuhannya adalah 37⁰C dan PH optimumnya 6 – 8. Dapat meragikan glukosa, manitol, dan maltosa dengan disertai pembentukan asam dan gas, kecuali *Salmonella thyposa* yang hanya membuat asam tanpa pembentukan gas. Tidak membentuk indol, tetapi reaksi metil merah positif, dan sitrat mungkin positif. Tidak menghidrolisiskan urea dan membentuk H₂S. Dapat ditemukan pada usus manusia dan binatang. Kadang-kadang makanan seperti telur dan daging dapat tercemar oleh bakteri ini. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit tipus perut (thypus abdominalis), demam enterik, gastroenteritis dan septicemia. (22,23)