

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL ANTIBIOTIK  
DARI PANTAI KENJERAN SURABAYA**

**SKRIPSI**



**UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A**

**Disusun Oleh:**

**FARIDA  
H71216027**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL  
SURABAYA  
2020**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Farida

NIM : H71216027

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul **"ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI PANTAI KENJERAN SURABAYA"**. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 7 Agustus 2020

Yang menyatakan,



Farida

NIM. H71216027

## LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : FARIDA

NIM : H71216027

JUDUL : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL ANTIBIOTIK  
DARI PANTAI KENJERAN SURABAYA

Telah diperiksa dan disetujui untuk di ujikan

Surabaya, 07 Agustus 2020

Dosen Pembimbing 1



Irul Hidayati, M.Kes.  
NIP. 198102282014032001

Dosen Pembimbing 2



Hanik Faizah, S.Si., M.Si.  
NUP.201409019

## PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Farida ini telah dipertahankan di depan tim penguji skripsi di Surabaya, 07 Agustus 2020

Mengesahkan,

Dewan Penguji

Penguji I



Irul Hidayati, M.Kes.  
NIP. 198102282014032001

Penguji II



Hanik Faizah, S.Si., M.Si.  
NUP.201409019

Penguji III



Esti Tyastirin, M.KM  
NIP.198706242014032001

Penguji IV



Estri Kusumawati, M.Kes  
NIP. 198708042014032003

Mengetahui,

Pt. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Hj. Evi Fatmatur Rusydiah, M.Ag.  
NIP. 197312272005012003



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA  
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : FARIDA  
NIM : H71216027  
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/ BIOLOGI  
E-mail address : farfarida62009@gmail.com :

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi  Tesis  Disertasi  Lain-lain (... ..)

yang berjudul :

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI

PANTAI KENJERAN SURABAYA

berserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 07 Agustus 2020

Penulis

(Farida)

















*aureus* dapat menyebabkan beberapa penyakit diantaranya seperti penyakit kulit impetigo, abses, selulitis dan infeksi kulit. Jika terdapat pada tulang dan sendi dapat mengakibatkan *osteomyelitis* dan *arthritis septic*, selain itu menyebabkan pneumonia pada organ pernafasan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengobatan untuk mengobati penyakit infeksi (Locke *et al.*, 2012).

Pengobatan yang sering dilakukan untuk penyakit infeksi adalah dengan pemberian antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan menyebabkan resistensi antibiotik, sehingga agen antimikroba baru sangat dibutuhkan untuk menanggulangi masalah akibat dari peningkatan jumlah dari bakteri resisten (Fatoni, 2016). Untuk mendapatkan antibiotika yang baru, para peneliti melakukan berbagai cara salah satunya yaitu dengan biotransformasi senyawa tertentu yang menggunakan bantuan mikroba serta membuat antibiotika baru dari mikroba yang berada di alam (Naid, 1999). Selain sumber antibiotika dapat diproduksi dengan cara alami, antibiotik juga bisa didapatkan dengan cara sintesis dan semisintesis. Sehingga peneliti dalam bidang farmasi antibiotika dapat mengembangkan proses pembuatan antibiotik baik menggunakan biakan yang sudah diketahui dari badan yang mengoleksi biakan ataupun menggunakan suatu mikroorganisme yang diisolasi sendiri (Dwijoseputro, 1987).

Mikroorganisme penghasil antibiotika antara lain berasal dari limbah domestik, isi rumen, lumpur, kompos, tanah, bahan makanan busuk, air laut dan lain-lain (Suwandi, 1989). Laut merupakan kumpulan air yang sangat luas di atas permukaan bumi dengan kadar salinitas yang tinggi serta terdapat



Ibnu Katsir menasirkan bahwa maksud dari lafadz *famaa fauqohaa* (“atau yang lebih rendah dari itu”) pada ayat diatas menunjukkan bahwa Allah SWT berkuasa untuk menciptakan apa saja, yaitu penciptaan apapun dengan obyek apa sajah, baik besar ataupun yang kecil. Seperti ayat diatas yaitu penciptaan sesuatu yang lebih rendah dari nyamuk. Adapun ukuran yang lebih kecil dibanding nyamuk antara lain yaitu mikroorganisme termasuk bakteri. Allah SWT tidak pernah menganggap remeh sesuatu yang telah diciptakan meskipun hal yang sangat kecil. Orang-orang yang beriman meyakini bahwa dalam perumpamaan penciptaan yang dilakukan oleh Allah SWT memiliki manfaat bagi kehidupan manusia (Mubarok, 2006). Sebagaimana Allah SWT menciptakan bakteri meskipun mempunyai ukuran yang sangat kecil tetapi keberadaannya mempunyai manfaat yang besar.

Bakteri adalah mikroorganisme ubikuotus yang mempunyai arti melimpah dan dapat ditemukan hampir disemua tempat. Salah satu habitat bakteri yaitu di laut. Mikroorganisme yang ditemukan di laut dapat memproduksi senyawa bioaktif yang digunakan untuk beradaptasi atau mempertahankan diri pada kondisi lingkungan laut yang ekstrim (Solingan *et al.*,2001). Dibandingkan dengan mikroorganisme yang berada di darat, mikroorganisme yang berada di laut dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur yang unik dan kompleks serta memiliki bioaktivitas yang kuat (Proksch *et al.*, 2002).

Hingga saat ini telah dilakukan eksplorasi dalam pencarian senyawa bioaktif, yang berasal dari mikroorganisme laut, sebagai alternatif antibiotik

yang baru dan juga menjadi perhatian bagi para peneliti. Karena tingginya keanekaragaman hayati laut serta keunikan struktur dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme laut, sehingga senyawa bioaktif yang berasal dari laut dapat menjadi alternatif baru dalam pengembangan antimikroba (Murniasih, 2004).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mikroba yang diisolasi dari air laut dapat menghasilkan antibiotik dan juga dapat melawan beberapa jenis bakteri patogen, seperti penelitian yang dilakukan oleh Muthmainnah Abdullah (2010), yang menemukan 5 jenis bakteri penghasil antibiotik yaitu *Coryneforms*, *Agrobacterium sp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas sp.* di Perairan Solor Kab.Flores Timur. Penelitian yang dilakukan oleh Sari (2015) menemukan bahwa 36 isolat potensial yang merupakan bakteri gram positif yang diisolasi dari pesisir Serdang menunjukkan aktivitas antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp.* dan juga *Candida albicans*. Selain itu, Poosarla *et al.*(2013) menemukan bahwa isolat yang merupakan genus *Streptomyces* diperoleh dari laut Kepulauan Andaman menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen seperti *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Escherichia* dan *Proteus* serta pada fungi patogen yaitu *Aspergillus*, *Candida*, *Penicillium*, *Mucor* serta *Rhizopus*.

Dari penelitian-penelitian tersebut menjelaskan bahwa perairan laut memiliki sumber daya yang melimpah dan didalamnya terdapat mikroorganisme yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba. Salah satu

Negara yang memiliki sumber daya laut yang melimpah yaitu Indonesia, hal ini menjadikan perairan di Indonesia memiliki kekayaan alam yang besar dengan tingkat keragaman hayati yang tinggi dan juga terdapat berbagai jenis mikroorganisme laut. (Susanti, 2014). Salah satu perairan yang berpotensi untuk mengeksplorasi mikroorganisme laut yaitu Pantai Kenjeran.

Pantai Kenjeran merupakan pantai yang terletak di bagian timur kota Surabaya tepatnya di kecamatan Kenjeran. Pantai ini merupakan salah satu destinasi wisata yang cukup menarik di Surabaya. Namun, pantai ini telah mengalami pencemaran lingkungan. Sehingga mikroorganisme yang berada di lingkungan tercemar tersebut harus mempertahankan diri dengan cara menghasilkan metabolit sekunder. Oleh karena itu, pantai Kenjeran berpotensi untuk dilakukan eksplorasi, salah satunya yang bisa dikembangkan pada pantai ini yaitu bakteri yang dapat ditemukan di suatu perairan salah satunya yaitu terdapat pada permukaan dasar suatu perairan (Wahyuni, 2013).

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan isolasi bakteri di perairan Pantai Kenjeran, untuk mengetahui apakah bakteri yang berada di Perairan Laut Kenjeran Surabaya tersebut dapat menghasilkan antibiotik dan bakteri ini diharapkan mampu menghambat bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*.









4. Pendidikan dan Penelitian. Laut memiliki manfaat yang sangat penting dalam bidang pendidikan yaitu sebagai objek dari riset sebuah penelitian. Selain itu kegiatan-kegiatan ilmiah remaja semakin banyak pula yang menjadikan laut sebagai obyek pengkajian (Nontji, 2002).

## 2.2. Pantai Kenjeran

Pantai Kenjeran mempunyai nama asli pantai Ria Kenjeran yang berdiri pada tahun 1968 dengan luas  $\pm 6,3$  Ha, merupakan satu-satunya wisata pantai yang berada di kota Surabaya terletak di Kecamatan Kenjeran di bagian timur Kota Surabaya dan berada di tepi pantai utara atau berada diantara  $7^{\circ}9'-7^{\circ}21'$  Lintang Selatan dan  $112^{\circ}36'-112^{\circ}-54'$  Bujur Timur. Pantai Kenjeran ini memiliki hamparan pasir putih yang luas beberapa batu karang menyembul ke permukaan air yang berada disekitarnya begitu alami, tetapi air pada pantai Kenjeran ini bewarna kecoklatan dengan dasar pantai yang berlumpur. Kurangnya peran masyarakat dalam menjaga lingkungan pantai Kenjeran ini menjadikan sebuah masalah yang penting bagi lingkungan sekitar hal tersebut dibuktikan dengan adanya sampah yang beserakan dipinggir pantai Kenjeran. Kerusakan lingkungan serta sumberdaya di wilayah pesisir Kenjeran ini dipicu oleh pencemaran yang berasal dari pembangunan suatu limbah industri, rumah tangga maupun masyarakat yang membuang sampah sembarangan. Pencemaran di wilayah pesisir Kenjeran ini dapat mengancam kehidupan berbagai macam mikroorganisme laut salah satunya yaitu bakteri (Hariyati dkk., 2010).



(melawan kehidupan) yang dapat diartikan bahwa suatu organisme dapat menghancurkan organisme lain untuk melindungi kehidupannya sendiri, sehingga dari kata dasar inilah antibiotika berkembang luas dan dapat digunakan baik oleh masyarakat awam, profesi kesehatan ataupun oleh ilmu pengetahuan lainnya dan istilah tersebut dapat diartikan secara luas (Djide dan Sartini, 2006).

Pada tahun 1943 Waksman mengatakan, definisi antibiotika secara luas adalah bahan yang dapat dihasilkan dari suatu mikroorganisme yang menghambat atau mematikan mikroorganisme yang lain. Disamping itu Benedict dan Langlyke mengatakan bahwa antibiotika merupakan senyawa kimia yang diproduksi oleh organisme hidup jika dalam konsentrasi kecil dan mempunyai kemampuan untuk menghambat proses kehidupan mikroorganisme lain (Djide dan Sartini, 2006).

Antibiotika termasuk metabolit sekunder dan juga merupakan agen antimikroba serta dapat diproduksi dari suatu mikroorganisme dan bertujuan untuk membunuh ataupun menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain yang berbeda termasuk virus, sel eukariotik dan juga bakteri (Abbas *et al.*, 2010). Mikroorganisme yang dapat menghasilkan antibiotika meliputi beberapa golongan diantaranya yaitu fungi, actinomycetes, bakteri dan juga mikroba lainnya. Kira-kira 70% antibiotika dapat dihasilkan dari Actinomycetes dengan jenis *Streptomyces*, 20% fungi dan 10% oleh bakteri (Ambarwati dan Gana, 2009)





3. Menghambat sintesa suatu dinding sel yang mengakibatkan dinding sel tidak sempurna sehingga tidak dapat melakukan penahanan tekanan osmosa dari plasma yang mengakibatkan sel akan seperti vankomisin, safalosporin dan juga penicillin.
4. Menghambat sintesa membran sel, molekul lipoprotein dari suatu membran sel dikacaukan sehingga pembentukannya bersifat permeabel yang dapat mengakibatkan zat-zat penting dari isi sel akan keluar, seperti pada polimiksin.
5. Menghambat sintesa protein sel dengan cara meletakkan diri ke ribosom yang dapat mengakibatkan terbentuknya sel yang tidak sempurna seperti tetrasiklin, kloramfenikol dan juga streptomisin.
5. Menghambat pembentukan asam-asam inti (DNA atau RNA) yang dapat mengakibatkan sel tidak dapat berkembang seperti rifampisin (Djide dan Sartini, 2006).

Diketahui bahwa senyawa antibiotika dapat dihasilkan oleh mikroorganisme, yang merupakan makhluk terkecil yang tidak kasat mata. Menurut Rifa'i (2008), Allah menciptakan alam dan makhluk hidup serta menyempurnakan ciptaannya, kemudian Allah memberikan petunjuk terhadap tujuan penciptannya beserta tujuannya karena Allah SWT menciptakan sesuatu tidak ada yang sia-sia, sebagaimana telah diketahui bahwa mikroorganisme tersebut dapat menyebabkan beberapa penyakit patogen dan masih banyak dipertanyakan manfaat dari mikroorganisme yang telah diciptakan oleh Allah SWT. Sehingga setelah diadakan penelitian oleh



perpindahan molekul dari satu tempat ke tempat yang lain. Pada metode difusi ini terdiri dari berbagai macam diantaranya yaitu: (Djide, 2003).

1. Metode difusi pipih. Pada metode ini dilakukan dengan menggunakan plat silinder yang sebelumnya telah diletakkan pada media selanjutnya memasukkan larutan didalamnya. Cara pada pengujian ini didasarkan dengan melakukan perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh dengan daerah hambatan yang dibentuk oleh pembanding.
2. Metode sumuran. Pada metode ini lempeng agar yang sebelumnya telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang nantinya akan diisi dengan zat antimikroba uji. Hasil dari pengamatan dari uji ini yaitu dilakukan setelah proses inkubasi dan selanjutnya dilihat hasil daerah hambatan yang terbentuk.
3. Metode difusi kertas saring. Pengujian pada metode ini menggunakan kertas saring sebagai bahan utamanya yaitu dengan cara membentuk kertas saring dengan ukuran tertentu yang biasanya dengan garis tengah 0,7-1 cm yang selanjutnya akan dicelupkan pada larutan contoh dan juga larutan pembanding. Hasil dari pengamatan ini dilakukan setelah proses inkubasi dan selanjutnya dilihat hasil daerah hambatan yang terbentuk.
4. Metode difusi Kirby-Bauer. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media *Brain Heart Infusion* (BHI) serta meletakkan kertas saring pada medium tersebut yang sebelumnya telah dilakukan inokulasi





yang diproduksi terdeteksi dengan penambahan suatu reagen Kovacz yang didalamnya mengandung amil alcohol sehingga indol tersebut akan menyebabkan suatu amil alkohol membentuk cincin berwarna merah (Hemraj *et al.*, 2013). Pada uji indol ini sampel tersebut dikatakan positif jika terbentuknya cincin berwarna merah pada garis pemisah yang membuktikan bahwa bakteri tersebut terdapat enzim triptofanase yang merupakan suatu katalis pengurai pada gugus indol dalam asam amino triptofan sedangkan dikatakan negatif jika tidak terbentuknya cincin berwarna merah pada garis pemisah (Ulfa dkk, 2016).

## 2) Uji MR (*Methyl Red*)

Uji MR (*Methyl Red*) merupakan pengujian yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam memfermentasikan methilen glikon. Media yang digunakan pada pengujian ini yaitu glukosa fosfat dengan penambahan *methyl red* 1% setelah diinkubasi. Hasil dari pengujian ini ditandai dengan adanya perubahan pada warna suatu media tersebut sehingga menjadi warna merah setelah pemberian *methyl red* sedangkan dikatakan negatif jika tidak terjadi suatu perubahan pada media (Ulfa dkk, 2016).

## 3) Uji VP (*Voges-proskauer*)

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam membentuk asetil metal karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi glukosa. Pada pengujian ini dilakukan penambahan  $\alpha$ -naftol 5% dan KOH 40%. Hasil pengujian ini dikatakan positif jika ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada suatu media sehingga menjadi berwarna: merah

yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat membentuk asetoin sedangkan jika tidak terjadi perubahan warna maka dikatakan negatif (Ulfa dkk, 2016).

#### 4) Uji sitrat

Media yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Simons Citrate*. Tujuan dari pengujian ini yaitu untuk mengetahui suatu bakteri yang menggunakan sitrat sebagai sumber karbon ditandai pada perubahan suatu media menjadi basa atau berubah menjadi warna biru. Hasil pengujian ini dikatakan positif jika terjadi perubahan warna hijau menjadi biru pada suatu media dan jika tidak terjadi perubahan warna pada suatu media maka dikatakan negatif yang berarti bakteri tidak memiliki enzim sitrat permease sehingga bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Ratna, 2012).

#### 5) Uji TSIA

TSIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme untuk memfermentasikan karbohidrat. Media TSIA ini memiliki warna dasar kuning. Jika mengalami fermentasi karbohidrat, media tersebut berubah menjadi merah (asam), jika berwarna tetap yaitu kuning (basa) maka tidak terjadi suatu fermentasi. Pembacaan hasil dari uji TSIA ini yaitu diawali dari bagian lereng media. Jika hasil tersebut menunjukkan B/A (lereng berwarna kuning dengan dasar berwarna merah) bahwa bakteri tersebut memfermentasikan sebagian karbohidrat. Jika uji tersebut A/A mempunyai arti bahwa bakteri tersebut dapat memfermentasikan semua jenis dari karbohidrat. Sedangkan B/B berarti bahwa bakteri uji tersebut



## 2.6. Mikroorganisme Penghasil Antibiotik

Mikroorganisme merupakan jasad renik yang mempunyai ukuran yang sangat kecil (Ali, 2008). Mikroorganisme ada yang tersusun atas satu sel yaitu uniseluler dan juga ada yang tersusun atas beberapa seluler yang disebut dengan multiseluler. Meskipun mikroorganisme bersifat uniseluler akan tetapi mikroorganisme tersebut dapat menunjukkan karakteristik organ hidup yaitu metabolisme, bereproduksi, berdiferensiasi serta dapat melakukan pergerakan dan juga dapat berevolusi. Mikroorganisme dapat ditumbuhkan dalam media buatan dan mempunyai tingkat perkembangbiakan yang cepat, karena aktivitasnya maka setiap mikroorganisme memiliki peranan dalam kehidupan baik yang merugikan ataupun menguntungkan (Ali, 2008)

Mikroorganisme yang menguntungkan salah satunya yaitu dapat memberikan kontribusi dalam penemuan suatu antibiotik yang dapat menghantarkan pada industri pengobatan pada era yang baru ini. Sehingga beberapa mikroorganisme dapat menghasilkan antibiotik diantaranya yaitu:

Antibiotik penisilin dihasilkan oleh bakteri *Penicillium*, antibiotik sefalospori dihasilkan oleh bakteri *Cephalosporium* lalu *Streptomyces* dapat menghasilkan antibiotik streptomisin, bakteri dari *Streptomyces aureofaciens* menghasilkan antibiotik tetrasiklin dan *Bacillus brevis* menghasilkan antibiotik kerotrisin.

























### 3.5.6. Pengujian Aktivitas Biokimia

#### A. Uji Fermentasi karbohidrat

Media glukosa, laktosa, mannitol, maltosa dan juga sukrosa masing-masing ditimbang sebanyak 1 gr kemudian masing-masing gula tersebut dilarutkan ke dalam gelas beker yang berisi aquades sebanyak 100 ml dan ditambahkan *pepton water* sebanyak 1 gr. Dipanaskan diatas *hot plate* selama 10 menit dan ditambahkan *phenol red* secara perlahan. Kemudian dituang kedalam tabung reaksi yang sebelumnya telah berisi tabung durham. Tabung reaksi berisi media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 45 menit setelah dingin masukkan kedalam *freezer* bersuhu 3°C. Diinokulasikan isolat mikroba air laut tersebut kedalam masing-masing tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna pada media dari merah menjadi kuning serta terdapat gelembung gas pada tabung durham (Cappucino and Sherman, 2005).

#### B. Uji indol

Media *Tryptophan Broth* dilarutkan ke dalam erlenmeyer yang berisi aquades dan dipanaskan hingga mendidih kemudian dituangkan sebanyak 8 ml pada masing-masing tabung reaksi kemudian dilakukan sterilisasi pada media tersebut menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 45 menit.



media didinginkan dengan memposisikan tabung secara miring  $45^\circ$  setelah memadat masukkan kedalam *freezer* dengan suhu  $3^\circ\text{C}$ . Diinokulasikan isolat mikroba air laut tersebut kedalam masing-masing tabung reaksi menggunakan jarum ose dengan cara *streak* pada permukaan media kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati perubahan yang terjadi. Hasil positif pada pengujian sitrat ini yaitu dengan adanya perubahan warna media menjadi biru (Cappucino and Sherman, 2005).

#### 6. Uji Urea

Media urea *broth* dilarutkan kedalam erlenmeyer yang berisi aquades dan dipanaskan hingga mendidih kemudian dituangkan sebanyak 8 ml pada masing-masing tabung lalu disterilisasi media menggunakan autoklaf dengan suhu  $121^\circ\text{C}$ . Kemudian memposisikan tabung tersebut secara miring  $45^\circ$  hingga memadat. Diinokulasikan isolat mikroba air laut tersebut kedalam masing-masing tabung reaksi menggunakan jarum ose dengan cara *streak* pada permukaan media kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati perubahanyang terjadi. Hasil positif pada pengujian urea ini yaitu dengan adanya perubahan warna media menjadi merah muda.

#### 6. Uji TSIA

Media miring TSIA dilarutkan kedalam erlenmeyer yang berisi aquades dan dipanaskan hingga mendidih kemudian dituangkan sebanyak 8 ml pada masing-masing tabung lalu

disterilisasi media menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C. Kemudian memposisikan tabung tersebut secara miring 45° hingga memadat. Diinokulasikan isolat mikroba air laut tersebut kedalam masing-masing tabung reaksi menggunakan jarum ose dengan cara *streak* dan ditusukkan secara lurus. Diinkubasi selama 24 jam dan diamati perubahannya. Dinyatakan positif jikapada pengujian ini terjadi perubahan warna.

### 3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa hasil pengamatan koloni bakteri secara makroskopis, mikroskopis dan biokimia dianalisis secara deskriptif untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Sedangkan kemampuan daya hambat antibiotik yang dihasilkan dari ekstrak hasil fermentasi isolat bakteri yang berupa diameter zona hambat dilakukan analisa statistik yang menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Man Whitney*.









Untuk mengisolasi antibiotika, umumnya bakteri penghasil antibiotik dilakukan perendaman (fermentasi) terlebih dahulu kedalam media cair sampai pada fase stationer (Stanbury et al., 1994). Pada penelitian ini menggunakan waktu fermentasi selama 7 hari (168 jam) yang diharapkan telah mencapai fase stationer dan dapat membentuk metabolit sekunder. Afni (2013) berpendapat jika menggunakan fermentasi selama 5 hari (120 jam) masih berupa metabolit ekstraseluler dan jika memasuki waktu fermentasi selama 9 hari (216 jam) akan terjadi penumpukkan metabolit intraseluler, karena fermentasi yang berlangsung lebih lama akan menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas hambatan. Hal ini sesuai dengan penelitian Nisak (2013) yang menggunakan waktu fermentasi selama 7 hari dan diperkirakan berada pada fase stationer.

Fase stationer pada tahap fermentasi ditandai dengan habisnya nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri dalam pertumbuhannya. Hal tersebut dapat diketahui dengan diproduksi senyawa atau racun yang menyebabkan beberapa sel bakteri mati, sedangkan yang lain dapat tumbuh dan membelah sehingga jumlah sel yang hidup menjadi tetap. Selain itu habisnya nutrisi pada media dapat diamati secara visual, yaitu dengan cara mengamati perubahan warna pada media, bau media dan juga warna lendir (Pelczar dan Chan, 2008).



Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil ekstrak pada isolat JM1 sebesar 0,1257 gr dengan warna ekstrak yang didapat yaitu berwarna hitam pekat, ekstrak isolat bakteri JM2 sebesar 0,1341 gr dengan hasil ekstrak berwarna cokelat, ekstrak isolat JM3 sebesar 0,1421 gr dengan ekstrak yang didapat berwarna kuning, ekstrak isolat KL1 sebesar 0,1291 gr dengan hasil ekstrak berwarna hijau tua, ekstrak isolat KL2 sebesar 0,1282 dengan ekstrak berwarna cokelat tua dan hasil pada ekstrak fermentasi isolat bakteri JA yaitu sebesar 0,1429 gram dengan ekstrak yang didapat berwarna kuning muda.

Hasil ekstraksi pada penelitian ini terjadi perbedaan warna karena terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas warna yaitu suhu, paparan cahaya dan juga pH (Maulidia dan Gunarti, 2015). Menurut Sediadi dan Esti (2000), nilai pH yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya perubahan warna antosianin dimana warna hijau (pH 12) dan kuning (pH 13) menunjukkan tingkat perubahan warna antosianin yang dihasilkan pada proses ekstraksi. Pada penelitian ini setiap ekstrak menghasilkan warna yang berbeda, perbedaan tersebut disebabkan karena setiap ekstrak menghasilkan senyawa yang berbeda (Satriyanto dkk, 2012).

Senyawa yang dihasilkan oleh metabolit sekunder sangat bervariasi karena metabolit sekunder mempunyai sifat yang unik dan spesifik sehingga menghasilkan dalam jumlah terbatas dengan struktur yang berbeda. Keragaman struktur metabolit sekunder sangat

berlimpah dan menghasilkan jenis senyawa yang beragam, senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan diantaranya alkaloid, polifenol termasuk terpenoid dan juga flavonoid, dari jenis senyawa tersebut masing-masing senyawa menghasilkan warna yang berbeda (Harborne,1987)

Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan yaitu 12.000 ppm, konsentrasi ini dipilih karena jika menggunakan konsentrasi yang rendah, zona hambat yang terbentuk sangat kecil, dikarenakan pada konsentrasi tersebut ekstrak tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji secara maksimal. Dengan demikian, jika konsentrasi yang digunakan tinggi kemungkinan akan memberikan aktivitas antibiotik yang lebih baik. Pemilihan konsentrasi tersebut juga berdasarkan literatur yang mengatakan bahwa ekstrak dikatakan berpotensi sebagai antimikroba jika kadar yang diberikan lebih dari 1000 µg/ml yang dianggap mampu menghambat pertumbuhan antimikroba (Mitscher *et al.*,1992).

#### 4.3. Uji Aktivitas Antibiotika

Uji aktivitas antibiotika pada penelitian ini menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan yaitu metode difusi dengan menggunakan kertas cakram yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antibiotik. Hasil zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian mm (millimeter) dan dihitung rata-rata zona hambat dari ketiga replikasi dan standar deviasinya. Dari hasil inkubasi tersebut zona hambat yang terbentuk pada masing masing isolat dapat dilihat pada gambar 4.3.

Pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak hasil fermentasi isolate bakteri menunjukkan aktivitas antibiotik terhadap bakteri uji dengan hasil yang berbeda, hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang berada di sekitar kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk merupakan hasil dari senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh isolat bakteri sebagai reaksi antagonis yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hasil dari uji aktivitas antibiotika pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 4.3.





yang didapat sebesar  $10 \pm SD 0,5$  mm, dari penelitian ini diketahui bahwa hasil dari diameter aktivitas penghambatan tertinggi yaitu pada ekstrak hasil fermentasi isolat bakteri KL1 dengan diameter rata-rata sebesar  $19 \pm SD 0,6$  mm dan hasil terendah pada ekstrak fermentasi isolat bakteri JM2 sebesar  $7 \pm SD 0,5$  mm. Sedangkan diameter zona hambat yang dihasilkan kontrol positif yaitu sebesar  $26 \pm SD 2,6$  mm dan pada kontrol negatif tidak terjadi aktivitas antibiotika.

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan terbukti memiliki aktivitas antibiotika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu antibiotik *kloramfenikol*. Antibiotik *kloramfenikol* merupakan antibiotik yang berspektrum luas sehingga dapat melawan pertumbuhan bakteri gram negatif dan gram positif (Katzung, 1994). Akan tetapi, pada kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibiotik yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Kontrol negatif yang digunakan adalah larutan DMSO 10%. Hasil dari kontrol negatif (DMSO 10%) pada penelitian ini yaitu tidak membentuk zona hambat. Hal tersebut membuktikan bahwa pelarut tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibiotik, sehingga zona hambat yang dihasilkan hanya berasal dari kombinasi ekstrak saja. DMSO (Dimetil Sulfoksida) merupakan pelarut organik yang tidak memiliki sifat bakterisidal (Assidqi *et al.*, 2012) sehingga DMSO dipilih sebagai bahan pembantu ekstrak karena dapat melarutkan senyawa polar ataupun non polar dan tidak memberikan zona hambat terhadap bakteri uji (Umar, 2014).

Hasil dari Gambar 4.4 tentang pengujian aktivitas antibiotika ini dilakukan uji statistik menggunakan *Kruskall-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan dalam hasil ekstrak yang didapat serta apakah hasil tersebut dapat menghambat bakteri uji atau tidak. Sebelumnya dilakukan uji normalitas untuk mengetahui data tersebut apakah berdistribusi normal atau tidak dengan taraf signifikansi yang telah ditentukan yaitu 0,05. Hasil dari uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi 0,255 ( $p > 0,05$ ), hal ini menunjukkan bahwa data dari penelitian tersebut berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui data tersebut apakah bersifat homogen atau tidak dengan  $p > 0,05$ .

Hasil dari uji homogenitas ini memiliki nilai 0,006, hal ini menunjukkan bahwa data tidak homogen. Uji prasyarat yang telah ditentukan menunjukkan jika data tersebut terdistribusi normal akan tetapi data tidak homogen, jika dilanjutkan ke uji *One Way Anova* tidak dapat dilakukan, sehingga harus dilanjutkan ke uji *Kruskal Wallis* (lampiran 4).

Pada uji *Kruskal wallis* menunjukkan jika nilai *ASymp.Sig* sebesar 0,002 yang dapat diartikan bahwa hasil tersebut lebih kecil dari  $< 0,005$ . Sehingga dari data hasil yang telah diperoleh menunjukkan bahwa pada masing-masing ekstrak dari hasil fermentasi isolat tersebut memiliki perbedaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada masing-masing ekstrak dari



bermakna. Pada uji ini juga terdapat ekstrak hasil fermentasi isolat bakteri yang tidak memiliki perbedaan yaitu pada ekstrak dari hasil fermentasi isolat bakteri JM1 dan JM3 sebesar 0,072, ekstrak hasil fermentasi isolat bakteri JM1 dan KL2 sebesar 0,346, ekstrak hasil fermentasi isolat bakteri JM3 dan KL2 yaitu sebesar 0,261, dikatakan tidak memiliki perbedaan karena pada nilai tersebut lebih dari 0,05 merupakan nilai signifikansi yang telah ditetapkan (Sugiono, 2018). Dari uji tersebut dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna, hal ini menunjukkan karena pada setiap ekstrak dari hasil fermentasi isolat bakteri memiliki kemampuan menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang tidak sama.

Beberapa penelitian juga mendapatkan hasil kemampuan penghambatan berbeda yang menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Penelitian yang dilakukan oleh Utami (2013) tentang isolasi bakteri penghasil antibiotik di perairan Makassar, pada penelitian tersebut menunjukkan kemampuan penghambatan yang berbeda-beda. Pada ekstrak isolat bakteri AG diameter yang didapat yaitu sebesar  $6,75 \pm SD 2,7$  mm dan hasil ekstrak isolat bakteri CG yaitu sebesar  $8,5 \pm SD 3,0$  mm. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Nofiani dkk, (2009) tentang Aktivitas antimikroba dari Pulau Lemukutan Kalimantan Barat, mendapatkan diameter zona hambat yang berbeda. Diameter yang didapat pada ekstrak dari isolat bakteri LCS1 yaitu  $13 \pm SD 0,7$  mm dan ekstrak dari isolat bakteri LCS2 sebesar  $15 \pm SD 9$  mm.

Keberhasilan dari aktivitas antibiotik dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk, sehingga hasil diameter tersebut dilakukan pengelompokan pada masing-masing isolat. Kategori pada respon hambat masing-masing ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri uji tersebut sesuai dengan pernyataan Susanto *et al.* (2012) yang menjelaskan bahwa diameter yang memiliki zona hambat  $< 5$  mm maka termasuk kedalam golongan lemah, jika 6-10 mm dikategorikan sedang, apabila  $> 10-20$  dikategorikan kuat dan jika  $\geq 20$  mm termasuk kedalam kategori sangat kuat.

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat pada penelitian ini respon dari kontrol positif termasuk kedalam kategori sangat kuat, pada ekstrak dari hasil fermentasi isolat bakteri JM1, JM3 KL1 dan KL2 termasuk kedalam kategori kuat sedangkan pada ekstrak dari hasil fermentasi isolat bakteri JM2 dan JA merupakan golongan yang sedang. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lubis (2015) tentang penapisan bakteri laut penghasil antimikroba yang dilakukan di 5 kawasan pesisir Serdang Bedagai Sumatera Utara, hasil perhitungan zona hambat dari penelitian tersebut mengelompokkan kedalam dua kategori. Pada penelitian ini zona hambat yang dihasilkan sebesar  $6,4 \pm SD 0,21$  mm,  $8,3 \pm SD 0,1$  mm dan  $9,4 \pm SD 0,3$  mm termasuk kedalam kategori sedang dan jika yang dihasilkan berkisar 10-13 mm termasuk kedalam golongan kuat, Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Nur (2010) tentang karakterisasi senyawa antibiotik dari mikroorganisme laut, mengelompokkan hasil kemampuan penghambatannya

kedalam kategori sedang karena hasil yang diperoleh isolat bakteri ALB3 sebesar  $8 \pm SD 0$  dan isolat bakteri ALB5 sebesar  $9,6 \pm SD 0,6$  mm.

Terbentuknya zona hambat dapat dipengaruhi oleh dua hal yaitu keberadaan senyawa aktif yang bertujuan untuk menghambat pertumbuhan suatu bakteri dan juga kemampuan suatu ekstrak untuk berdifusi ke seluruh bagian media (Gamman,2002). Pada penelitian ini hasil diameter zona hambat yang terbentuk terdapat perbedaan, perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh bakteri itu sendiri, karena setiap bakteri memiliki tingkat kepekaan yang berbeda dan setiap bakteri menghasilkan senyawa antimikroba yang berbeda (Kamila,2016). Sehingga pada penelitian ini, masing- masing ekstrak hasil fermentasi isolat bakteri menghasilkan senyawa antimikroba yang berbeda. Selain itu terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil uji sentivitas diantaranya yaitu, waktu pengeringan, kekeruhan suspensi bakteri, temperatur inkubasi, waktu inkubasi, tebal media dan juga jarak antara paper disc (Gamman, 2002).

Dari penelitian ini menemukan berbagai macam ekstrak hasil fermentasi isolat bakteri yang berbeda. Setelah mendapatkan ekstrak isolat bakteri yang berbeda dilakukan proses identifikasi bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri yang telah ditemukan karena setiap spesies dapat menghasilkan jenis antibiotik yang berbeda. Karena setiap organisme akan menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam satu kingdom saja (Verpoorte, 2000). Metabolit sekunder merupakan senyawa

hasil dari sintesis suatu organisme yang berperan untuk mempertahankan diri dari predator atau organisme lain (Manitto, 1981).

Secara umum metabolit sekunder dapat diklasifikasikan salah satunya menjadi antibiotik. Brock dan Madingan (1991) mengatakan bahwa antibiotik merupakan hasil dari metabolit sekunder yang pada kadar rendah dapat berfungsi sebagai zat penghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bila dibandingkan mikroorganisme terestrial, produk metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme laut berpotensi untuk dikembangkan, salah satunya sebagai antibiotik. Hal ini sesuai dengan pendapat Austin (1988) menyatakan bahwa bakteri laut merupakan suatu organisme yang berpotensi sebagai antibiotik.

Mikroorganisme yang berada di air laut diketahui dapat menghasilkan antibiotik termasuk bakteri, beberapa jenis bakteri yang berada di laut dan berpotensi menghasilkan antibiotik diantaranya yaitu *Micromonospora purpurea* menghasilkan antibiotik Gentamisin, *Penicillium* yang dapat menghasilkan bakteri penisilin, *Streptomyces aureofaciens* penghasil antibiotik tetracycline, *Streptomyces vanezuelae* merupakan bakteri penghasil antibiotik kloramfenikol, *Bacillus polymyxa* bakteri penghasil antibiotik polymyxin serta bakteri *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan bakteri basitrasin (Madingan *et al.*, 1997). Dari hasil penelitian ini masing-masing isolat yang didapat dilakukan proses identifikasi.



Pada Gambar 4.5 menunjukkan bahwa terdapat 6 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari pantai Kenjeran Surabaya. Setelah dilakukan pengamatan, isolat bakteri tersebut memiliki ciri-ciri morfologi yang berbeda.

Berdasarkan penelitian ini hasil pengamatan morfologi secara makroskopis isolat bakteri JM1 warna koloninya berwarna putih bening berbentuk bulat dengan tepi yang rata, elevasi rata dengan media dan berukuran titik kecil. Isolat bakteri JM2 berwarna kuning, berbentuk bulat dengan tepi yang rata, elevasinya *raised* dan berukuran kecil. Isolat bakteri JM3 berwarna putih dengan bentuk yang tidak beraturan, tepi yang rata, elevasi rata dengan media dan berukuran kecil. Isolat bakteri KL1 berwarna putih, berbentuk bulat dengan tepi yang bergelombang, elevasi rata dengan media dan berukuran bulat kecil. Pada isolat bakteri KL2 berwarna kuning berbentuk bulat, dengan tepi yang rata, elevasi rata dengan media dan berukuran bulat kecil sedangkan pada isolat bakteri JA berwarna putih bening, berbentuk bulat dengan tepi yang rata, elevasi rata dengan media dan berukuran besar.

#### 4.3.2 Pengamatan mikroskopis

Pada pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara melihat bentuk morfologi dan juga warna dari isolat bakteri yang ditemukan di Pantai Kenjeran. Pewarnaan gram pada penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh bakteri gram positif dan juga gram negatif. Lapisan peptidoglikan dinding sel yang terdapat pada gram positif lebih tebal dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Pada bakteri gram positif menghasilkan warna ungu, dengan dinding sel yang tebal yaitu sebesar 20-80 nm sehingga sebagian besar tersusun oleh peptidoglikan yang dapat mengakibatkan bakteri gram positif lebih banyak menyerap kristal violet (Prescott et al, 1999).

Sedangkan pada gram negatif akan menghasilkan warna merah, peptidoglikannya mempunyai ketebalan 2-7 nm dengan membran luar dengan tebal 7-8 nm yang tersusun oleh protein, lipid dan juga lipopolisakarida yang mengakibatkan kristal violet yang diserap oleh bakteri gram negatif sangat kecil (Lay, 1994). Hasil uji pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 4.6.



### 4.3.3 Pengujian Aktivitas Biokimia

Pengujian biokimia dilakukan melalui uji aktivitas isolat bakteri dalam memanfaatkan medium untuk pertumbuhan serta aktivitas sel lainnya. Pada pengujian biokimia, jika terjadi perubahan medium yang meliputi warna ataupun indikator lainnya dinyatakan sebagai positif dan jika tidak terjadi perubahan maka disebut negatif. Berdasarkan penelitian ini tentang hasil pengamatan uji biokimia yang meliputi uji indol, MR-VP, Sitrat, Urea, TSIA dan Fermentasi karbohidrat (Glukosa, Laktosa, Maltosa dan Sukrosa), dapat diketahui bahwa masing-masing isolat bakteri mendapatkan hasil yang berbeda.

Pada penelitian ini uji indol bertujuan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam menggradasi asam amino triptofan. Dari hasil tabel diatas hanya isolat bakteri KL2 menunjukkan hasil positif dan isolat lainnya menunjukkan hasil negatif. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna merah (Gambar 4.7b). Uji ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mengandung enzim triptofanase jika menunjukkan hasil yang positif. Sedangkan hasil negatif (Gambar 4.7a) ditandai dengan tidak terbentuk cincin berwarna merah di lapisan atas setelah pemberian pereaksi *kovac*, demikian dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut tidak bisa menguraikan Triptofan















pada uji fermentasi karbohidrat hanya menghasilkan (-) pada uji glukosa.

Berdasarkan hasil dari identifikasi karakteristik isolat JM2 yang disesuaikan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition (Robert S. Breed et al., 1957)* bakteri tersebut sesuai dengan spesies *Klebsiella pneumonia* yang termasuk gram negatif berbentuk batang, membentuk kapsul baik *in vivo* atau *in vitro*, non motil dan pada uji biokimia dapat memfermentasikan laktosa, menunjukkan hasil negatif pada indol serta dapat mereduksi nitrat. Setelah disesuaikan ternyata memiliki kesamaan dengan isolat JM2, sehingga dapat dinyatakan bahwa isolat JM2 termasuk kedalam spesies *Klebsiella pneumonia*

### **c. Karakteristik isolat JM3**

Pada isolat JM3 secara makroskopis memiliki bentuk *irregular* dengan tepi rata, berwarna putih, elevasi rata dengan media dan berukuran kecil. Pengamatan makroskopis isolat JM3 termasuk kedalam gram negatif dengan bentuk batang. Hasil dari uji biokimia isolat JM3 menghasilkan (-) pada indol dan (+) pada MR-VP, sitrat dan juga urea sedangkan pada uji fermentasi karbohidrat hanya glukosa yang menghasilkan (-).

Berdasarkan hasil dari identifikasi karakteristik isolat JM3 yang disesuaikan dengan *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria Third Edition (Borrow &*

Feltham, 1993). bakteri tersebut sesuai dengan spesies *Klebsiella aerogenes* yang merupakan bakteri gram negatif dan merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang 1-3 mikron, bersifat motil. Pada uji biokimia pada bakteri tersebut tidak dapat menghasilkan oksidase, katalase positif, sitrat yang dihasilkan positif serta MR-VP dan juga urea yang positif. Setelah disesuaikan ternyata memiliki kesamaan dengan isolat JM3, sehingga dapat dinyatakan bahwa isolat JM3 termasuk kedalam spesies *Klebsiella aerogenes*.

#### **d. Karakteristik isolat KL1**

Pada isolat KL1 hasil makroskopis menunjukkan bahwa koloni berbentuk bulat dengan tepi bergelombang, berwarna putih, elevasi rata dengan media dan berukuran bulat kecil sedangkan pada pengamatan makroskopis berbentuk batang dengan kategori gram positif. Hasil dari uji biokimia menyatakan bahwa isolat tersebut menunjukkan hasil negatif pada uji indol sedangkan pada pengamatan MR-VP, sitrat dan urea menunjukkan hasil positif serta pada uji fermentasi karbohidrat hanya laktosa menunjukkan hasil negatif.

Berdasarkan hasil dari identifikasi karakteristik isolat KL1 menurut *bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9<sup>th</sup> edition* (Holt et al., 1994) dan *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria Third Edition* (Borrow &

Feltham, 1993) termasuk kedalam spesies *Bacillus lichinoformis* karena uji biokimia yang dihasilkan sama yaitu menunjukkan (-) pada indol, MR-VP (+), sitrat dan urea (+), pada uji fermentasi karbohidrat hanya laktosa yang menunjukkan (-) sedangkan pada glukosa, sukrosa dan maltose (+), termasuk kedalam gram positif dan berbentuk batang. sehingga pada pengamatan ini termasuk kedalam spesies *Bacillus lichinoformis*.

#### e. Karakteristik isolat KL2

Karakterisasi isolat KL2 yang didapat dari penelitian ini secara makroskopis yaitu berbentuk bulat, margin rata, elevasi rata dengan media, bewarna kuning dan memiliki ukuran yang berbentuk bulat kecil, Sedangkan pada pengamatan mikroskopis selnya berbentuk bulat dan merupakan gram negatif. Pada uji biokimia MR-VP menunjukkan hasil positif, sitrat dan urea menunjukkan hasil positif, uji indol negative dan pada uji fermentasi kabohidrat hanya maltose yang menunjukkan positif sedangkan glukosa, laktosa dan juga sukrosa menunjukkan hasil negatif Bakteri dengan ciri tersebut tergolong dalam spesies *Neisseria* sp.

Berdasarkan hasil dari karakteristik isolat KL2 disesuaikan dengan *Bergey's Of Determinative Bacteriology 9<sup>th</sup> edition* (Holt *et al.*, 1994) bakteri dengan ciri berbentuk bulat, berkelompok/berkumpul, gram negatif, bersifat aerob, ukuran

kurang dari 0,5 mm, MR-VP(+), sitrat (+), Urea (+) dan pada pengujian glukosa (-). Setelah disesuaikan ternyata memiliki kesamaan, sehingga dapat dinyatakan bahwa isolat KL2 termasuk kedalam spesies *Neisseria* sp.

#### f. Karakteristik isolat JA

Berdasarkan pengamatan pada penelitian isolat JA termasuk kedalam gram positif dan berbentuk batang, pengamatan makroskopis koloni berbentuk bulat dengan tepi yang rata, berwarna putih bening, elevasi rata dengan media dan berukuran besar. Hasil dari uji biokimia menunjukkan bahwa (-) terhadap uji indol dan VP sedangkan (+) pada pengamatan MR, sitrat dan urea sedangkan pada uji fermentasi karbohidrat hanya laktosa menunjukkan hasil (-).

Berdasarkan hasil dari identifikasi karakteristik isolat bakteri JA yang disesuaikan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition (Robert S. Breed et al., 1957)* dan *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria Third Edition (Borrow & Feltham, 1993)*. bakteri tersebut sesuai dengan spesies *Bacillus megaterium* yang merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, bersifat fakultatif anaerob, dengan menghasilkan endospora, katalase positif, sitrat dan juga urea yang bersifat positif, VP negatif serta dapat menghidrolisis sukrosa. Setelah disesuaikan ternyata

memiliki kesamaan, sehingga dapat dinyatakan bahwa isolat JA termasuk kedalam spesies *Bacillus megaterium*.

Berdasarkan hasil penelitian diatas menurut pustaka Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition* dan pustaka *Bailey & Scott's Diagnostic Mikrobiologi* maka dapat disimpulkan bahwa isolat penghasil antibiotik yang didapatkan di Pantai Kenjeran pada penelitian ini yaitu *Enterobacter gergoviae*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella aerogenes*, *Bacillus lichinoformis*, *Neisseria sp.* dan *Bacillus megaterium*.

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa terdapat berbagai jenis bakteri penghasil antibiotik yang ditemukan beberapa perairan. Zulfiati (2018) menemukan bakteri penghasil antibiotik di Pantai Lemo-Lemo Kabupaten Bulukumba, bakteri penghasil antibiotik yang didapat yaitu *Bacillus firmus*. Tim peneliti dari Pusat Unggulan Iptek Perguruan Tinggi (PUI-PT) juga menemukan bakteri laut *Pseudoalteromonas rubra* yang dapat dikembangkan sebagai antibiotik, bakteri tersebut ditemukan di air laut yang diambil dari Pantai Sebanjar dan Pulau Sika, Kabupaten Alor, Kepulauan Nusa Tenggara Timur (NTT) (Setiyono dkk, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Sunaryanto dkk (2009) yang melakukan isolasi bakteri di Pantai Barat Banten, Pantai Utara

Cirebon dan Pantai Selatan Yogyakarta, Penelitian tersebut berhasil menemukan isolat bakteri dan memiliki aktivitas antibiotik yang paling kuat yaitu pada ekstrak isolat bakteri A11 yang diidentifikasi kedalam spesies *Streptomyces* sp. Sedangkan pada penelitian ini diketahui bahwa hasil dari aktivitas antibiotik tertinggi yaitu pada ekstrak fermentasi isolat bakteri KL1 yang merupakan spesies *Bacillus lichinoformis*.

Rosenfeld & Zobell (1947) juga menyatakan bahwa mikroorganisme yang berada di air laut sebagian besar menghasilkan zat antibakteri yang bersifat antibiotik, genus yang paling banyak ditemukan yaitu *Micrococcus*, *Streptomyces* dan *Bacillus* yang merupakan beberapa dari spesies tersebut dapat menghasilkan antibiotika dari golongan polipeptida. Sedangkan pada penelitian ini beberapa dari spesies tersebut termasuk kedalam golongan bakteri beta laktam dan dapat menghasilkan antibiotika dari golongan basitrasin, antibiotik pada golongan ini mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri lain. Hal ini menunjukkan bahwa air laut berpotensi menghasilkan senyawa metabolit bioaktif sebagai sumber antibiotik.

#### **4.4 Tinjauan Islam Mengenai Mikroba Penghasil Antibiotika**

Pada penelitian ini semua isolat dapat menghambat bakteri patogen, akan tetapi hanya ekstrak dari hasil fermentasi isolat KL1 yang menghasilkan zona hambat yang terbaik. Dari penelitian ini dapat dikatakan bahwa air laut













- Buchanan, RE & Gibbons, NE. 2003. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*. The William & Wilkins Company Baltimore. USA.
- Brown, M.R., C.A. Thompson, CA and F.M. Mohamed. 2005. Systemic Candidiasis in an Apparently Immunocompetent. *J.Vet. Diagn Invest.* 17(3):272-6.
- Cappucino, JG and Sherman. 1983. *Microbiology A Laboratory Manual*<sup>6th ed.</sup> Pearson Education Inc. USA.
- Cappucino, JG and Sherman, N. 2005. *Microbiology A Laboratory Manual*. State University of New York, Rockland Community Collage. New York.
- Chiller, K., Selkin, B.A, Murakawa, G.J. 2001. Skin Microflora and Bacterial Infection of Skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceeding*.
- Dahlan, Sopiudin. 2004. *Statistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Arkans, Jakarta.
- Dean, J. 2009. *Extraction Techniques In Analytical Science*. John Wiley And Sons, London.
- Djide, M. N dan Sartini. 1992. *Mikrobiologi Farmasi Terapan*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Djide, M. N. 2003. *Mikrobiologi Farmasi*. Jurusan Farmasi UNHAS, Makasar.
- Djide, M. N dan Sartini. 2006. *Mikrobiologi Farmasi Dasar*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Djide, M. N dan Sartini. 2008. *Analisis Mikrobiologi Farmasi Dasar*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Dwijoseputro, D. 1987. *Dasa- Dasar Mikrobiologi*. Djambatan Press, Malang.
- Fatoni, Jauhar. 2016. Uji Potensi Isolat Actinomycetes Dari Pasir Pantai Barong Gunung Kidul Yogyakarta Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Gamman. 2002. *Uji Sensitivitas*. EGC, Jakarta.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung.
- Hadioetomo, RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia, Jakarta.
- Hariyati, L., Fachridin, S dan Haryo Triajie. 2010. Studi Komunitas Fitoplankton di Pesisir Kenjeran Surabaya Sebagai Bioindikator kualitas Perairan. *Jurnal Kelautan* Vol 3(2).
- Hemraj, V., Diksha, S., and G.Avenet. 2013. A Review on Commonly Used Biochemical Test for Bacteria. *Innovare Journal of Life Science*. Vol.1 (1): 1-7.
- Holt, J. G., N.R. Krieg, P.H.A. Snealth, J.T. Stanley and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition*. Williams & Wilkins. Maryland, USA. P.559-595.
- Irianto, Koes. 2006. *Menguak Dunia Mikroorganisme*. Yrama Widya, Bandung.
- Jawetz, M. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Jurianti.Fitriana. 2013. Penelusuran Mikroorganisme Penghasil Antibiotika dari Limbah Air Dangke Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *As-Syifaa*. Vol.05(2)140-152.
- Katzung, B.G. 1994. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. EGC, Jakarta.
- Kamila. 2016. Daya Hambat Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. *Data dan Informasi Profil Kesehatan di Indonesia 2018*. Menteri Kesehatan RI, Jakarta.
- Lay, Bibiana W.1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lim, D. 2006. *Microbiology*. McGraw-Hill. New York.
- Locke, Thomas, Keat, S., Walker, A and Mackinnon, R. 2012. *Microbial and Infectious Diseases On the Move*. Diterjemahkan oleh Akbarini, Rizqi 99-111. Indeks, Jakarta.
- Madingan, M.T. 1997. *Biology of Microorganisms*, Eighth Edition. Prentice Hall International, New Jersey. P.459-460.

- Manitto, O. 1981. *Biosintesis Produk Alami*. IKIP Press, Semarang.
- Maulida, R., Guntarti, A. 2015. Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Kandungan Total Antosianin. *Pharmaciana*. 5(1): 9-16
- Mitscher, L.A., Ryey Ping, L. Bathala, MS., Wuwunan, D and Roger W. 1992. *Antimicrobial agents from higher Plants: Introduction, Rational and methodology*.
- Mubarok, Ahmad Z. 2006. *Pendekatan Struktualisme Linguistik dalam Tafsir Al-Qu'an Kontemporer "ala" M.shahrur*. eLSAQ, Yogyakarta.
- Murniasih, Tutik. 2004. Potensi Mikroorganisme Sebagai Sumber Bahan Obat-Obatan dari Laut yang Dapat di Budidayakan. *Oseana*, Volume XXIX (1).
- Muthalib, Tahar. 2007. *Zona-zona Maritim Berdasarkan Konversi Hukum Laut 1982 dan Perkembangan Hukum Laut di Indonesia*, Universitas Lampung, Lampung.
- Naid, T. 1999. *Potensi Bioteknologi dalam Produksi dan Pengembangan Antibiotika Baru Menuju Paradigma Sehat*. Hasanuddin University Press, Makassar.
- Nisak, Khilyatun. 2013. Studi Perbandingan Kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Chlorella* sp. Sebagai Agen Bioremedasi Terhadap logam Berat Timbal (Pb). *Skripsi thesis*. Universitas Airlangga.
- Nur, Qolbiah N. 2010. Karakteristik Senyawa Antibiotika Yang Dihasilkan Oleh Mikroorganisme Dari Air Laut Di Perairan Pantai Solor Kabupaten Flores Timur. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Makassar.
- Nofiani, Risa., Nurbetty, Siti dan Ajuk Sapar. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi dari Pulau Lamukutan, Kalimantan Barat. *E-Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol 1(2) hal 33-41.
- Nontji, Anugrah. 2002. *Laut Nusantara*. Penerbit Djambatan, Jakarta.
- Pleczar, J.M., and Reid, D.R. 1958. *Microbiology*. Mc. Grow – Hill Book Company, New York.
- Pleczar, J.M., and Chan. 2008. *Microbiology*. Mc. Grow – Hill Book Company, New York

- Poosarla, Aparanji., Ramana, V and Murali Krishna. 2013. Isolation of Potent Antibiotic Producing Actinomycetes From Marine Sediments of Andaman and Nicobar Marine Island. *Journal of Microbiology*.Vol.5(1)6-12.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta.
- Proksch P., Edrada R.A., Ebel R. 2002. Drugs from the seas-current status and microbiological implications.*Appl. Microbiol Biotechnol*. Vol 59(1): 125-134.
- Putri, R. W. A. 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada Jajanan Batagor di Sekolah Dasar Negeri di Kelurahan Pisangan, Cirendeu dan Cempaka Putih Kecamatan Ciputat Timur.*Skripsi*.Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.
- Rachman, Saadah, dan Fazli 2016. *Produksi Penisilin oleh Penicillium chrysogenum L112 Dengan Variasi Kecepatan Agitasi Pada Fermentor 1 L*.UNPAD , Bandung Vol.4 No.2.
- Ratna, S. 2012. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT. Gramedia, Jakarta.
- Rifa'I, Muhammad N. 2008. *Tafsir Ibnu katsir Jilid 1*. Gemma Insani, Jakarta.
- Refdanita., Maksum, R., Nurgani, A dan Endang, P. 2004. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*, Vol.8(2)41-48.
- Robert S. Breed, E.G.D. Murray and Nathan R. Smith. 1957. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology Seventh edition*. The Williams and Wilkins Company. United State of America.
- Rosenfeld, W.D & Zobell, C.E. 1947. Antibiotic Production By Marine Microorganisms. Eighth Edition. Prentice Hall International, New Jersey.
- Rostinawati, T. 2008. Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase dari Air Laut di Perairan Pantai Pondok Bali.*Penelitian Mandiri*. Fakultas Farmasi. Universitas Padjadjaran. Jatinagor.hal 22-25.
- Rowe,R.C.,1P.J.Shekey and M.E.Quinn. 2009. *Handbook Of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*. USA: Pharmaceutical press and American pharmacist Association.
- Sari, Syafrina Lubis. 2015. Penapisan Bakteri Laut Penghasil Antimikroba Dari Pesisir Serdang Bedagai Sumatera Utara. *Journal of Islamic Science and Technology*. Vol 1(1)87-93.

- Satriyono, Budi., Simon, B., Widjanarko dan Yunianta. 2012. Heat Stability of Red Fruit Ekstract Color as Potential Source of Natural Pigments. *Journal of Agricultural Technology*. 3(3):157-168.
- Saptaria, Utami. 2013. Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika Dari Air Limbah Pasar Daya Kecamatan Biringkanaya Makassar. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Makassar.
- Sediadi, A dan Esti. 2000. *Keripik Antosianin Ubi Jalar* . Jurusan Teknologi Pangan UNPAD, Bandung.
- Stanbury, P.F., Whitaker, Adan Hall, S.J. 1994. *Media For Industrial Fermentation*. In *Principles of Fermentation technology*. Pergamon Oxford, New York, Tokyo. Pp. 93-122.
- Sugiono, 2018. *Metode Penelitian Kuantitatif*, Is ted. Alfabeta, Bandung.
- Sulistiyaningsih. 2008. Identifikasi Isolat Bakteri Penghasil Zat Antibakteri Dari Cairan Kantung Tanaman Kantung Semar (*Nepenthes ampullaria*, Jack). *Skripsi*. Fakultas Farmasi UNPAD. Bandung.
- Sunaryanto, Rofiq., Marwoto, Bambang dan Tun Tedja Irawadi. 2009. Isolasi dan Penapisan Aktinomicetes Laut Penghasil Antimikroba. *ILMU KELAUTAN*. Vol 14(2) 98:101.
- Sunny, F., Kurniati T,H dan Hatmanti, Ariani. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Senyawa Antibakteri yang Berasosiasi dengan Karang Batu dari Perairan Bitung dan Spons dari Selat Makasar. *BIOMA*. Vol.12(1).
- Susanto., Sudrajat dan R. Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Jurnal Mulawarman Scientifie*. Vol. 11, No.12: 181-190
- Susanti, Awari. 2014. Identifikasi Metabolit Sekunder Pada Beberapa Hewan Laut. Universitas Andalas, Padang.
- Suwandi, Usman. 1989. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Solingan, P., Dean, VM., Wilhelmus, A,H., Christoper, B., Robertus, B., Scott, D and Brian,E. 2001. From a Novel *Streptomyces* Isolated From an East African Soda Lake. *Extremophiles*. Vol5(1) 333-341.
- Umar, Syarif A. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Pertumbuhan *Shigella flexneri*

- Secara In Vitro. *Naskah Publikasi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat.
- Uno, wirnangsi D dan Yuliana retnowati.2013.Biodiversitas Actinomycetes Pada Kawasan Mangrove Desa Bulalo Kecamatan Kwandang Dan Uji Potensi Sebagai Penghasil Antibiotik.*Skripsi*. FMPA Universitas Gorontalo, Gorontalo.
- Ulfa, A., Suarsini, E., dan M. H.I. Al Muhdhar. 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri Pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan. *Procereding Biology Education Conference*. Universitas Negeri Malang.
- Verpoorte, A. W. Alfermann. 2000. *Metabolic Engineering Of Plant Secondary Metabolism*. Springe.ISBN 978-07923-6360-6. Page 1-3.
- Wahyuni, E, A. 2013. *Studi Pendahuluan Kandungan Mikroba dalam Sendimen Permukaan Dasar di Perairan Selat Madura*. Universitas Trunojoyo Madura, Bangkalan, in, pp. 658-661.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- World Health Organization. 2013. *Maternal Mortality*, Switzerland.
- World Health Organization. 2015. *Global Tuberculosis Report 2013*, Switzerland.
- World Health Organization.2017. *Maternal Mortality*,Switzerland.
- Zulfiati, Ahmad. 2018. Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika dari Pasir Pantai Lemo-Lemo Kabupaten Bulukamba dalam Menghambat Beberapa Bakteri Patogen.*Skripsi*.Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.Universitas Islam Negeri Alauiddin Makasar.