

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP  
PRODUKSI KANDIDAT ANTIBIOTIKA DARI ISOLAT  
BAKTERI SIMBION DARI GANGGANG HIJAU  
*Caulerpa racemosa***

**NUR AFNI  
N111 09 278**



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

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI  
KANDIDAT ANTIBIOTIKA DARI ISOLAT BAKTERI SIMBION DARI  
GANGGANG HIJAU *Caulerpa racemosa***

**SKRIPSI**

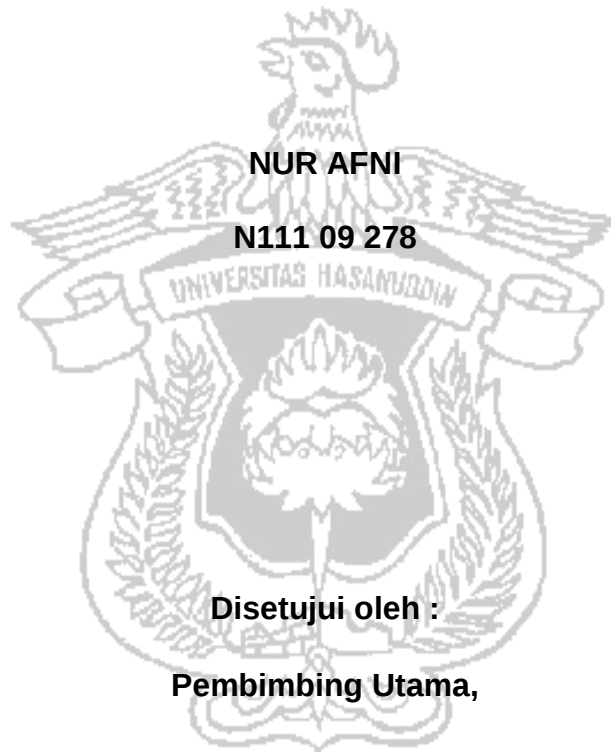
**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**NUR AFNI  
N111 09 278**

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

**PERSETUJUAN**

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI KANDIDAT  
ANTIBIOTIKA DARI ISOLAT BAKTERI SIMBION DARI GANGGANG HIJAU  
*Caulerpa racemosa***



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

**Pembimbing Pertama,**

**Pembimbing Kedua,**

Dr. Mufidah, M.Si., Apt.  
NIP. 19730309 199903 2 002

Dr.rer-nat.Elmi Nurhaidah Zainuddin, DES.  
NIP. 19610618 198803 2 001

**Pada tanggal,      Juli 2013**

## **PENGESAHAN**

### **PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI KANDIDAT ANTIBIOTIKA DARI ISOLAT BAKTERI SIMBION DARI GANGGANG HIJAU *Caulerpa racemosa***

Oleh :  
**NUR AFNI**  
**N111 09 278**

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

Panitia Penguji Skripsi :

1. Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, MS., Apt. ( Ketua ) : .....
2. Drs. H. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. ( Sekretaris ) : .....
3. Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt. ( Ex officio ) : .....
4. Dr. Mufidah, M.Si., Apt. ( Ex officio ) : .....
5. Dr.rer.nat.Elmi Nurhaidah Zainuddin, DES.( Ex officio): .....
6. Dra. Hj. Naimah Ramli, 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, Juli 2013

Penyusun

Nur Afni

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayahnya sehingga penulis telah menyelesaikan tugas akhir ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari banyaknya rintangan dan hambatan yang dihadapi dalam penyusunan skripsi ini, namun dengan doa dan dukungan dari berbagai pihak, *Alhamdulillah* skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ayahanda tercinta Abdul Rasyid (Alm.) dan Ibunda tercinta Hj. Nurung yang telah banyak memberikan pengorbanan baik moril maupun materil yang tidak akan mampu penulis balas sampai akhir hayat, di dalam doa yang senantiasa dipanjatkan sebagai pemacu penulis dalam menghadapi berbagai kendala selama menjalani dunia perkuliahan. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada kakak dan adik tercinta Yuliana, Yuliani, Yulianti, Arianto dan Nurul Rezky Amalia yang selalu memberikan curahan kasih sayang yang sebesar-besarnya dan semangat yang tak henti-hentinya.

Tiada kata yang dapat penulis ucapkan selain terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama, Ibu Dr. Mufidah, M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama dan Ibu Dr. rer.nat. Elmi Nurhaidah Zainuddin, DES. selaku

pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu selama ini untuk memberikan bimbingan, saran dan motivasi serta menyumbangkan ide-ide kepada penulis dalam melakukan penelitian hingga skripsi ini terselesaikan.

Pada kesempatan ini pula penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ijin penelitian.
2. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan dan masukan yang bermakna bagi penulis.
3. Bapak Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, M.S., Apt., Bapak Drs. H. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. dan Ibu Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt. selaku dosen penguji penulis atas saran dan masukan yang diberikan.
4. Seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala ilmu serta bantuannya selama penulis menjalani pendidikan.
5. Kak Haslia S.Si. selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi, kak Ismail S.Si., Apt. dan kak Desi selaku Laboran Pusat Penelitian Biofarmaka serta kak Dewi, kak Arti dan bu Adri yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.
6. Saudara-saudara seangkatan Ginkgo 2009 yang senantiasa memberi dorongan dan doa hingga selesainya penelitian ini.

7. Sahabat-sahabat tercinta Whyllies Agung Ajie Buana, Nurfitriyanti, Annisyiah Wira Mahkota, Andi Padariani Ussu dan Amira Lestari terima kasih atas dukungan dan kebersamaannya selama ini.
8. Rekan-rekan seperjuangan dalam penelitian PKMP 2012 kak Suryadi, S.Si., Apt. dan Ayu Permata Sari serta Dewi Purwaningsih rekan seperjuangan dalam pengurusan skripsi ini.
9. Kak Andi Dian Permana, S.Si., Apt. dan kak Sherwin Armanda, S.Si., Apt. yang senantiasa memberi masukan dan saran selama ini.
10. Rekan-rekan korps asisten Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Farmaseutika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
11. Semua pihak yang tidak sempat disebutkan namanya satu per satu, semoga Allah SWT membalas kebaikan kalian semua dengan pahala berlimpah.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, maka dari itu saran dan kritik membangun sangat penulis harapkan guna tambahan wawasan agar dalam pengerjaan penelitian selanjutnya dapat lebih baik.

Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi. Amin.

Makassar, Juli 2013

Nur Afni

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh waktu fermentasi terhadap produksi kandidat antibiotika dari isolat bakteri simbion dari ganggang hijau *Caulerpa racemosa*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan waktu fermentasi yang optimum dari isolat BSCr-5 dalam menghasilkan kandidat senyawa antibiotika. Kurva pertumbuhan Isolat BSCr-5 ditentukan melalui perhitungan jumlah sel bakteri dengan metode ALT (Angka Lempeng Total). Isolat BSCr-5 difermentasi pada medium produksi dengan variasi waktu fermentasi selama 2x24 jam hingga 9x24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antimikroba supernatan isolat BSCr-5 diuji dengan metode difusi agar pada medium MHA (*Muller Hinton Agar*). Hasil penelitian memperlihatkan periode fase pertumbuhan bakteri berbeda antara fase pertumbuhan dipercepat (6-12 jam), fase pertumbuhan logaritma (12-48 jam), fase pertumbuhan diperlambat (48-72 jam), fase pertumbuhan stasioner (72-120 jam), fase kematian diperlambat (120-144 jam), fase kematian logaritma (144-168 jam) dan fase kematian tetap (168-192 jam). Waktu fermentasi optimum dan aktivitas antimikroba dari isolat BSCr-5 berbeda terhadap masing-masing bakteri uji yaitu *Salmonella thyposa* (120 jam; 16,15 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (120 jam; 16,83 mm), *Escherichia coli* (216 jam; 15,40 mm), *Bacillus subtilis* (216 jam; 16,87 mm) dan *Staphylococcus aureus* (216 jam; 17,25 mm).

## ABSTRACT

Study about the effect of fermentation period on production of antibiotic compounds of bacterial symbiont from green algae *Caulerpa racemosa* has been done. The aim of the study was to obtain the optimum fermentation period of isolate BSCr-5 in producing antibiotic candidate compounds. Growth curve of isolate BSCr-5 was determined by calculating the total of bacterial cells with SPC (Standard Plate Count) method. Isolate BSCr-5 was fermented at different fermentation period range from 2 to 9x24 h at 37°C. Antimicrobial activity of supernatant of isolate BSCr-5 was measured by agar diffusion method on MHA (Muller Hinton Agar) medium. The results showed that period of bacterial growth phase are different between accelerated (6-12 h), logarithmic (12-48 h), declined (48-72 h), stationary (72-120 h), declined death phase (120-144 h), logarithmic death phase (144-168 h) and constant death phase (168-192 h). The optimum fermentation period and antimicrobial activity of isolate BSCr-5 were different depend on each microorganisms test: *Salmonella thyposa* (120 h; 16.15 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (120 h; 16.83 mm), *Escherichia coli* (216 h; 15.40 mm), *Bacillus subtilis* (216 h; 16.87 mm) and *Staphylococcus aureus* (216 h; 17.25 mm).

## DAFTAR ISI

|                                                                             | Halaman |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------|
| ABSTRAK .....                                                               | vi      |
| ABSTRACT .....                                                              | vii     |
| UCAPAN TERIMA KASIH .....                                                   | viii    |
| DAFTAR ISI .....                                                            | xi      |
| DAFTAR TABEL .....                                                          | xiv     |
| DAFTAR GAMBAR .....                                                         | xv      |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                                       | xvi     |
| BAB I PENDAHULUAN .....                                                     | 1       |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....                                               | 5       |
| II.1 Aspek Biologis Ganggang Laut .....                                     | 5       |
| II.2 Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologi Ganggang Hijau<br>Caulerpa ..... | 7       |
| II.3 Senyawa Antimikroba .....                                              | 8       |
| II.4 Ganggang Laut sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba .....              | 11      |
| II.5 Simbiosis Bakteri dengan Organisme Laut .....                          | 12      |
| II.6 Isolasi Mikroorganisme .....                                           | 14      |
| II.7 Fermentasi Mikroorganisme .....                                        | 17      |
| II.8 Pengukuran Pertumbuhan Mikroba .....                                   | 18      |
| II.9 Lama Fermentasi .....                                                  | 21      |
| II.10 Uji Aktivitas Antimikroba .....                                       | 22      |
| II.11 Mikroba Uji .....                                                     | 24      |

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| II.11.1 <i>Eschericia coli</i> .....                                            | 24 |
| II.11.2 <i>Salmonella thyposa</i> .....                                         | 25 |
| II.11.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                                     | 26 |
| II.11.4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                      | 26 |
| II.11.5 <i>Bacillus subtilis</i> .....                                          | 27 |
| BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....                                            | 29 |
| III.1 Alat dan Bahan .....                                                      | 29 |
| III.2 Metode Kerja.....                                                         | 29 |
| III.2.1 Penyiapan Alat.....                                                     | 29 |
| III.2.2 Penyiapan Medium .....                                                  | 30 |
| III.2.2.1 Medium MA ( <i>Marine Agar</i> ) .....                                | 30 |
| III.2.2.2 Medium NA ( <i>Nutrient Agar</i> ).....                               | 30 |
| III.2.2.3 Medium MYB ( <i>Maltose Yeast Extract Broth</i> ).....                | 30 |
| III.2.2.4 Medium Produksi .....                                                 | 31 |
| III.2.2.5 Medium MHA ( <i>Muller Hinton Agar</i> ) .....                        | 31 |
| III.2.3 Penentuan Kurva Pertumbuhan dengan Metode ALT.....                      | 31 |
| III.2.4 Produksi Senyawa Isolat BSCr-5 dengan Variasi Waktu<br>Fermentasi ..... | 32 |
| III.2.5 Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fermentasi .....                        | 33 |
| III.2.5.1 Pembuatan Larutan Kontrol Positif.....                                | 33 |
| III.2.5.2 Peremajaan dan Pendispersian Biakan Murni Bakteri Uji .....           | 34 |
| III.2.5.3 Penentuan Daya Hambat dengan Metode Difusi Agar.....                  | 34 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....                                               | 36 |

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| IV.1 Pengukuran Pertumbuhan Isolat Bakteri Simbion .....           | 36 |
| IV.2 Fermentasi Bakteri Simbion.....                               | 38 |
| IV.3 Aktivitas Antimikroba Metabolit Bakteri Simbion (BSCr-5)..... | 39 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....                                   | 48 |
| V.1 Kesimpulan.....                                                | 48 |
| V.2 Saran.....                                                     | 48 |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                               | 50 |
| Lampiran .....                                                     | 55 |

## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                                                                                                             | Halaman |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Hasil pengukuran diameter hambatan hasil fermentasi isolat BSCr-5 dengan variasi waktu fermentasi terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji..... | 44      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                                                            | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Ganggang hijau <i>Caulerpa racemosa</i> .....                                                                  | 7       |
| 2. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme .....                                                                         | 19      |
| 3. Kurva pertumbuhan isolat bakteri simbion ganggang hijau <i>Caulerpa racemosa</i> (BSCr-5) .....                | 37      |
| 4. Hasil uji daya hambat hasil fermentasi isolat BSCr-5 terhadap <i>Salmonella thyposa</i> .....                  | 40      |
| 5. Hasil uji daya hambat hasil fermentasi isolat BSCr-5 terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....              | 41      |
| 6. Hasil uji daya hambat hasil fermentasi isolat BSCr-5 terhadap <i>Escherichia coli</i> .....                    | 42      |
| 7. Hasil uji daya hambat hasil fermentasi isolat BSCr-5 terhadap <i>Bacillus subtilis</i> .....                   | 42      |
| 8. Hasil uji daya hambat hasil fermentasi isolat BSCr-5 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....               | 43      |
| 9. Hubungan diameter hambatan hasil fermentasi isolat BSCr-5 dengan waktu fermentasi terhadap 5 bakteri uji ..... | 44      |
| 10. Koloni yang tumbuh pada metode perhitungan ALT .....                                                          | 56      |
| 11. Fermentasi awal isolat BSCr-5 dengan medium MYB .....                                                         | 56      |
| 12. Fermentasi lanjutan isolat BSCr-5 dengan medium produksi .....                                                | 57      |
| 13. a) Proses sonikasi hasil fermentasi isolat; (b) Proses sentrifugasi hasil fermentasi isolat.....              | 57      |
| 14. Hasil fermentasi isolat BSCr-5 sebelum disentrifugasi .....                                                   | 58      |
| 15. Hasil fermentasi isolat BSCr-5 setelah disentrifugasi .....                                                   | 58      |
| 16. Liofilisat supernatan hasil fermentasi isolat BSCr-5 tiap lama fermentasi .....                               | 59      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                                                                      | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Skema Kerja .....                                                          | 55      |
| 2. Gambar Hasil Penelitian .....                                              | 57      |
| 3. Hasil pengukuran pertumbuhan isolat dengan metode Angka Lempeng Total..... | 61      |
| 4. Data Pengukuran Diameter Zona Hambat .....                                 | 62      |

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang. Penyakit ini masih merupakan penyakit utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Antimikroba adalah obat yang paling banyak diresepkan untuk pengobatan infeksi. Penggunaan antimikroba secara tidak rasional dapat menimbulkan efek samping dan resistensi. Masalah antibiotika dan resistensinya menjadi perhatian seluruh dunia. Hingga akhirnya pada tahun 2011, WHO menetapkan tema *Antimicrobial Resistance and its Global Spread* untuk memperingati Hari Kesehatan Sedunia (1,2,3).

Pemanfaatan bahan alam dalam upaya penemuan antimikroba yang baru dan lebih efektif melawan infeksi baik yang disebabkan oleh bakteri ataupun jamur perlu dikembangkan. Salah satu yang potensial sebagai penghasil antimikroba adalah metabolit sekunder yang dihasilkan dari organisme laut. Lingkungan laut merupakan sumber yang kaya akan produk alam yang aktif secara biologis dengan jenis struktur yang beragam (4).

Salah satu biota laut yang kaya akan metabolit sekunder adalah ganggang laut atau makro alga. Ganggang laut memproduksi berbagai senyawa yang terdiri dari metabolit primer yang bersifat esensial bagi proses metabolisme sel dan metabolit sekunder berupa senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan

dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Menurut Del Val, metabolit sekunder berperan sebagai alat pertahanan inang terhadap patogen, parasit, predator. Senyawa dengan aktivitas sitostatik, antiviral, antielmintik, antifungi dan antibakteri telah dideteksi pada alga hijau, coklat dan merah (5,6).

Osman *dkk.* (2010) mengemukakan bahwa ganggang hijau (Chlorophyta) merupakan spesies yang memiliki aktivitas antimikroba yang lebih aktif dibandingkan dengan ganggang coklat (Phaeophyta) dan ganggang merah (Rhodophyta). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Izzati (2007) menunjukkan *Caulerpa racemosa* memiliki aktivitas antibakteri terhadap tiga jenis bakteri patogen yaitu *Pseudomonas pavanaceae*, *Pseudomonas syntata*, dan *Pseudomonas tetrolens*, sedangkan berdasarkan hasil penelitian Djide *dkk.* (2012) menunjukkan bahwa ekstrak methanol dan ekstrak n-heksana *Caulerpa racemosa* konsentrasi 10% (2 mg / kertas cakram) memiliki aktivitas daya hambat terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dan berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan ditemukan golongan senyawa berupa triterpenoid dan steroid (6,7,8).

Suryadi *dkk.* (2012) telah melakukan penelitian mengenai potensi bakteri simbiosis dari beberapa ganggang hijau sebagai penghasil senyawa antimikroba yang menunjukkan bahwa isolat BSCr-5 yang merupakan

isolat bakteri simbion dari ganggang hijau spesies *Caulerpa racemosa* memberikan aktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypii* dan fungi *Candida albicans* (9).

Proses fermentasi kehidupan mikroorganisme berperan sangat besar terhadap produksi antibiotika. Siklus pertumbuhan mikroorganisme meliputi fase lag, fase logaritmik, fase stasioner dan fase kematian. Anah *dkk.* (1991) mengemukakan bahwa antibiotik merupakan metabolit sekunder dan dihasilkan pada akhir fase logaritmik sebelum fase stasioner; sedangkan menurut Jack *dkk.* (1995) , antibiotik diproduksi pada saat fase stasioner (10, 11).

Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam optimasi produksi antibiotika yaitu waktu atau lama fermentasi, konsentrasi sumber karbon yang tersedia dalam medium fermentasi serta pH medium fermentasi. Berdasarkan hasil penelitian Enshasy *dkk.* (2007) bahwa aktivitas antibakteri dihasilkan pada fase *decay* yaitu fase pada saat substrat mulai habis, penelitian pada antibiotik rifamycin yang dihasilkan oleh *Amycolaptosis mediterranei*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Todorov dan Dicks (2007) menyebutkan bahwa aktivitas antibakteri berupa *bacteriocin* yang dihasilkan oleh *Lactobacillus pentosus* ST712BZ optimum setelah lama fermentasi 24 jam pada suhu 30°C dengan media pertumbuhan yang ditambahkan 20-40 gram/L glukosa (12,13).

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat bagaimana pengaruh waktu atau lama fermentasi isolat

bakteri simbion ganggang hijau *Caulerpa racemosa* dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan waktu fermentasi yang optimum dari isolat terpilih dalam menghasilkan kandidat senyawa antibiotika.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Aspek Biologis Ganggang Laut

Alga atau ganggang laut adalah bagian terbesar dari tumbuhan laut yang secara morfologi dapat dikelompokkan ke dalam tumbuhan tidak berpembuluh (Tallophyta) karena tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun. Keseluruhan dari tanaman ini merupakan batang yang dikenal dengan sebutan thallus. Bentuk thallus alga ada bermacam-macam, ada yang bulat seperti tabung, pipih, gepeng bulat seperti kantong, rambut dan sebagainya. Thallus ini ada yang tersusun oleh hanya satu sel (*unicellular*) dan ada yang terdiri dari banyak sel (*multicellular*). Terdapat beberapa jenis percabangan pada thallus yaitu ada yang thallus dichotomus (dua-dua terus menerus), *pinate* (dua-dua berlawanan sepanjang thallus utama), *pectinate* (berderet searah pada satu sisi thallus utama) dan ada juga sederhana yang tidak bercabang. Sifat substansi thallus beraneka ragam yaitu ada yang lunak seperti gelatin (*gelatinous*), keras diliputi atau mengandung zat kapur (*calcareous*), lunak bagaikan tulang rawan (*cartilagenous*), berserabut (*spongy*) dan sebagainya (14,15).

Penamaan divisi dan kelas dari alga atau ganggang diklasifikasikan berdasarkan warna organisme atau pigmentasinya menjadi empat kelas yaitu cyanophyta atau alga biru-hijau, rhodophyta atau alga merah, phaeophyta atau alga coklat dan chlorophyta atau alga hijau. Organisme

ini mengandung klorofil serta pigmen lain untuk melangsungkan fotosintesis, tersebar luas di alam, dan dijumpai hampir di segala lingkungan yang terkena sinar matahari (15,16).

#### Klasifikasi Ganggang Hijau *Caulerpa racemosa* (17)

Kingdom : Plantae  
 Phylum : Chlorophyta  
 Classis : Ulvophyceae  
 Ordo : Bryopsidales  
 Family : Caulerpaceae  
 Genus : *Caulerpa*  
 Species : *Caulerpa racemosa*

Ciri secara umum dari *Caulerpa* adalah keseluruhan tubuhnya terdiri dari satu sel dengan bagian bawah yang menjalar menyerupai stolon yang mempunyai rhizoid sebagai alat pelekak pada substrat serta bagian yang tegak. Bagian yang tegak disebut asimilator karena mempunyai klorofil. Stolon dan rhizoid bentuknya hampir sama dari jenis ke jenis. Sedangkan asimilator mempunyai bentuk bermacam-macam tergantung jenisnya. *Caulerpa racemosa* memiliki asimilator dengan bentuk silindris dengan bulatan-bulatan ujung merata dan bertangkai panjang. Berdasarkan habitatnya *Caulerpa racemosa* merupakan spesies yang menempel pada batu karang, tumbuh pada bagian tengah sampai bagian bawah zona eutorial dengan substrat lumpur atau pasir tetapi juga tumbuh soliter pada batuan mati. Distribusi vertikal *Caulerpa* sangat luas

seperti misalnya *Caulerpa racemosa* ditemukan pada 20-30 m kedalamannya (18).



Gambar 1. Ganggang hijau *Caulerpa racemosa*

## II.2 Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologi Ganggang Hijau *Caulerpa*

*Caulerpa* merupakan salah satu jenis ganggang hijau yang belum banyak dimanfaatkan dan termasuk dalam *Feather Seaweed*. *Feather Seaweed* dilaporkan sebagai makroalga yang dapat dimakan, mempunyai zat bioaktif seperti anti bakteri, anti jamur, anti tumor dan bisa digunakan untuk terapi tekanan darah tinggi dan gondok (19).

Menurut Anam dan Collins dalam Saptasari (2010) menyatakan kandungan kimia *Caulerpa sertularioides* telah diteliti memiliki lima senyawa dan telah diisolasi dari ekstrak n-heksana yaitu Caulerpin, O-sitosterol asam palmitat dan dua senyawa lain yang diduga sebagai steroid dan hidrokarbon. Ekstrak dari etil asetat mengandung caulerpin dan siklotetra dekana, serta dari ekstrak metanol diisolasi caulerpin dan suatu senyawa yang diduga hidrokarbon tidak jenuh. Zat caulerpicin dan

caulerpin dapat diisolasi dari *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa sertulariodes*, dan *Caulerpa lentifera*. Kandungan ini dapat diketahui apabila tallus terluka menunjukkan warna jingga dan kemudian akan timbul tonjolan sehingga menyebabkan degenerasi disekitar luka tersebut (18).

Secara kimia ganggang laut atau alga terdiri dari air, karbohidrat, lemak dan abu. Selain karbohidrat, protein, lemak dan serat, ganggang laut juga mengandung enzim, asam nukleat, asam amino, vitamin (A,B,C,D,E, dan K) dan makro mineral seperti nitrogen, oksigen, kalsium dan selenium serta mikro mineral seperti zat besi, magnesium dan natrium (20, 21).

### **II.3 Senyawa Antimikroba**

Antimiroba adalah substansi yang menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri ataupun mikroorganisme lain (organisme mikroskopik termasuk bakteri, jamur, virus, protozoa dan ricketsia), sedangkan secara teknik istilah antibiotik mengacu pada zat kimia yang dihasilkan oleh satu macam mikroorganisme yang menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang lain (22).

Suatu antimikroba harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat sangat toksis terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksis terhadap jasad inang. Berdasarkan sifat toksisitas tersebut, antimikroba dapat bersifat : (23)

1. Bakteriostatika, yaitu zat atau bahan yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam keadaan seperti ini

jumlah mikroorganisme menjadi stasioner, tidak dapat lagi multiplikasi dan berkembang biak. Sebagai contoh adalah sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin dan novobiosin serta paraaminosalisilat.

2. Bakteriosida, yaitu zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini jumlah mikroorganisme akan berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi berkembang biak. Yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, neomisin.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (24).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok, yaitu : (23, 24)

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba bekerja memblokir tahap metabolik spesifik mikroba, seperti sulfonamid, trimetoprim, PAS dan sulfon.

## 2. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida. Antimikroba golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam pembentukan dinding sel mikroorganisme. Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini adalah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin dan sikloserin.

## 3. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba secara langsung bekerja pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler yang berupa komponen penting dari dalam sel mikroorganisme yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, kolistin, amfoterisin B dan nistatin.

## 4. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Dalam kelangsungan hidupnya mikroba perlu mensintesis berbagai protein, dimana sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Antimikroba mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesa protein terhambat. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Antimikroba yang berinteraksi dengan ribosom 30S antara lain adalah aminoglikosida dan

tetrasiklin, sedangkan yang berinteraksi dengan ribosom 50S antara lain adalah kloramfenikol, linkomisin, klindamisin dan eritromisin.

#### 5. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Dalam hal ini antimikroba mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Antimikroba kelompok ini bekerja dengan cara berikatan dengan enzim polymerase-RNA (pada sub-unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Sebagai contoh, rifampisin mengikat dan menghambat DNA-dependent RNA-polimerase yang ada pada bakteri, kuinolon menghambat DNA girase dan metronidazol menghambat sintesis DNA.

### II.4 Ganggang Laut Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba

Telah dilakukan penelitian oleh Andi Reskika mengenai ganggang hijau *Enteromorpha linza* yang ditemukan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Vibrio alginoliticus* ganggang coklat *Dictyopteris acrostichoides* ditemukan memiliki aktivitas terhadap *Vibrio alginoliticus* dan *Vibrio harveyi*. Demikian pula dengan penelitian yang dilakukan oleh Vallinayagam *dkk.* yang menemukan aktivitas dari ganggang *Gracilaria edulis* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Taksin *dkk.* juga menemukan bahwa ganggang merah *Coralina officinalis* memiliki aktivitas terhadap *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenens* dan *Escherichia coli*, sedangkan ganggang hijau *Ulva rigida* memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* (25, 26, 27).

## II.5 Simbiosis Bakteri Dengan Organisme Laut

Simbiosis adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan setiap hubungan permanen atau jangka panjang antara dua atau lebih spesies yang berbeda dari organisme. Hubungan antara tanaman inang dengan anggota yang lebih kecil dikenal sebagai simbion atau *symbiote*. Tanaman inang biasanya menyediakan makanan dan tempat tinggal bagi simbion, sementara manfaat bagi tuan rumah bervariasi di setiap jenis hubungan. Hubungan ini dapat diklasifikasikan oleh jenis asosiasi, tingkat keintiman, dan tingkat ketergantungan (28).

Klasifikasi dari hubungan simbiotik, antara lain : (28, 29)

### 1. Type asosiasi

- (a) Mutualisme adalah simbiosis yang saling menguntungkan antara tanaman inang dan simbiosisnya.
- (b) Komensalisme adalah salah satu dari pasangan simbion yang mendapatkan keuntungan, sedangkan yang lainnya tidak mendapatkan keuntungan maupun kerugian.
- (c) Parasitisme adalah simbiosis yang merugikan tanaman inang.

### 2. Tingkat keintiman

- (a) Episimbion / Ectosimbion adalah simbion yang hidup pada permukaan sel inang.
- (b) Endosimbion / Simbion intraselular adalah simbion yang hidup di dalam sel inangnya.

### 3. Ketergantungan terhadap simbiosis

- (a) Simbion fakultatif adalah simbion yang dapat hidup pada kondisi hidup yang bebas.
- (b) Simbion obligat adalah simbion yang tidak dapat hidup tanpa bantuan dari tanaman inangnya.

Hentschel dan Wilkinson dalam Mahdiyah (2012) mengemukakan bahwa spons merupakan salah satu organisme yang dapat berasosiasi dengan sejumlah besar mikroorganisme berbeda meliputi cyanobacteria, bakteri heterotrofik, alga uniseluler dan zoo-chlorella. Senyawa bioaktif laut atau produk alami laut (*Marine Natural Products* (MNPs)) adalah senyawa organik yang diproduksi oleh mikroba, spons, rumput laut, dan organisme laut lain. Organisme inang mensintesis senyawa ini sebagai metabolit sekunder untuk melindungi dirinya dan menjaga keseimbangan lingkungan. Spons laut memiliki sumber yang kaya akan mikroorganisme baru dengan potensi aktivitas farmakologi. Interaksi antara spons dan bakteri terjadi dalam bentuk simbiosis komensalisme di mana dalam interaksi ini dihasilkan senyawa bioaktif (30,31).

Telah dilakukan penelitian oleh Zheng *dkk.* (2005) bahwa beberapa bakteri berasosiasi dengan spons yang menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas antimikroba adalah bakteri yang berasosiasi dengan spons *Himeniacidon parleve*, yaitu NJ6-3-1 yang menghasilkan senyawa beta karbolin alkaloid yang bersifat antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* (32).

## II.6 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 sehingga untuk memperoleh mikroorganisme yang akan digunakan sebagai alat dalam penelitian-penelitian dibutuhkan isolasi mikroorganisme pada tempat di alam yang diperkirakan menjadi habitat dari mikroorganisme tersebut dan mempunyai peranan yang cukup penting pada lingkungan tersebut. Dalam beberapa hal identifikasi terhadap bakteri dapat dibuat dari pengamatan preparat yang diwarnai dan dapat ditentukan ukuran, bentuk dan kelompok atau grup organismenya (apakah termasuk basilus, kokus, Gram-positif atau Gram-negatif) (23).

Secara alami, bakteri di alam ditemukan dalam populasi campuran. Hanya dalam keadaan tertentu saja populasi ini ditemukan dalam keadaan murni. Berikut adalah metode-metode isolasi mikroorganisme dalam suatu bahan campuran : (23, 33)

### 1. Metode Goresan

Inokulum digoreskan dipermukaan medium agar nutrisi (NA) dalam cawan petri dengan menggunakan jarum ose. Teknik ini lebih menguntungkan bila ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tetapi memerlukan keterampilan yang diperoleh dengan latihan. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah.

## 2. Metode Agar Sebar

Setetes inokulum diletakkan ditengah-tengah medium agar nutrisi (NA) dan dengan menggunakan batang kaca bengkok (*hockey stick*) inokulum tersebut disebar di permukaan medium. *Hockey stick* yang sama dapat digunakan untuk menjamin penyebaran sel-selnya dengan baik. Pada beberapa cawan petri akan tumbuh koloni-koloni yang terpisah-pisah. Pada teknik ini sterilisasi batang penyebar dilakukan dengan mencelupkan ke dalam alkohol dan kemudian dipanaskan sehingga alkohol terbakar habis. Penyebar didinginkan dahulu sebelum digunakan untuk menyebarkan inokulum pada permukaan agar. Penyebaran inokulum dilakukan dengan memutar agar lempengan.

## 3. Metode Agar Tuang

Isolasi menggunakan media cair dengan cara pengenceran. Dasar melakukan pengenceran adalah penurunan jumlah mikroorganisme sehingga pada suatu saat hanya ditemukan satu sel di dalam tabung. Pada cara agar tuang, dilakukan pengenceran satu mata ose suspensi bakteri ke dalam tiga tabung agar tuang sehingga akan diperoleh lempengan dengan jumlah bakteri yang optimum untuk isolasi. Teknik ini lebih mudah karena untuk mendapatkan koloni yang terpisah tidak diperlukan keterampilan seperti pada teknik penggoresan.

Biakan murni merupakan biakan yang hanya mengandung satu macam bakteri saja. Dalam teknik biakan murni tidak saja diperlukan bagaimana memperoleh suatu biakan murni, tetapi juga bagaimana

memelihara serta mencegah pencemaran dari luar. Media untuk membiakkan bakteri haruslah steril sebelum digunakan. Pencemaran dari luar terutama berasal dari udara yang mengandung banyak mikroorganisme (33).

Untuk mendapatkan isolat murni mikroba dari suatu bahan yang mengandung campuran mikroba dapat dilakukan dengan beberapa cara tergantung dari mikroorganismenya antara lain : (34)

#### 1. Isolasi pada agar cawan

Kebanyakan bakteri, kapang dan khamir dapat membentuk koloni pada medium padat, sehingga mudah diisolasi dengan cara menyebarkan sel-sel tersebut pada agar cawan sedemikian rupa sehingga tumbuh koloni-koloni yang terpisah. Konsentrasi agar yang digunakan 1-2%, tetapi terkadang digunakan agar yang lebih lunak untuk mengisolasi beberapa mikroba tertentu. Prosedur isolasinya dapat menggunakan metode gores yaitu dengan menggoreskan sampel di permukaan medium agar ataupun dengan metode tuang yaitu dengan cara mengencerkan kultur yang kemudian dituang ke dalam cawan dan kemudian menambahkan medium agar.

#### 2. Isolasi dalam medium cair

Beberapa bakteri terutama yang ukuran selnya besar dan kebanyakan protozoa dan ganggang tidak dapat tumbuh pada agar cawan, tetapi hanya dapat tumbuh pada kultur cair. Cara yang termudah untuk mengisolasi mikroba dalam medium cair adalah dengan metode

pengenceran. Dalam metode ini, inokulum diencerkan di dalam medium steril, dan sejumlah tabung yang berisi medium diinokulasikan dengan suspensi inokulum dari masing-masing pengenceran.

### 3. Isolasi sel tunggal

Untuk mengisolasi sel mikroba yang ukurannya besar dan tidak dapat diisolasi dengan metode agar cawan dan pengenceran, ada suatu cara isolasi yang disebut isolasi dengan sel tunggal. Sel mikroba yang dapat dilihat dengan perbesaran 100 kali atau kurang, setiap selnya dapat dipisahkan dan diambil dengan menggunakan pipet kapiler yang sangat halus, kemudian dicuci beberapa kali di dalam medium steril yang jumlahnya relatif besar untuk menghilangkan mikroba kontaminan yang ukurannya lebih kecil.

## **II.7 Fermentasi Mikroorganisme**

Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau partial anaerobik karbohidrat yang menghasilkan alkohol serta beberapa asam, namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak. Fermentasi adalah proses yang dilakukan oleh mikroorganisme baik melalui proses aerobik ataupun anaerobik dimana terjadi perubahan kimia spesifik dari suatu substrat organik dan menghasilkan produk yang bernilai ekonomis (35,36).

Hasil fermentasi diperoleh sebagai akibat metabolisme mikroba pada suatu bahan pangan dalam keadaan anaerob. Mikroba yang melakukan fermentasi membutuhkan energi yang umumnya diperoleh dari

glukosa. Dalam keadaan aerob, mikroba mengubah glukosa menjadi air, CO<sub>2</sub> dan energi (ATP). Beberapa mikroba hanya dapat melangsungkan metabolisme dalam keadaan anaerob dan hasilnya adalah substrat yang setengah terurai (35).

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 fungi mengandung sumber karbon (umumnya glukosa), sumber nitrogen (umumnya amonia 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 medium seperti air rendaman jagung, ekstrak khamir, jus buah-buahan dan protein terhidrolisa (35, 37).

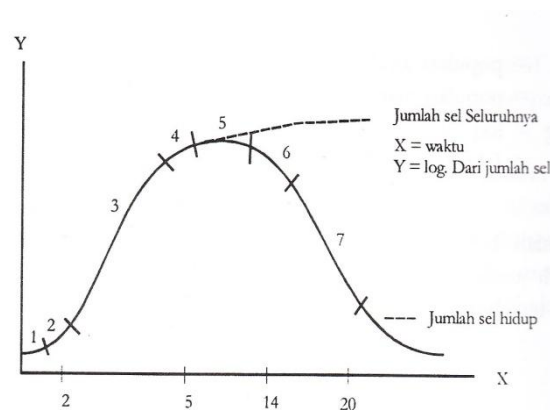
## **II.8 Pengukuran Pertumbuhan Mikroba**

Pertumbuhan secara umum dapat didefinisikan sebagai pertambahan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup. Perbanyakan sel adalah konsekuensi pertumbuhan. Pada organisme uniseluler seperti bakteri, pertumbuhan adalah pertambahan jumlah sel yang juga berarti pertambahan jumlah organisme yang membentuk populasi atau suatu biakan (16).

Pada pengukuran pertumbuhan atau perbanyakan dapat dilakukan dengan pengukuran pertambahan berat (berat kering) atau perhitungan

jumlah mikroorganismenya. Pada perhitungan jumlah mikroorganisme dapat dibedakan antara perhitungan jumlah sel yang mati dan yang hidup atau jumlah total (*total count*) dan jumlah sel mikroorganisme yang hidup (*viable count*). Jumlah total bakteri dapat ditentukan dengan beberapa cara seperti perhitungan dengan menggunakan *Petroff Hauser Bacteria Counter* atau dengan cara-cara lainnya, sedangkan jumlah bakteri yang viable dapat ditentukan dengan cara taburan (plating) atau dengan cara filter membran atau dengan cara-cara lainnya (23).

Suatu piaraan mikroorganisme, misalnya bakteri yang sudah cukup tua kemudian diambil sedikit untuk ditanam pada medium cair yang cocok. Dalam waktu yang sama bila kita ambil 1 kolong kawat inokulasi kemudian disebar pada agar lempengan dalam cawan petri. Jumlah koloni yang kemudian tumbuh di cawan dapat kita hitung. Biasanya jumlahnya menjadi sangat besar, maka kita mabil logaritmanya saja. Bila logaritma jumlah bakteri ditulis dalam ordinat, waktu dituliskan dalam basis maka diperoleh kurva seperti di bawah ini : (16).



Gambar 2. Kurva pertumbuhan mikroorganisme (Waluyo L, 2004)

Pada kurva pertumbuhan tersebut terlihat adanya fase-fase pertumbuhan yaitu : (16, 23, 38)

1. Fase I : Fase Adaptasi (Fase Lag)

Fase ini untuk menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungan di sekitarnya. Fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Lamanya fase ini bervariasi, dapat cepat atau lambat tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungannya.

2. Fase II : Fase Pertumbuhan Awal

Pada fase ini, sel mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah. Jumlah bakteri mulai bertambah sedikit demi sedikit.

3. Fase III : Fase Pertumbuhan Logaritma (Eksponensial)

Pada fase ini, sel jasad renik membelah dengan cepat, dimana pertambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik. Kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, suhu dan kelembaban udara.

4. Fase IV : Fase Pertumbuhan Diperlambat

Pada fase ini pertumbuhan mulai terhambat disebabkan karena adanya pengurangan nutrisi dan mulai terjadi penimbunan hasil metabolisme yang bersifat racun, juga terjadi perubahan lingkungan seperti pH dan lain-lain. Pada fase ini pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik. Hal ini karena jumlah sel yang masih tumbuh lebih banyak daripada jumlah sel yang mati.

#### 5. Fase V : Fase Pertumbuhan Tetap (Stasioner)

Pada fase ini jumlah sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah habis. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan kimia.

#### 6. Fase VI : Fase Kematian Dipercepat dan Kematian Logaritma

Kedua fase ini sering disebut sebagai fase penurunan kematian. Pada fase ini kecepatan kematian meningkat terus menerus sedangkan kecepatan pembelahan menjadi nol. Setelah sampai ke fase kematian logaritma kecepatan kematian mencapai maksimum. Jumlah selnya menurun sesuai deret ukur, tetapi penurunan jumlah tersebut akan mencapai keadaan yang minimum.

### **II.9 Lama Fermentasi**

Menurut Buckle *dkk.* (1985) bila suatu sel mikroorganisme diinokulasikan pada media nutrisi agar, pertumbuhan yang terlihat mula-mula adalah suatu pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Ketika ukurannya telah mencapai kira-kira dua kali dari besar sel normal, sel tersebut membelah dan menghasilkan dua sel. Sel-sel tersebut kemudian tumbuh dan membelah diri menghasilkan empat sel. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk (39).

Waktu antara masing-masing pembelahan sel berbeda-beda tergantung dari spesies dan kondisi lingkungannya, tetapi untuk kebanyakan bakteri waktu ini berkisar antara 10-60 menit. Tipe pertumbuhan yang cepat ini disebut pertumbuhan logaritmis atau eksponensial karena bila log jumlah sel digambarkan terhadap waktu dalam grafik akan menunjukkan garis lurus. Tetapi pada kenyataannya tipe pertumbuhan eksponensial ini tidak langsung terjadi pada saat sel dipindahkan ke medium pertumbuhan dan tidak terjadi secara terus menerus (40).

Kunaepah (2008) pada kefir susu kacang merah menunjukkan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri dengan diameter zona bening paling tinggi 1,5 mm pada perlakuan lama fermentasi 24 jam suhu ruang dan jumlah glukosa 5%, hal ini kemungkinan disebabkan oleh suhu dan waktu yang berbeda, pada penelitian dilakukan pada suhu 43,5°C dan waktu 6, 8 dan 10 jam berbeda dengan 24 jam sehingga ada waktu lebih lama dalam memproduksi asam yang berpengaruh terhadap aktivitas antibakterinya (41).

## **II.10 Uji Aktivitas Antimikroba**

### **1. Metode Difusi**

Metode Difusi termasuk teknik *agar-overlay* seperti cakram, strip, sumur (lubang) dan silinder. Uji difusi disk adalah salah satu metode yang paling umum digunakan uji kerentanan antimikroba. Di Amerika Serikat ini adalah metode resmi untuk deteksi kualitatif penghambatan zat kimia

dalam susu. Filter kecil kertas cakram (sekitar 1 cm diameter) diresapi dengan sejumlah zat standar antibakteri ditempatkan ke piringan agar yang telah diinokulasi sebelumnya untuk metode ini. Cawan dibalik dan diinkubasi. Kadang-kadang, sebelum inkubasi, cawan dengan disk yang tersisa pada suhu mendekati 0°C selama beberapa jam untuk memungkinkan difusi. Waktu inkubasi bervariasi dari sekitar 48 jam. Diameter zona penghambatan pertumbuhan bakteri adalah ukuran kerentanan. Metode Difusi biasanya digunakan untuk zat murni (39).

## 2. Metode Dilusi

Metode dilusi terutama digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (MIC) dari zat murni dan ekstrak. Sampel harus homogen terdispersi dalam air. Hal ini biasanya dicampur dalam berbagai pengenceran dengan media diinokulasi. Setelah inkubasi, sifat penghambatan sampel dapat diperkirakan dengan perbandingan turbidimetri atau visual dengan biakan kontrol. Dalam uji tabung berbagai konsentrasi analit dicampur dalam serangkaian tabung dengan suspensi bakteri. Jumlah terkecil menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri, media tetap jernih, memberikan nilai MIC. Dalam pengenceran agar dengan berbagai konsentrasi zat antibakteri yang dicampur dengan *nutrient agar*. plat agar diinokulasi dan diinkubasi. Konsentrasi terendah dari antibiotik yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan dibaca sebagai nilai MIC. Uji mikrodilusi kaldu dilakukan dalam piring *microtitre*. Setelah

inkubasi pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya putih "pellet" di bagian dasar sumur (42).

## **II.11 Mikroba Uji**

### **1. *Escherichia coli***

#### **a. Klasifikasi (43)**

Divisi : Protophyta  
 Kelas : Schizomycetes  
 Bangsa : Enterobacteriales  
 Suku : Enterobacteriaceae  
 Marga : *Escherichia*  
 Jenis : *Escherichia coli*

#### **b. Sifat dan Morfologi (38, 43)**

Berbentuk batang, biasanya berukuran 0,5 x 1,0-3,0 mikron. Bervariasi terdapat dalam bentuk hampir bulat sampai batang panjang, terdapat dalam bentuk tunggal, berpasangan dan rantai pendek. Motil ataupun non-motil, strain motil memiliki flagela peritrik (flagela secara merata tersebar di seluruh permukaan sel). Biasanya tidak memiliki kapsul, tidak membentuk spora. Gram-negatif. Tumbuh baik pada temperatur antara 8°C sampai 46°C, namun mempunyai temperatur optimum pada suhu 37°C.

Bersifat aerobik dan fakultatif anaerobik, katalase positif. Memiliki metabolisme tipe fermentatif dan respirasi. Glukosa dan laktosa difermentasi dengan produksi asam dan gas. Asetilmetilkarbinol tidak

diproduksi. Umumnya tidak mampu memanfaatkan asam urat sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Ditemukan dalam kotoran; kadang-kadang patogen terhadap manusia (enteritis, peritonitis, sistitis, dll), terdistribusi secara luas di alam.

## **2. *Salmonella thyposa***

### **a. Klasifikasi (43)**

Divisi : Proteobacteria  
 Kelas : Gammaproteobacteria  
 Bangsa : Enterobacteriales  
 Suku : Enterobacteriaceae  
 Marga : *Salmonella*  
 Jenis : *Salmonella thyposa*

### **b. Sifat dan Morfologi (38, 43)**

*Salmonella thyposa* adalah bakteri yang berbentuk basil yang tidak begitu panjang berukuran 0,6-0,7 x 2,0-3,0 µm, biasanya tunggal, berpasangan dan kadang-kadang membentuk rantai pendek. Gram-negatif. Motil dengan flagela peritrik, kadang-kadang non-motil. Hidup secara aerobik atau anaerobik fakultatif, memfermentasikan glukosa dengan menghasilkan asam tapi tidak menghasilkan gas. Tumbuh optimal pada suhu 37°C. Tidak membentuk spora, lekas mati dalam di dalam terik matahari, tidak dapat bertahan lama di dalam perairan bebas. Bakteri ini dapat ditemukan di saluran pencernaan manusia dan hewan dan merupakan penyebab penyakit demam tifoid (tipus perut).

### 3. *Pseudomonas aeruginosa*

#### a. Klasifikasi (43)

Divisi : Proteobacteria  
 Kelas : Gammaproteobacteria  
 Bangsa : Pseudomonadales  
 Suku : Pseudomonadaceae  
 Marga : *Pseudomonas*  
 Jenis : *Pseudomonas aeruginosa*

#### b. Sifat dan Morfologi (38, 43)

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri Gram-negatif berbentuk batang dengan ukuran 0,5-0,6 x 1,5  $\mu\text{m}$ , biasanya berbentuk tunggal, berpasangan dan membentuk rantai pendek. Motil dengan flagela yang memiliki satu hingga tiga flagela polar. Hidup secara aerobik atau fakultatif, katalase positif, oksidasi positif. Tumbuh optimal pada suhu 37°C dan tumbuh dengan baik pada suhu 42°C. Tidak mampu memfermentasi tetapi mampu mengoksidase glukosa, laktosa ataupun karbohidrat lainnya. Kadang-kadang kedapatan di dalam luka pada hewan atau manusia. Bakteri ini menyebabkan timbulnya nanah yang kebiru-biruan.

### 4. *Staphylococcus aureus*

#### a. Klasifikasi (43)

Divisi : Eukaryota  
 Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales  
Suku : Micrococcaceae  
Marga : *Staphylococcus*  
Jenis : *Staphylococcus aureus*

b. Sifat dan Morfologi (43)

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk bulat dan berdiameter 0,8-1,0  $\mu\text{m}$ . Susunan selnya ada yang berbentuk tunggal, berpasangan, dalam rantai pendek dan membentuk gerombolan yang tidak teratur. Non-motil. Gram-positif. Hidup secara aerobik ataupun anaerobik fakultatif, memiliki suhu optimal 37°C dan dapat tumbuh pada suhu 10°C dan 45°C. Mampu memfermentasi mannitol, koagulase positif. Ditemukan terutama pada membran mukus hidung dan kulit (folikel rambut). Penyebab dari furunkulosis, piaemia, osteomielitis, suppurasi dari luka, dan keracunan makanan. Sangat umum.

**5. *Bacillus subtilis***

a. Klasifikasi (43)

Divisi : Firmicutes  
Kelas : Bacilli  
Bangsa : Eubacteriales  
Suku : Bacillaceae  
Marga : *Bacillus*  
Jenis : *Bacillus subtilis*

b. Sifat dan Morfologi (43)

Berbentuk batang dengan ukuran 0,7-0,8 x 2,0-3,0  $\mu\text{m}$ , tidak membentuk rantai. Tidak memiliki kapsul. Motil dengan flagel peritrik. Termasuk bakteri Gram-positif. Mampu membentuk endospora, berukuran 0,6-0,9 x 1,0-1,5  $\mu\text{m}$ , elips hingga silinder, sentral hingga parasentral, berdinding tipis. Kebanyakan terbentuk dalam 48 jam. Bakteri ini menghasilkan antibiotik basitrasin dan subtilin. Suhu pertumbuhan optimal antara 28°C dan 40°C. Umumnya terdistribusi di tanah, debu dan material terdekomposisi.