



---

**SKRIPSI**

**SKRINING BAKTERI RESISTAN ANTIBIOTIK  
DAN KARAKTERISASI BAKTERI  
KONSORSIUM A<sub>2</sub> DARI LUMPUR LAPINDO**

**NUR AZIZATUN NISA  
NRP 01211540000123**

**Dosen Pembimbing I  
Herdayanto Sulistyono, S.Si, M.Si**

**Dosen Pembimbing II  
Hamdan Dwi Rizqi, S.Si, M.Si.**

**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS SAINS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2019**



---

**UNDERGRADUATE THESIS**

**SCREENING OF ANTIBIOTIC RESISTANCE  
BACTERIA AND CHARACTERIZATION OF A<sub>2</sub>  
CONSORTIUM BACTERIA FROM LAPINDO  
MUD**

**NUR AZIZATUN NISA  
NRP 01211540000123**

**Undergraduate Thesis Advisor I  
Herdayanto Sulistyo Putro, S.Si, M.Si**

**Undergraduate Thesis Advisor II  
Hamdan Dwi Rizqi, S.Si, M.Si.**

**CHEMISTRY DEPARTMENT  
FACULTY OF SCIENCE  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2019**

**SKRINING BAKTERI RESISTAN ANTIBIOTIK DAN  
KARAKTERISASI BAKTERI KONSORSIUM A<sub>2</sub>  
DARI LUMPUR LAPINDO**

**SKRIPSI**

Disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program S-1  
Departemen Kimia  
Fakultas Sains  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

**NUR AZIZATUN NISA**  
**NRP 01211540000123**

**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS SAINS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2019**

## LEMBAR PENGESAHAN

### SKRINING BAKTERI RESISTAN ANTIBIOTIK DAN KARAKTERISASI BAKTERI KONSORSIUM A<sub>2</sub> DARI LUMPUR LAPINDO

SKRIPSI  
Disusun oleh:

NUR AZIZATUN NISA  
NRP 01211540000123

Surabaya, 2 Juli 2019

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



Herdayanto S. Putro, S.Si, M.Si.  
NIP. 19810125 200812 1 001

Dosen Pembimbing II



Hamdan Dwi Rizqi, S.Si, M.Si.  
NPP. 1992201911067

Mengetahui,  
Kepala Departemen Kimia



Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc.  
NIP. 19710616 199703 1 002

*Tulisan ini dipersembahkan untuk  
Papa dan mama sebagai inspirator terhebat  
dan untuk saya yang berhasil melewati  
masa-masa sulit, berkelit dengan diri  
sendiri yang rumit.*

# **SKRINING BAKTERI RESISTAN ANTIBIOTIK DAN KARAKTERISASI BAKTERI KONSORSIUM A<sub>2</sub> DARI LUMPUR LAPINDO**

## **ABSTRAK**

Pada penelitian ini telah dilakukan skrining bakteri resistan antibiotik ampisilin dengan konsentrasi 0,25 ppm dari lumpur Lapindo titik A1 (Lintang Selatan: 7° 31'46,23" dan Bujur Timur: 112° 42'36,83"). Berdasarkan hasil skrining, bakteri konsorsium A<sub>2</sub> telah berhasil diisolasi dan dilakukan pengujian di antaranya, uji pewarnaan gram, pembuatan kurva pertumbuhan, dan uji interaksi konsorsium A<sub>2</sub> dengan jamur uji. Jamur uji yang dipilih adalah *Aspergillus fumigatus*. Uji pewarnaan gram menunjukkan bahwa konsorsium A<sub>2</sub> dominan bakteri gram negatif berbentuk basil. Pada kurva pertumbuhan, diketahui durasi waktu hidup konsorsium A<sub>2</sub> selama 32 jam dengan waktu awal stasioner pada jam ke-12. Pada uji dual kultur tidak didapati adanya interaksi penghambatan pada jamur *Aspergillus fumigatus*.

**Kata kunci:** *antibiotik, bakteri konsorsium, lumpur lapindo, resistensi antibiotik*

# SCREENING OF ANTIBIOTIC RESISTANCE BACTERIA AND CHARACTERIZATION OF A<sub>2</sub> CONSORTIUM BACTERIA FROM LAPINDO MUD

## ABSTRACT

This study was carried out to screen for potential antimicrobial resistance of 0.25 ppm ampicillin from Lapindo mud A1 (South Latitude: 70 31'46,23 "and East Longitude: 1120 42'36,83"). As a result of screening, the A<sub>2</sub> consortium bacteria was successfully isolated and tested, including gram staining test, making growth patterns, and interaction testing of A<sub>2</sub> consortium with fungi. In this study, fungi that chosen is *Aspergillus fumigatus*. The gram staining test showed that the A<sub>2</sub> consortium is dominant a gram-negative bacil bacteria. On the growth curve, it is known the lifetime of the A<sub>2</sub> consortium for 32 hours with the stationary time start at 12 hours. In the dual culture testing result, there was no inhibition interaction with fungi *Aspergillus fumigatus*.

**Keywords:** *antibiotic, antibiotic resistance, consortium bacteria, Lapindo mud*

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi yang berjudul “ **Skrining Bakteri Resistan Antibiotik dan Karakterisasi Bakteri Konsorsium A<sub>2</sub> dari Lumpur Lapindo**”

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Herdayanto Sulistyو Putro, S.Si, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc. selaku Kepala Departemen Kimia yang telah memberikan fasilitas selama penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Hamdan Dwi Rizqi, S.Si, M.Si selaku Dosen Pembimbing dua yang membantu dan mengontrol kerja selama di laboratorium.
4. Keluarga tercinta yang selalu memberi dukungan dan doa.
5. Febrilia, Badzlin, dan Tsabita yang telah setia menemani saya empat tahun.
6. Teman-teman mahasiswa Kimia ITS angkatan 2015, PKM-K, departemen sosmas BEM Fakultas Sains, dan Pasar Malam ITS EXPO yang selalu memberikan semangat untuk mengerjakan naskah skripsi.
7. Semua pihak yang telah membantu penulis.

Semoga Skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 28 Juni 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1.Latar Belakang.....	1
1.2.Rumusan Masalah .....	2
1.3.Tujuan.....	3
1.4.Batasan Masalah.....	3
1.5.Manfaat.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1.Lumpur Lapindo.....	5
2.2.Antibiotik.....	7
2.3.Bakteri .....	9
2.3.1 Bakteri Konsorsium.....	9
2.3.2 Resistensi Antibiotik .....	11
2.4.Metode Isolasi Mikroorganisme .....	13
2.4.1 Teknik Pengambilan Sampel .....	13
2.4.2 Teknik Isolasi Mikroorganisme.....	14
2.5.Uji Identifikasi Mikroorganisme .....	17
2.5.1 Pewarnaan Gram Bakteri.....	17
2.5.2 Uji Interaksi Bakteri .....	18
2.6.Turbidimetri dan Spektrofotometer UV-Vis.....	19
2.7.Kurva Pertumbuhan.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	23
3.1.Alat dan Bahan .....	23
3.1.1 Alat.....	23
3.1.2 Bahan.....	23
3.2. Prosedur Kerja.....	23

3.2.1 Pengambilan Sampel Lumpur .....	23
3.2.2 Pembuatan Media ISP-2 ( <i>International Streptomyces Project-2</i> ).....	24
3.2.3 Pembuatan Larutan Stok Antibiotik .....	24
3.2.4 Preparasi Sampel .....	24
3.2.5 Skrining Mikroorganisme Resistan Antibiotik.....	24
3.2.6 Isolasi dan Pemurnian Isolat Bakteri .....	25
3.2.7 Pembuatan Kurva Pertumbuhan dengan Metode Turbidimetri.....	25
3.3. Uji Pewarnaan Gram .....	25
3.4 Interaksi Bakteri Hasil Isolasi dengan Jamur Uji .....	26
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1. Sampling dan Analisa Sampel Lumpur .....	23
4.2 Preparasi Sampel dan Hasil Skrining Bakteri.....	32
4.3 Hasil Purifikasi Bakteri Konsorsium A <sub>2</sub> .....	35
4.4 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri .....	37
4.5 Uji interaksi bakteri konsorsium A <sub>2</sub> dengan <i>A.fumigatus</i> .....	39
4.6 Kurva Pertumbuhan Bakteri Konsorsium A <sub>2</sub> .....	42
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>45</b>
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran .....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN A: SKEMA KERJA.....</b>	<b>63</b>
<b>LAMPIRAN B: PERHITUNGAN .....</b>	<b>64</b>
<b>LAMPIRAN C: GAMBAR.....</b>	<b>67</b>
<b>BIODATA PENULIS.....</b>	<b>71</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Peta kabupaten Porong, Sidoarjo .....	5
Gambar 2.2 Struktur penisilin .....	8
Gambar 2.3 Struktur ampisilin .....	9
Gambar 2.4 Mekanisme resistensi antibiotik pada bakteri.....	12
Gambar 2.5 Diagram teknik <i>Sampling</i> .....	13
Gambar 2.6 Metode inokulasi cawan sebar.....	15
Gambar 2.7 Metode inokulasi cawan tuang .....	16
Gambar 2.8 Metode inokulasi cawan gores.....	17
Gambar 2.9 Metode <i>dual</i> kultur .....	18
Gambar 2.10 Metode <i>slide</i> kultur .....	19
Gambar 2.11 Kurva pertumbuhan mikroorganismen .....	21
Gambar 3. 1 Ilustrasi uji interaksi bakteri konsorsium A <sub>2</sub> .....	26
Gambar 4.1 Lokasi <i>sampling</i> Lumpur Lapindo dari <i>maps</i> .....	28
Gambar 4.2 Pengukuran pH aliran air titik A2.....	29
Gambar 4.3 Pengukuran suhu aliran air titik A2 .....	29
Gambar 4.4 Lokasi pengambilan sampel A2, A2.1, dan B1 .....	30
Gambar 4.5 Pengukuran suhu aliran air titik A2.1 .....	30
Gambar 4.6 Lokasi <i>sampling</i> lumpur titik A1 .....	30
Gambar 4.7 Skrining bakteri dengan konsentrasi ampisilin 0,25 ppm hari kedua .....	33
Gambar 4.8 Skrining bakteri dengan konsentrasi ampisilin 0,25 ppm hari ketujuh.....	34
Gambar 4.9 Purifikasi bakteri konsorsium A <sub>2</sub> dengan <i>4-streak</i> ..	35
Gambar 4.10 Hasil pewarnaan Gram bakteri perbesaran 1000x.	38
Gambar 4.11 Karakteristik jamur hasil skrining .....	40
Gambar 4.12 Hasil uji interaksi bakteri konsorsium A <sub>2</sub> <i>A.fumigatus</i> .....	41
Gambar 4.13 Kurva pertumbuhan bakteri konsorsium A <sub>2</sub> .....	42

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 4. 1 Data analisa sampel Lumpur Lapindo.....	31
Tabel 4. 2 Morfologi koloni bakteri konsorsium A <sub>2</sub> hasil purifikasi terakhir.....	36

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Sejak ditemukannya antibiotik Penisilin oleh Alexander Fleming pada abad ke-19 (Tan dan Tatsumura, 2015), penemuan senyawa antibiotik lain terus dilakukan. Hal ini diakibatkan beberapa bakteri saat ini telah resisten terhadap setidaknya satu dari senyawa antibakteri yang ada. Bakteri patogen yang resisten terhadap agen antibiotik dapat menimbulkan kerugian dalam bidang kesehatan, yakni resiko biaya pengobatan meningkat, infeksi berkepanjangan, dan resiko kematian meningkat (Fiscbach dan Walsh, 2009).

Antibiotik merupakan obat yang dapat digunakan sebagai pembunuh bakteri atau pencegah tumbuhnya bakteri (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011). Bakteri penghasil antibiotik biasanya resisten terhadap keberadaan antibiotik. Bakteri resisten antibiotik bisa diisolasi dari pantai (Dwyana dan Fahrudin, 2012), tanah (Begum dkk., 2017), lumpur (Sepanian dkk., 2018), mangrove (Permadi dan Zulaika, 2016), dan urin (Kumala dkk., 2009). Isolasi bakteri resisten antibiotik dari tempat yang berbeda dapat menentukan karakteristik dan mekanisme resistensi sel terhadap zat antibiotik yang berbeda pula. Hal ini bisa dipengaruhi oleh adanya metabolit sekunder bakteri yang berbeda karena menyesuaikan dengan habitat dimana dia tinggal.

Hingga saat ini upaya penemuan bakteri dari berbagai lokasi ekstrim masih terus dilakukan. Penemuan tersebut bahkan berlanjut hingga berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri pada wilayah ekstrim, semisal pada kadar garam tinggi, suhu tinggi, suhu rendah, dan tekanan tinggi (Chihomvu dkk., 2014). Bakteri ekstrimofil dideskripsikan sebagai suatu organisme yang dapat beradaptasi dengan lingkungannya melalui optimalisasi proses metabolisme. Mikroba yang hidup di wilayah tersebut memiliki adaptasi yang berbeda sesuai dengan lingkungan tempat hidupnya, hal ini lah yang mengakibatkan semakin beragamnya jenis bakteri

ekstrimofil, di antaranya, bakteri yang hidup di suhu tinggi (*thermophiles*), kadar garam tinggi (*halophiles*), dan pH tinggi (*alkaliphiles*) (Purohit dkk., 2014).

Lumpur lapindo adalah salah satu tempat tujuan isolasi mikroorganisme resisten antibiotik karena memiliki karakteristik yang unik, seperti memiliki sisi suhu ekstrim, kandungan logam berat tinggi, salinitas, dan alkalinitas tinggi. Pada penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi bakteri dari Lumpur Lapindo sebagai agen bioremediasi timbal (Pb) (Rohmah, 2017), biodegradasi Cr(VI) (Ewaldo dan Agus, 2016), bakteri penghasil xilanase (Habibie dkk., 2014), bakteri sebagai agen biostimulan pada tanaman padi (Pracahyo dkk., 2015), dan juga bakteri penghasil antibiotik yang digunakan sebagai larvasida terhadap larva *Aedes aegypti* (Yotopranoto dkk., 2017). Dengan kondisi lingkungan lumpur lapindo seperti itu, kemungkinan besar dapat ditemukan beraneka macam spesies bakteri, salah satunya bakteri resisten antibiotik. Saat ini, masih sedikit penelitian yang berfokus dalam mengisolasi bakteri resisten antibiotik di Lumpur Lapindo.

Data penelitian oleh (Pertiwi dkk., 2015) berhasil mengisolasi bakteri *Streptomyces* dari tanah Lumpur Lapindo pada radius 200 m, 500 m, dan 1 km dengan adanya arahan lokasi dari Badan Penanggulangan Lumpur Sidoarjo (BPLS). Bakteri *Streptomyces* mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa antibiotik yang diperlukan dalam pengobatan infeksi tertentu. Namun, dikarenakan pada tahun 2019 area Lumpur Lapindo yang semakin luas, BPLS terpaksa diberhentikan atas perintah presiden sejak tahun 2017 (Peraturan Presiden Republik Indonesia, 2017). Pada penelitian ini, telah dilakukan isolasi bakteri resisten antibiotik dan karakterisasi bakteri tersebut dari Lumpur Lapindo dengan mempertimbangkan titik lokasi dan kondisi lingkungan Lumpur Lapindo yang berbeda.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Semakin meningkatnya bakteri resisten antibiotik menjadi kesempatan dalam mengisolasi bakteri di beberapa tempat ekstrim.

Di tahun 2019, area Lumpur Lapindo yang semakin luas menjadi tantangan baru dalam menemukan isolat bakteri resistan. Empat tahun lalu telah berhasil diisolasi bakteri penghasil antibiotik dari wilayah Lumpur Lapindo dalam radius 200 m, 500 m, dan 1 km (Pertiwi dkk., 2015). Dari penelitian ini diharapkan dapat mengisolasi jenis bakteri resistan antibiotik dan karakterisasi bakteri tersebut di titik lokasi dan kondisi lingkungan Lumpur Lapindo yang berbeda.

### **1.3. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri resistan antibiotik dan karakterisasi bakteri tersebut di titik lokasi dan kondisi Lumpur Lapindo yang berbeda.

### **1.4. Batasan Masalah**

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada titik lokasi sampling pada titik A1 (Lintang Selatan:  $7^{\circ} 31'46,23''$  dan Bujur Timur:  $112^{\circ} 42'36,83''$ ). Skrining dibatasi pada penambahan antibiotik ampicilin dan uji interaksi antijamur dengan menumbuhkan isolat bakteri bersama *Aspergillus fumigatus*.

### **1.5. Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini antara lain:

1. Memberikan data ilmiah terbaru tentang isolat bakteri resistan antibiotik di titik lokasi dan kondisi Lumpur Lapindo yang berbeda.
2. Menemukan isolat bakteri yang resistan antibiotik untuk memberikan studi lanjut terkait manfaat penghasil antibiotik di masa depan.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Lumpur Lapindo

Pada penelitian ini, diambil sampel dari wilayah lumpur lapindo di kecamatan Porong, kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. Lumpur lapindo biasa dikenal dengan sebutan Lula atau Lumpur sidoarjo (Lusi), terletak pada  $112^{\circ}$  Lintang Selatan dan  $7^{\circ}$  Bujur Timur, sekitar 12 km dari kota Sidoarjo (Gambar 2.1). Kondisi udara di kecamatan Porong cenderung panas, dengan *range* temperatur udara rata-rata pada siang hari sebesar  $33^{\circ}\text{C}$  (Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika, 2019).



Gambar 2.1 Peta kabupaten Porong, Sidoarjo  
(Sumber : terasjatim.com)

Banjir lumpur lapindo berawal dari munculnya semburan lumpur pada lokasi pengeboran minyak bumi sumur Banjar Panji 1 yang dioperasikan oleh PT.Lapindo Brantas Inc (Lapindo) (Elika dkk., 2017). Semburan lumpur pertama kali muncul pada hari Senin, 29 Mei 2006 (Akbar, 2007). Munculnya semburan lumpur ini diakibatkan oleh kelalaian prosedural. Pada saat pengeboran memasuki kedalaman 8.500 kaki, operator seharusnya melakukan pemasangan selubung pengaman (Davies dkk., 2007). Berdasarkan dokumen rapat teknis PT. Lapindo diketahui bahwa saat pengeboran mencapai kedalaman 9.297 kaki, operator tidak

memasang selubung pengaman. Kelalaian ini mengakibatkan letupan gas menekan alat bor sehingga mendorong lumpur naik ke permukaan. (Akbar, 2007).

Luapan lumpur yang muncul ke permukaan banyak mengandung material vulkanis yang disertai gas. Semburan gas tersebut dinamakan *mud volcano* (Mustopo dan Risanti, 2013). Sampai saat ini semburan lumpur masih keluar dengan kapasitas sebesar 30.000 m<sup>3</sup> – 80.000 m<sup>3</sup> per hari dengan suhu di pusat semburan sekitar 100<sup>0</sup>C. Pada tahun 2006-2007 diperkirakan volume lumpur yang keluar dari pusat semburan sebesar 100.000 m<sup>3</sup>/hari dan sempat mengalami penurunan pada Juli 2009 menjadi 75.000 m<sup>3</sup>/hari (Triwulan dkk., 2014). Volume semburan lumpur yang semakin tinggi disebabkan masih tingginya tekanan dari dalam bumi dan pengendalian lumpur yang kurang baik (Lasino dan Setiati, 2017).

Selama proses menyemburnya lumpur, sebanyak 50% material yang dikeluarkan berbentuk padatan yang lama kelamaan akan mengalami pengendapan (Salam, 2017). Sedimen lumpur sidoarjo memiliki sifat fisik berwarna abu-abu kehitaman, butiran halus (Lasino dan Setiati, 2017), dan memiliki tekstur seperti tanah menggumpal. Kandungan tanah lumpur lapindo secara umum berupa *clay* (lempung), *silt* (lanau), dan *sand* (pasir) (Noerwarsito, 2006). Menurut Depudi Bidang TPSA-BPPT tentang hasil analisa kimia lumpur lapindo, terdapat senyawa Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sebanyak 25,07% dan SiO<sub>2</sub> sebanyak 54,92%, hal ini sesuai dengan penampakan sedimen lumpur sidoarjo secara fisik (TPSA-BPPT, 2006). Selain sedimen lumpur, luapan lumpur lapindo memiliki kandungan gas CO<sub>2</sub> sebanyak 9,9-11,3%; CH<sub>4</sub> sebanyak 83-85,4%; dan beberapa gas hidrokarbon lain nya (Mazzini dkk., 2007).

Kandungan sedimen lumpur lapindo yang mengandung mineral cukup tinggi telah dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi. Penelitian terkait pemanfaatan sedimen lumpur lapindo telah dikembangkan sejak awal tahun 2007, beberapa aplikasinya antara lain digunakan sebagai campuran untuk meningkatkan kekuatan genteng keramik (Setyowati, 2009), agregat ringan untuk beton

(Lasino dan Setiati, 2017), adsorben pewarna *acid orange 52* (Kamarudin dkk., 2019), campuran pasta ringan berserat (Triwulan dkk., 2014), dan adsorben untuk pemurnian etanol (Arista, 2011).

Selain digunakan sebagai adsorben dan material bahan bangunan, di sedimen lumpur lapindo juga ditemukan mikroorganisme lain yang bisa diisolasi, seperti jamur, kapang, dan bakteri. Isolat bakteri yang ditemukan di sedimen lumpur lapindo dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi timbal (Pb) (Rohmah, 2017), biodegradasi Cr(VI) (Ewaldo dan Agus, 2016), bakteri penghasil xilanase (Habibie dkk., 2014), bakteri sebagai agen biostimulan pada tanaman padi (Prachayo dkk., 2015), dan juga bakteri penghasil antibiotik yang digunakan sebagai larvasida terhadap larva *Aedes aegypti* (Yotopranoto dkk., 2017). Dengan kondisi lingkungan lumpur lapindo seperti itu, kemungkinan besar dapat ditemukan beraneka macam spesies bakteri, salah satunya bakteri resistan antibiotik.

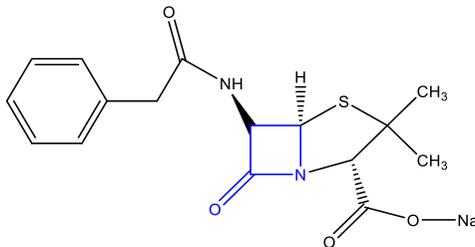
## 2.2. Antibiotik

Antibiotik berasal dari paduan dua kata bahasa asing yakni, *anti* dari Bahasa Inggris yang artinya tidak suka, sedangkan *biōtikos* dari Bahasa Yunani yang artinya sesuatu yang hidup/makhluk hidup. Penggunaan kata antibiotik mulai dikenal luas sebagai kata benda oleh Selman Waksman pada tahun 1941 (Clardy dkk., 2009) jauh setelah antibiotik penisilin ditemukan pertama kali oleh Alexander Flemming pada pertengahan abad 19 (Tan dan Tatsumura, 2015). Selman mendefinisikan antibiotik sebagai senyawa yang dihasilkan dari makhluk hidup untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Antibiotik merupakan obat yang dapat digunakan sebagai pembunuh bakteri atau pencegah tumbuhnya bakteri (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011). Salvarsan merupakan antibiotik pertama di dunia yang berhasil disintesis oleh Ehrlich pada tahun 1910 untuk mengobati sifilis. Senyawa antibiotik yang didapatkan dari hasil sintesis memiliki kelemahan dari segi

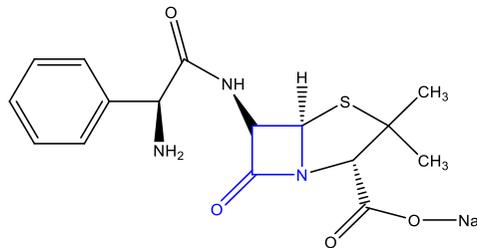
keamanan dan efisiensi (Powers, 2004). Hingga pada tahun 1928, Alexander Flemming menemukan penisilin yang dapat menghambat tumbuhnya bakteri *Staphylococcus aureus* di sekitar jamur *Penicillium*. Berawal dari penemuan penisilin, para peneliti mulai mengembangkan potensi mikroorganisme penghasil antibiotik lain seperti antibiotik streptomisin yang dihasilkan dari mikroorganisme tanah yakni spesies *Streptomyces griseu* (Sagaa & Yamaguchi, 2009).

Beberapa penemuan antibiotik lainnya juga berhasil didapatkan dari mikroorganisme yang diisolasi dari tanah seperti kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida, dan glikopeptida. Selama perang dunia II, peneliti berupaya untuk menemukan potensi penisilin sebagai obat antibakteri hingga didapatkan struktur penisilin pada gambar 2.2. Penemuan penisilin menjadi cikal bakal ditemukannya beberapa antibiotik turunan seperti metisilin, ampisilin, dan piperasilin.



Gambar 2.2 Struktur penisilin

Sebagai contoh, salah satu turunan penisilin didapatkan dari penambahan gugus amino ke dalam molekul benzilpenisilin sehingga menghasilkan ampisilin (Wright & Wilkowske, 1991) seperti yang teramati pada gambar 2.3. Berdasarkan gambar tersebut, dapat diketahui adanya struktur cincin  $\beta$ -laktam pada struktur penisilin dan ampisilin, sehingga kedua antibiotik tersebut dikategorikan dalam antibiotik  $\beta$ -laktam (Kong dkk., 2010).



Gambar 2.3 Struktur ampicilin

Klasifikasi antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya dibagi menjadi 4, yakni menghambat sintesis atau merusak dinding sel bakteri seperti golongan  $\beta$ -laktam, memodifikasi atau menghambat sintesis protein contohnya aminoglikosid, menghambat enzim esensial dalam metabolisme folat seperti trimetoprim, dan mempengaruhi sintesis atau metabolisme asam nukleat contohnya kuinolon (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011).

Antibiotik  $\beta$ -laktam umumnya bersifat bakterisid, dan sebagian besar efektif terhadap organisme gram positif dan negatif. Karena termasuk ke dalam antibiotik  $\beta$ -laktam, penisilin dan ampicilin sama-sama memiliki efek penghambatan sintesa dinding sel mikroba (Raynor, 1997). Antibiotik ini menghambat proses terakhir dalam sintesis peptidoglikan, yaitu proses heteropolimer yang dapat memberikan stabilitas mekanik pada dinding sel bakteri (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011). Ampicilin memiliki aktivitas yang lebih luas terhadap bakteri basil yang memiliki pewarnaan gram negatif aerob daripada penisilin, tetapi saat ini semakin banyak strain bakteri koliform yang resistan terhadap obat (Raynor, 1997).

## 2.3. Bakteri

### 2.3.1 Bakteri Konsorsium

Bakteri berasal dari bahasa Yunani, yakni *bacterion* yang berarti tongkat. Nama bakteri mulai dikenal luas sebagai sekelompok mikroorganisme bersel satu, berkembangbiak dengan

membelah diri, serta berukuran mikroskopis sehingga dapat diamati dengan bantuan mikroskop (Suhartini, 2003). Bakteri merupakan salah satu golongan organisme prokariotik – tidak memiliki selubung inti sel – namun memiliki informasi genetik seperti DNA, meskipun tidak memiliki nukleus dan membran inti (Brooks dkk., 2012).

Selain dikenal sebagai suatu isolat tunggal, bakteri juga bisa ditemukan berupa konsorsium atau sengaja dikonsorsiumkan. Sejak beberapa tahun terakhir telah dikembangkan penemuan bakteri konsorsium untuk memberikan efek yang lebih baik dibandingkan dengan isolat tunggal. Konsorsium bakteri adalah campuran dari berbagai strain bakteri yang mempunyai kemampuan yang sama atau saling melengkapi dan menguatkan dalam menjalankan fungsi tertentu, seperti misalnya konsorsium bakteri probiotik (Zainuddin, 2017), konsorsium bakteri agen bioremediasi (Prayitno, 2017), dan konsorsium bakteri agen biokontrol dan pertumbuhan tanaman (Munif dkk., 2015).

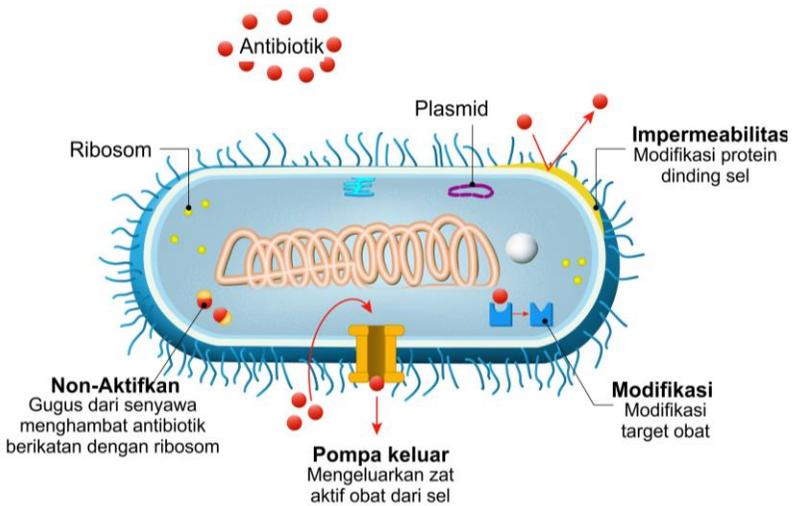
Penelitian yang dilakukan oleh (Kalay dkk., 2016) menghasilkan pupuk hayati yang berisi bakteri konsorsium berupa bakteri pemfiksasi nitrogen (*Azospirillum sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Azotobacter vinelandii*), bakteri pelarut fosfat (*Pseudomonas cepacia*, *Azotobacter chroococcum*) yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman karena menambah nitrogen bebas. Selain bermanfaat di bidang pertanian, bakteri konsorsium juga dapat bekerja bersinergi dalam pengaplikasian di bioremediasi. Seperti penelitian yang dilakukan oleh (Komarawidjaja, 2009) menggunakan konsorsium mikroba untuk mendegradasi limbah minyak mentah. Satu jenis mikroba akan sulit mendegradasi beraneka macam senyawa yang terdapat pada minyak mentah, untuk itulah digunakan konsorsium mikroba karena kerja enzim dari tiap jenis mikroba dapat saling melengkapi untuk dapat bertahan hidup dengan menggunakan sumber nutrisi yang tersedia dalam media mengandung minyak bumi (Okoh, 2006).

### 2.3.2 Resistensi Antibiotik

Resisten diambil dari kata *resist* yang berarti adanya posisi bertahan, berusaha melawan terhadap sesuatu yang lain (Dictionary.com, 2019). Resistom adalah kumpulan gen resistensi antibiotika dan prekursor pada bakteri patogen maupun non-patogen. Beberapa gen resistensi antibiotik dibagi menjadi empat jenis gen, di antaranya, gen resistensi pada bakteri patogen, gen resistensi pada bakteri penghasil antibiotik, gen yang mengkode resistensi untuk menyerang bakteri patogen, dan gen resistensi samar karena tingkat ekspresinya rendah (Sultan dkk., 2018).

Terjadinya resistensi antibiotik dapat diketahui melalui mekanisme kinerja obat, spektrum aktivitas obat, dan sifat mikroorganisme. Beberapa faktor yang mendasari kepekaan mikroorganisme terhadap antimikroba pada keadaan seperti, perubahan permeabilitas sel terhadap antibiotik, penghasil enzim yang dapat mengurai antibiotik, jumlah zat endogen yang bekerja terhadap antibiotik meningkat, dan jumlah reseptor antibiotik pada sel atau komponen yang berubah (Sudigdoadi, 2015).

Sifat resistensi bakteri dapat diperoleh dengan 2 cara yakni secara intrinsik dan diperoleh pada kondisi tertentu, seperti adanya mutasi kromosom atau transfer DNA. Mekanisme resistensi antibiotik pada bakteri dijelaskan pada gambar 2.4, dikutip dari (Bezoen dkk., 2001), sel bakteri dapat memodifikasi target dengan sintesis enzim, mencegah antibiotik masuk dalam sel dengan meningkatkan *efflux* obat, menonaktifasi antibiotik (destruksi antibiotik), dan kegagalan mengubah prekursor inaktif menjadi aktif.



Gambar 2.4 Mekanisme Resistensi Antibiotik pada Bakteri

Sumber: Today.mims.com

Saat ini sudah ditemukan bakteri resisten terhadap antibiotik golongan  $\beta$ -laktam, seperti penisilin, ampicilin, dan sepalosforin. Pada bakteri gram positif, mekanisme resistensi umumnya terjadi akibat perubahan pada target antibiotik. Ikatan *Penicillin-Binding-Protein* (PBP) dirubah oleh bakteri *strain* resisten. Perubahan PBP ini tidak dapat diatasi dengan menggunakan inhibitor  $\beta$ -laktamase (Harniza, 2009). Kelompok bakteri *Actinomycetes* dikenal sebagai bakteri gram positif yang mempunyai kemampuan menghasilkan antibiotik (Jannah, 2013). Mekanisme kinerja antibakteri yang dihasilkan oleh kelompok *Actinomycetes* dengan cara menghambat sintesa protein (E.Mutschler dkk., 1999).

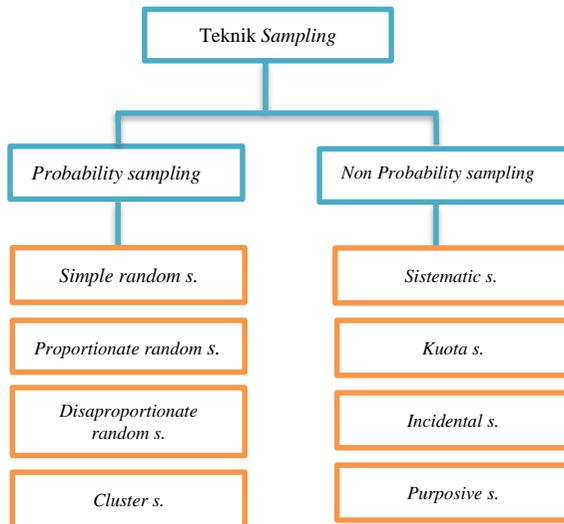
Selain pada bakteri gram positif, sifat resistensi antibiotik  $\beta$ -laktam juga bisa dialami oleh bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif seperti *Proteus mirabilis* dapat memproduksi enzim  $\beta$ -laktamase dalam jumlah cukup tinggi (Sykes & Matthew, 1976).

Enzim ini yang menyebabkan cincin  $\beta$ -laktam pada ampisilin terbuka sehingga merusak aktivitas antibakteri (Sudigdoadi, 2015).

## 2.4. Metode Isolasi Mikroorganisme

### 2.4.1 Teknik Pengambilan Sampel

Sebelum melakukan *sampling* pada suatu lokasi diperlukan pengetahuan khusus tentang teknik pengambilan sampel. Hal ini dilakukan supaya sampel yang diambil dari populasinya merupakan data representatif sehingga diperoleh informasi yang cukup mewakili populasi (Nasution, 2003). Penggolongan terhadap teknik *sampling* dapat dilihat pada gambar 2.5, dimana secara garis besar teknik pengambilan sampel dibagi menjadi 2, yaitu *Probability sampling* dan *Non-Probability sampling* (Sugiyono, 2001).



Gambar 2.5 Diagram Teknik *Sampling*  
(Sumber: Sugiyono, 2001)

Pada teknik pengambilan sampel *probability sampling* yakni pengambilan sampel secara acak, artinya semua sampel memiliki kesempatan yang sama untuk diambil dan dianalisa. Kelebihan pemilihan teknik *Probability sampling* yakni dapat diketahui derajat kepercayaan sampel dapat ditentukan dan dihitung secara statistik (Nasution, 2003). Dibandingkan dengan *Probability sampling*, teknik pengambilan sampel secara *Non-Probability sampling* justru tidak memberi kesempatan yang sama bagi setiap anggota populasi untuk dipilih menjadi sampel (Susilana, 2010). Kelebihan dari teknik pengambilan sampel ini adalah memerlukan biaya yang sedikit dan tidak memerlukan ketepatan yang tinggi (berupa gambaran umum) (Nasution, 2003).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Ritonga, 2018) telah dilakukan isolasi bakteri tanah dengan menggunakan teknik *sampling simple random* dengan pertimbangan peneliti yang bertujuan untuk isolasi mikroba dan mendapatkan nilai maksimum, minimum, dan rata-rata karakteristik mikroba pada suatu areal tertentu berdasarkan analisis statistik (Saraswati dkk., 2007). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh (Pertiwi dkk., 2015) pada lumpur lapindo menggunakan teknik *sampling* yang bertujuan atau disebut *Purposive sampling*. Hal ini diketahui dari beberapa kriteria yang dipaparkan oleh peneliti yakni pengambilan sampel berdasarkan titik lokasi yang sudah ditentukan sebelumnya. Beberapa kriteria yang peneliti tentukan yakni pengambilan sampel dengan radius 200 m, 500 m, hingga 1 km dari pusat semburan lumpur.

## **2.4.2 Teknik Isolasi Mikroorganisme**

Isolasi Mikroorganisme adalah upaya pemisahan mikroba dari lingkungannya di alam dan menumbuhkan sebagai biakan murni dalam media yang telah disesuaikan (Moenir dkk., 2016). Prinsip dasar dari isolasi adalah mendapatkan mikroba dengan cara memisahkannya dari beberapa kumpulan mikroba lain yang terdapat dalam suatu substrat (Yunilas, 2017). Di alam, umumnya

mikroba ditemukan dalam bentuk campuran yang bersimbiosis satu sama lain. Untuk mengisolasi mikroba perlu memperhatikan cara menanam dan menumbuhkan pada medium biakan serta kondisi pertumbuhannya (Jutono dkk.,1980). Beberapa teknik isolasi dan pemurnian mikroba di antaranya,

#### a. *Spread Plate Method*

Metode *spread plate* (cawan sebar) merupakan teknik isolasi mikroba dengan menginokulasikan kultur mikroba dengan menyebar menggunakan *spreader* (gambar 2.6), bisa berupa batang L atau batang T pada permukaan media padat agar mikroba tersuspensi dalam media secara merata (Yunilas, 2017). Sebelum melakukan penyebaran pada media, dipelrukan pengenceran biakan kultur mikroba untuk mengetahui konsentrasi dan jumlah koloni yang terkandung dalam suatu kultur (30-300 koloni). Pada *spread plate* umumnya hanya 0,1 ml kultur mikroba yang ditambahkan karena bertujuan untuk menumbuhkan mikroba di atas permukaan agar (Moenir dkk., 2016).

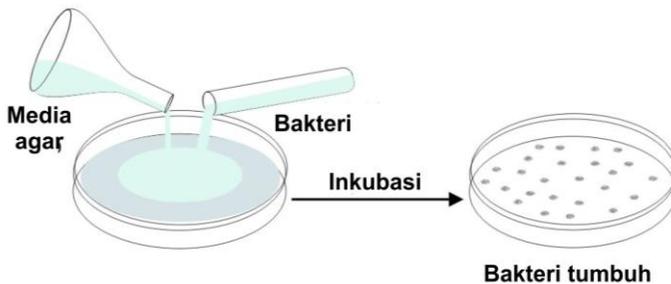


Gambar 2.6 Metode inokulasi cawan sebar  
(Sumber: Patel, 2013)

#### b. *Pour Plate Method*

Metode *pour plate* (cawan tuang) adalah menambahkan kultur bakteri ke dalam media padat yang belum mengeras. Media yang ditambahkan tidak boleh terlalu panas (suhu sekitar 45-50<sup>0</sup>C) agar tidak merusak/membunuh mikroba (Yunilas, 2017). Setelah diinkubasi, akan terlihat mikroba yang tumbuh di dalam, di tengah, atau di permukaan agar (Gambar 2.7). Dari hasil ini dapat diketahui

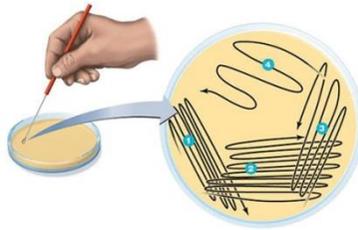
jenis mikroba yang tumbuh berupa anaerob atau aerob berdasarkan kebutuhan  $O_2$  (Dwijoseputro, 2005). Metode *pour plate* memiliki kelebihan di antaranya, pengerjaan lebih mudah, tidak memerlukan peralatan khusus seperti *spreader* dan ose, diperoleh berbagai jenis mikroba aerob dan anaerob, sel dapat dipisahkan karena membentuk koloni terpisah. Kelemahan metode ini adalah kurang efisien dari segi waktu dan biaya (Gilchrist dkk., 1973).



Gambar 2.7 Metode inokulasi cawan tuang  
(Sumber: NaturalGreen)

### c. *Streak Plate Method*

Metode *streak plate* (cawan gores) merupakan metode pemindahan mikroba dengan cara menggoreskan ose atau jarum inokulasi dari kultur mikroba ke media padat (Yunilas, 2017). Metode ini kuadran 4-*streak* biasanya paling umum digunakan dalam mengisolasi mikroorganisme yang diinginkan (Gambar 2.8). Beberapa tipe goresan pada metode ini di antaranya, sinambung, radian, kuadran, dan goresan T (Van Soestberge & Chingo, 1969). Kelebihan dari metode gores ini adalah menghemat bahan dan waktu.



Gambar 2.8 Metode inokulasi cawan gores  
(Sumber: Microbenotes)

## 2.5. Uji Identifikasi Mikroorganisme

### 2.5.1 Pewarnaan Gram Bakteri

Salah satu metode yang digunakan dalam mengidentifikasi suatu bakteri adalah melalui pewarnaan gram. Pewarnaan gram merupakan pewarnaan dasar yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi (Rahayu & Gumilar, 2017). Berdasarkan klasifikasi menurut Hans Christian Gram yang didasarkan pada perbedaan respon terhadap prosedur pewarnaan gram dan struktur dinding sel, bakteri dibagi menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Dinding sel bakteri gram positif hanya memiliki satu lapisan yaitu lapisan peptidoglikan yang tebal, sedangkan sel bakteri gram negatif memiliki dua lapisan dinding sel, yaitu lapisan liposakarida dan lapisan peptidoglikan tipis (Timothius, 1982).

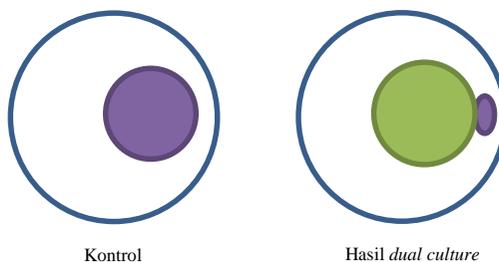
Pada pewarnaan gram dapat diketahui bentuk morfologi sel bakteri dan penggolongan bakteri gram. Untuk mendapatkan hasil penggolongan bakteri gram yang valid, maka terlebih dahulu perlu didapatkan isolat murni. Menurut (Hidayat, 2011), sel bakteri ditambahkan pada kaca objek dalam keadaan sudah di-inaktifkan, kemudian ditambahkan pewarna kristal violet. Bakteri akan menyerap warna ungu dan ketika pencucian dengan aseton, bakteri gram positif akan mengikat pewarna ungu dari kristal violet sehingga sel akan terlihat berwarna ungu di mikroskop. Untuk

bakteri gram negatif akan terlihat berwarna merah muda akibat penambahan pewarna safranin (Rahayu & Gumilar, 2017).

### 2.5.2 Uji Interaksi Bakteri

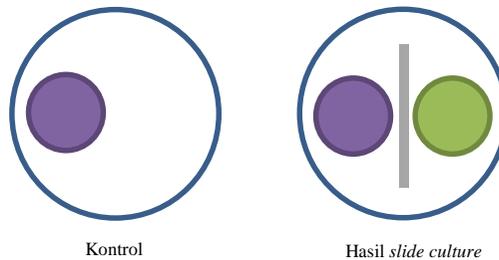
Analisis interaksi antara jamur dengan bakteri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri pada pertumbuhan jamur. Uji interaksi ini bisa juga disebut sebagai uji antagonis. Antagonisme merupakan sifat organisme yang menyebabkan kerugian bagi mikroorganisme lain yang tumbuh berasosiasi secara bersama. Bentuk antagonisme tersebut bisa terjadi karena adanya kompetisi nutrisi dan ruang yang terbatas, antibiosis hasil sekresi antibiotik atau senyawa yang dihasilkan mikroorganisme, dan sifat mikroorganisme yang predator, hiperparasit atau mikroparasit.

Uji antagonis secara *in vitro* dibagi menjadi 2 metode, yaitu metode *dual* kultur dan *slide* kultur. Metode *dual* kultur modifikasi menurut (Singh & Vijay, 2011), yakni 2 koloni mikroorganisme ditumbuhkan berdampingan dengan jarak tertentu dalam 1 cawan petri (Gambar 2.9). Penelitian (Singh & Vijay, 2011) dilakukan dengan cara menkulturkan secara bersamaan jamur *Fusarium* dan *Trichoderma*.



Gambar 2.9 Metode *dual* kultur

Pada metode *slide* kultur dilakukan untuk mengetahui mekanisme mikroparasit antara kedua mikroorganisme (Dwiastuti dkk., 2015). Pada metode ini, ditambahkan *slide* glass sebelum memadatkan media agar (Gambar 2.10).



Gambar 2.10 Metode *slide* kultur

## 2.6. Turbidimetri dan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan instrumen yang mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet (Dachriyanus, 2004) melalui cahaya tampak yang diabsorpsi oleh molekul di dalam larutan (Yanlinastuti & Fatimah, 2016). Sampel larutan bisa berupa larutan, gas, atau uap. Panjang gelombang maksimal pada analisa ini dapat diketahui berdasarkan jenis pelarutnya (Suhartati, 2017). Beberapa komponen yang ada dalam instrumentasi spektrofotometer UV-Vis adalah sumber sinar, monokromator, sel, detektor dan rekorder (Zackiyah, 2013).

Penggunaan spektrofotometer UV-Vis dapat dikaitkan dengan turbidimetri. Prinsip dasar turbidimetri didasarkan pada kekeruhan akibat adanya suspensi partikel dalam larutan (Zega dkk.,2017). Metode pengukuran turbiditas dilakukan terhadap pengukuran efek ekstingsi yakni ketika cahaya mulai tidak terlihat dalam lapisan medium yang keruh. Dasar pengukuran inilah yang menjadikan analisa turbidimetri umum diaplikasikan dalam biokimia, sebagai contoh, pengukuran biomassa pada jamur berhubungan dengan

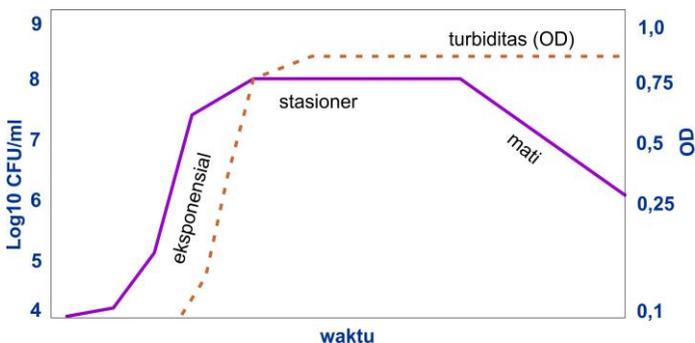
*Optical Density* (OD) dalam pengujian resistensi terhadap filamen jamur lain secara in-vitro (Meletiadis dkk.,2003). Turbidimetri juga digunakan dalam pembuatan kurva pertumbuhan mikroorganismenya. Dengan adanya turbidimetri, dapat diketahui secara detail pertumbuhan masing-masing mikroorganismenya dan fase stasioner selama kurva pertumbuhan (Meletiadis dkk., 2001).

## **2.7. Kurva Pertumbuhan**

Pertumbuhan organisme prokariot seperti bakteri, biasanya mengikuti pola pertumbuhan tertentu dan melibatkan penambahan volume sel, ukuran sel, dan jumlah sel (Kusnadi, 2003). Kurva pertumbuhan tidak mengamati penambahan ukuran dan volume sel, tetapi berkaitan dengan bertambahnya jumlah sel (Echeverri, 2015). Kurva pertumbuhan bakteri didapatkan dari plot data pertumbuhan bakteri dalam sistem tertutup (sistem *Batch*) tanpa penambahan media selama beberapa waktu tertentu (Sari, 2008).

Pertumbuhan bakteri dapat diketahui dengan dua macam pengukuran, yaitu metode turbidimetri dengan spektrofotometer UV-Vis dan metode hitungan cawan. Metode turbidimetri memiliki keuntungan yaitu mudah dilakukan, data absorbansi dapat dengan cepat diketahui, dan selama prosesnya tidak merusak sampel (Maia dkk., 2016). Kelebihan pada metode hitungan cawan yakni dapat mengetahui jumlah sel yang hidup dan yang terlihat oleh mata, sedangkan pada metode turbidimetri tidak dapat diketahui jumlah sel hidup dan sel mati (Mytilinaois dkk., 2012). Prinsip dasar spektrofotometer adalah mengetahui tingkat kekeruhan (turbiditas) dengan menghitung banyaknya cahaya yang bisa menembus suspensi sel. Semakin banyak sel dalam suspensi, maka suspensi semakin keruh, sehingga sedikit cahaya yang dapat melewati suspensi (Joseph, 2017).

Pada gambar 2.11 dapat diketahui kurva pertumbuhan metode turbidimiteri menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan metode hitungan cawan (CFU), dimana pada sumbu x adalah waktu, sedangkan sumbu y adalah log CFU/ml dan besar *optical density*. Kurva pertumbuhan dibagi ke dalam 4 fase (tahap), di antaranya, fase lag (*lag phase*), fase pertumbuhan eksponensial (*log phase*), fase stasioner (*stationary phase*), dan fase kematian (*death phase*) (Kusnadi, 2003). Fase lag menunjukkan bahwa bakteri masih berada pada kondisi konstan atau baru mengalami proses inokulasi. Fase pertumbuhan eksponensial menunjukkan pertumbuhan bakteri yang cepat dan meningkat. Pada fase stasioner dapat diketahui kecepatan pertumbuhan bakteri sudah tidak secepat fase pertumbuhan eksponensial, hal ini diakibatkan jumlah bakteri dan media yang dikonsumsi jumlahnya berimbang sehingga terjadi kompetisi antar bakteri sehingga terjadi jumlah yang konstan antara bakteri yang mati dan hidup. Fase terakhir adalah fase kematian, dimana tidak ada lagi pertumbuhan bakteri dan adanya kecepatan kematian yang konstan (Listyawati, 2017).



Gambar 2.11 Kurva pertumbuhan mikroorganisme  
Sumber. (Listyawati, 2017)

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tabung *falcon* steril, *thermo box*, *magnetic stirrer*, *refrigerator*, cawan patri, jarum ose, pemanas api spiritus, *Laminary air flow* (Hotpack 524042), *autoclave* (GEA LS-50 LJ), inkubator, pipet tetes, pipet ukur, pinset, gelas ukur 1000 ml, pipet ukur (1 ml dan 10 ml), neraca analitik (Ohaus Pioneer PA214), erlenmeyer, labu ukur 1000 ml, pH meter, *sentrifuge*, pipet mikro, tip biru, botol ampul, sendok besi, tutup spons, gelas beaker, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S), *autosshaker* (New Brunswick Scientific E25).

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel lumpur Lumpur Lapindo titik A1 (Lintang Selatan:  $7^{\circ} 31'46,23''$  dan Bujur Timur:  $112^{\circ} 42'36,83''$ ), alkohol 70%, media *nutrient agar* (NA) dari Merck, *Dextrose* dari SAP, *agar* dari Merck, *Yeast extract* dari Himedia, *Malt extract* dari Merck, air destilat, tablet antibiotik ampisilin trihidrat Generik dari Kimia Farma, media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dari Merck, paper disk, stok jamur *Aspergillus fumigatus* yang diambil dari koleksi Laboratorium Mikroorganisme Kimia Fakultas Sains ITS.

#### **3.2. Prosedur Kerja**

##### **3.2.1 Pengambilan Sampel Lumpur**

Pengambilan sampel dilakukan di dekat sumber luaran lapindo. Lokasi pengambilan sampel pertama di titik A1. Titik A1 berada pada titik  $7^{\circ} 31'46,23''\text{S}$  dan  $112^{\circ} 42' 36,83''\text{E}$ . Sampel lumpur diambil dari kedalaman  $\pm 20$  cm dari permukaan (Bala dkk., 2012), sedangkan sampel air diambil dari aliran air kecil yang me-

ngalir di sekitar sumber luaran. Selanjutnya sampel dipindahkan dalam tabung *falcon* dan disimpan dalam *ice box*. Pengukuran parameter kimia dan fisika pada sampel yang diamati adalah suhu dan pH.

### **3.2.2 Pembuatan Media ISP-2 (International Streptomyces Project-2)**

Media padat ISP-2 dibuat dengan melarutkan 1 gram *yeast extract*; 1,25 gram *malt extract*; 1 gram *d- glucose*; dan 5 gram agar ke dalam 250 mL aquades. Selanjutnya media tersebut di-*autoclave* pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit (Ayari dkk., 2011).

### **3.2.3 Pembuatan Larutan Stok Antibiotik**

Stok antibiotik konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 0,1 gram Ampisilin, kemudian ampisilin tersebut ditambahkan aquades steril sampai 100 mL.

### **3.2.4 Preparasi Sampel**

Sampel padatan dari sampel lumpur lapindo titik A1 dalam tabung *falcon* diambil sebanyak 0,5 gram kemudian dilarutkan dalam 50 mL aquades steril di tabung *falcon* (komposisi: 1 gram sampel dalam 100 mL aquades steril) (Ayari dkk., 2011).

### **3.2.5 Skrining Mikroorganisme Resistan Antibiotik**

Skrining mikroorganisme tahan antibiotik dilakukan dengan variasi konsentrasi antibiotik ampisilin sebesar 0,01; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 100 µg/mL. Metode yang dilakukan adalah metode *pour plate*. Sebanyak 1 mL sampel dituang pada media yang telah ditambahkan antibiotik. Mikroorganisme resistan terhadap antibiotik akan diketahui setelah diinkubasi selama 7 hari pada suhu 35 <sup>0</sup>C (Bala dkk., 2012).

### 3.2.6 Isolasi dan Pemurnian Isolat Bakteri

Setelah didapatkan mikroorganismenya yang resistan terhadap antibiotik, dilakukan isolasi bakteri. Isolasi bakteri dilakukan dalam media agar ISP-2 dengan cara *streak-4 kuadran* (Ayari dkk., 2011). Hasil purifikasi dilakukan pemindahan berulang sampai didapatkan isolat tunggal.

### 3.2.7 Pembuatan Kurva Pertumbuhan dengan Metode Turbidimetri

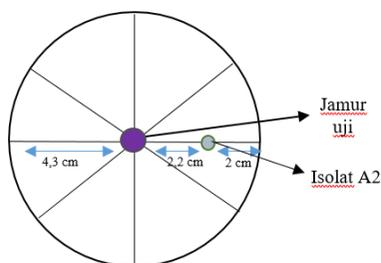
Sebanyak satu ose dari biakan konsorsium A<sub>2</sub> masing-masing diinokulasikan pada 10 mL media *ISP-broth*. Selanjutnya, media *ISP-broth* berisi bakteri konsorsium A<sub>2</sub> di-*shaker* pada kecepatan 150 rpm dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Sebanyak 1 mL dari biakan diinokulasikan ke dalam 400 mL media cair dan di-*shaker* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu ±35 °C (Bindu dkk., 2017). Absorbansi media cair berisi biakan bakteri diukur setiap dua jam menggunakan spektrofotometer spektronik 20 D pada  $\lambda=600$  nm.

### 3.3. Uji Pewarnaan Gram

Satu ose konsorsium A<sub>2</sub> diletakkan di kaca preparat kemudian dibakar di spiritus. Diteteskan 2-3 tetes pewarna *crystal violet*, lalu didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan aquades. Selanjutnya, pada kaca preparat bilasan aquades, ditetaskan iodine sebanyak 2-3 tetes, didiamkan selama 1 menit, lalu bilas dengan aquades. Sebagai pewarna tandingan pewarna *crystal violet*, pada kaca preparat ditetaskan safranin sebanyak 2-3 tetes, diamkan 1 menit. Terakhir, ditetaskan aseton sebanyak 2-3 tetes pada kaca preparat, lalu diamkan 30 detik, dibilas sampai bersih dengan aquades. Kaca preparat diletakkan di mikroskop untuk mengetahui morfologi dan jenis gram bakteri (Rao, 2006).

### 3.4 Interaksi Bakteri Hasil Isolasi dengan Jamur Uji

Analisis interaksi ini dilakukan dengan cara diambil 1 plug (9 mm diameter) masing-masing miselium jamur uji *Aspergillus fumigatus* yang telah dipre-inkubasi dan diinokulasikan ke dalam media ISP dalam cawan petri diameter 8,5 cm dengan posisi di tengah cawan petri. Selanjutnya, bakteri yang telah di pre-inkubasi diinokulasikan ke dalam petri dengan jarak 2,2 cm dari plug miselium jamur uji. Posisi kultur dikondisikan seperti pada Gambar 3.1. Masing-masing kultur selanjutnya diinkubasi pada suhu  $\pm 35$  °C (Kamei dkk., 2011).



Gambar 3.1 Ilustrasi uji interaksi bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dan jamur uji

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

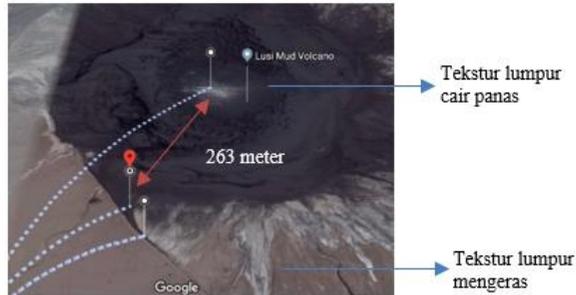
#### **4.1. Sampling dan Analisa Sampel Lumpur**

Pada penelitian ini, sampel lumpur dan air dikumpulkan dari wilayah Lumpur Lapindo radius  $\pm 250$  meter dari pusat semburan lumpur. Teknik *sampling* yang digunakan oleh penulis adalah *Purposive Sampling*. Definisi teknik *Purposive Sampling* adalah teknik penentuan sampel dengan pertimbangan peneliti yang telah menentukan kriteria tertentu yang ada pada sampel yang diambil (Sugiyono, 2015). Kelebihan teknik *Purposive Sampling* adalah dapat menghemat waktu, hasil yang didapat cepat, dan tidak perlu ketepatan yang tinggi karena berupa gambaran umum (Nasution, 2003). Alasan pemilihan teknik *sampling* ini karena keterbatasan akses dalam menjangkau wilayah Lumpur Lapindo yang lebih dari 640 hektar (disampaikan oleh Presiden Direktur Lapindo Brantas, Inc; Dharma Irawan Jenie dalam kuliah tamu (Universitas Bakrie, 2014) dan beberapa titik lokasi yang tidak memungkinkan untuk dilewati baik dengan kendaraan maupun berjalan kaki.

Dalam melakukan teknik *Purposive Sampling* pada penelitian ini, beberapa kriteria yang ditentukan oleh penulis adalah,

- 1) Lokasi *sampling* berada pada titik yang unik, seperti contoh, dekat dengan aliran air, mendekati titik semburan lumpur, dan batas maksimal lokasi dapat diakses dengan berjalan kaki.
- 2) Suhu sampel berada pada 30-35<sup>0</sup>C

Kriteria tersebut sangat diperlukan untuk mengetahui adakah perbedaan hasil dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya.



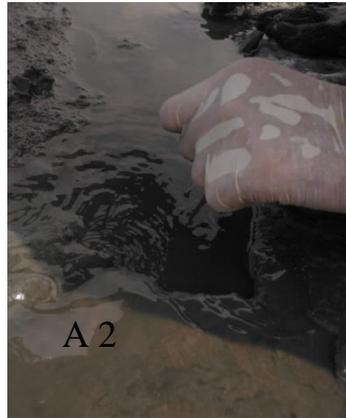
Gambar 4.1 Lokasi *sampling* Lumpur Lapindo dari *maps*  
 Sumber: data penulis

Sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan, maka dipilih titik lokasi yang memenuhi kriteria tersebut. Pada gambar 4.1. melalui pusat satelit *maps* diketahui jarak dari titik lokasi *sampling* ke pusat semburan lumpur sekitar 263 meter. Titik tersebut merupakan batas maksimal lokasi dapat diakses dengan berjalan kaki karena tekstur lumpur yang cair (belum mengeras) di sekitar pusat semburan lumpur. Untuk masing-masing lokasi diberi kode titik A1, A2, A2.1, dan B1. Pengukuran parameter pH dan suhu dilakukan menggunakan kertas lakmus dan termometer.

Titik dengan kode A2 (Gambar 4.2 dan 4.3) diambil berupa sampel air dari sungai kecil di dekat longsor lumpur, sedangkan titik dengan kode A2.1 (Gambar 4.6) diambil dari aliran air yang mengalir dari pusat semburan lumpur yang terbawa air hujan. Titik dengan kode B1 (Gambar 4.4) merupakan sampel lumpur yang diambil di sekitar aliran air tersebut. Titik dengan kode A1 (Gambar 4.5) berada pada titik yang unik karena mendekati titik semburan lumpur dan batas maksimal titik dapat diakses dengan berjalan kaki.



Gambar 4.3 Pengukuran suhu aliran air titik A2



Gambar 4.2 Pengukuran pH aliran air titik A2

Semua sampel diambil pada kedalaman 10-15 cm dari permukaan tanah untuk mengurangi adanya kontaminan bakteri dari udara sehingga didapatkan isolat bakteri yang berasal dari lumpur (Fitriani dkk., 2016). Pengambilan sampel padat harus menggunakan peralatan aseptis atau yang sudah disterilisasi untuk mengurangi kontaminasi dari peralatan ke sampel (Muramatsu & Maruyamma, 2006). Sampel disimpan dalam *falcon tube* dan diletakkan dalam *ice box* yang telah diberi es kering. Tujuan penyimpanan sampel dalam *ice box* dengan penambahan es kering (suhu  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) adalah untuk menghindari rusaknya sampel hingga tidak bisa dianalisa di laboratorium (U.S. Geological Survey TWRI, 1997).



Gambar 4.4 Lokasi pengambilan sampel A2, A2.1, dan B1



Gambar 4.6 Lokasi sampling lumpur titik A1



Gambar 4.5 Pengukuran suhu aliran air titik A2.1

Setelah melakukan pengambilan sampel, maka didapatkan data pengukuran seperti terlampir pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data analisa sampel Lumpur Lapindo

Jenis sampel	Kode lokasi	Titik koordinat	pH	Suhu
Lumpur	A1	LS*: 7 <sup>0</sup> 31'46,23" BT*: 112 <sup>0</sup> 42'36,83"	7	31 °C
	B1	LS*: 7 <sup>0</sup> 31'49,9" BT*: 112 <sup>0</sup> 42'39,4"	7	34 °C
Air	A2	LS*: 7 <sup>0</sup> 31'46,6" BT*: 112 <sup>0</sup> 42'36,9"	7,5	35 °C
	A2.1	LS*: 7 <sup>0</sup> 33'18,21" BT*: 112 <sup>0</sup> 42'29,85"	7	35 °C

\*BT: Bujur Timur

\*LS: Lintang Selatan

Berdasarkan tabel 4.1, hampir semua sampel lumpur dan air memiliki pH sekitar 7, kecuali untuk sampel air di titik A2. Pada penelitian sebelumnya, telah diukur pH sampel lumpur lapindo yang terletak pada titik koordinat Lintang Selatan 7<sup>0</sup> 32'05,82" dan Bujur Timur 112<sup>0</sup> 42'27,40" (dekat dengan sungai Porong) memiliki pH 7 (Juniawan dkk., 2013). Pada titik lain, Juniawan juga menunjukkan data uji pH sampel yang diperoleh sekitar 6,9-7. Hal ini berbeda dengan hasil temuan di titik lokasi sungai Porong (Ridwan & Abdurahman, 2016) memperlihatkan pH lumpur lapindo bersifat basa dengan kisaran pH 8. Ini artinya dalam lokasi lumpur lapindo dengan titik yang berbeda dapat diketahui bahwa kandungan kimiawi dan pH pada lumpur dan air di setiap titik berbeda. Perbedaan pH di beberapa titik dapat disebabkan oleh beberapa hal di antaranya, gas-gas dalam air seperti CO<sub>2</sub>, konsentrasi garam-garam karbonat dan bikarbonat (Yulis, 2018),

pencemaran logam, dan fluktuasi kandungan O<sub>2</sub> (Rukminasari dkk., 2014).

Selain pengukuran pH, diperlukan pengukuran suhu untuk mengetahui jenis bakteri yang berbeda. Suhu merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Zubaidah, 2000). Pada umumnya, pembagian mikroorganisme berdasarkan suhu optimum pada lingkungan hidupnya dibagi menjadi 4, yakni psikrofil (0-20<sup>0</sup>C), mesofil (20-50<sup>0</sup>C), termofil (45-65<sup>0</sup>C), dan hipertermofil ( $\geq 90^0\text{C}$ ) (Prescott, 2005). Berdasarkan Tabel 4.1, semua sampel berada dalam *range* suhu 31-35<sup>0</sup>C, maka kemungkinan adanya jenis bakteri mesofil yang ada pada sampel tersebut. Perbedaan pH dan suhu pada penelitian ini menyebabkan adanya keragaman mikroorganisme yang hidup pada setiap titik lokasi. Hal ini disebabkan karena untuk masing-masing mikroorganisme memiliki batas toleransi yang berbeda terhadap adanya variasi kondisi (Rohmah, 2017).

#### **4.2 Preparasi Sampel dan Hasil Skrining Bakteri**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel lumpur pada titik A1. Sebanyak 0,5 gram sampel lumpur dilarutkan dalam 50 ml aquades steril kemudian dikocok dan didiamkan selama beberapa menit sebelum dituang dalam media yang sudah ditambahkan antibiotik. Metode isolasi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode *pour plate*. Metode *pour plate* (cawan tuang) merupakan teknik menumbuhkan mikroorganisme dengan mencampurkan media agar dengan stok kultur bakteri secara bersamaan agar tumbuh secara merata di permukaan atau di dalam agar (Prescott, 2005). Metode *pour plate* digunakan dalam skrining bakteri untuk mengetahui kemungkinan tumbuhnya posisi mikroorganisme yang hidup di dalam agar atau di tengah agar. Hal ini bertujuan untuk menggolongkan bakteri berdasarkan toleransi terhadap O<sub>2</sub> termasuk ke dalam organisme aerob, anaerob, aerob obligat atau aerob fakultatif. Organisme aerob dapat hidup memerlukan oksigen, organisme anaerob hidup dalam kadar oksigen yang sedikit atau bahkan tanpa oksigen, organisme aerob

obligat hanya hidup jika terdapat oksigen, dan organisme aerob fakultatif dapat hidup dengan atau tanpa oksigen (Anandani, 2017).

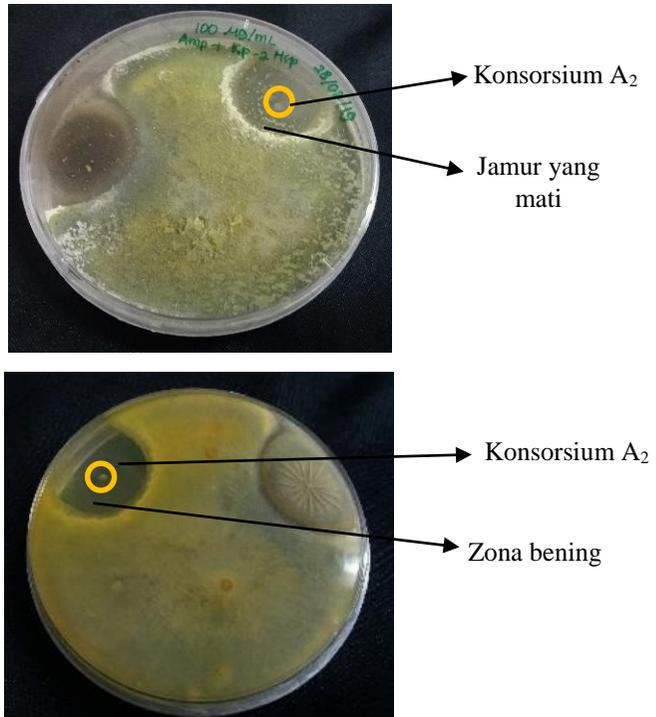
Pada penelitian ini, penulis menseleksi mikroorganisme menggunakan antibiotik ampisilin secara duplo. Setelah diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37°C, didapatkan beraneka macam mikroorganisme yang tumbuh. Salah satu hasil yang menarik perhatian penulis adalah petri pada konsentrasi ampisilin sebesar 0,25 ppm. Pemilihan pada petri konsentrasi ampisilin sebesar 0,25 ppm didasarkan karena munculnya jamur dan bakteri yang cukup beraneka ragam dan berbeda warna pada hari kedua (Gambar 4.7), sehingga penulis mengira salah satu dari mikroorganisme tersebut termasuk dalam kelompok bakteri *Actinomycetes* yakni kelompok bakteri resisten dan penghasil antibakteri. Ciri-ciri bakteri kelompok *Actinomycetes* yang umum secara morfologi adalah koloni kecil dengan diameter 2-3 mm, berbulu halus di sekitar koloni, membentuk pigmen, dan berspora (Pertiwi dkk.,2015).



Gambar 4.7 Skrining bakteri dengan konsentrasi ampisilin 0,25 ppm hari kedua

Pada hasil skrining dengan penambahan konsentrasi ampisilin sebesar 0,25 ppm didapatkan 3 jenis mikroorganisme yang dominan, di antaranya jamur berwarna hitam, jamur berwarna

hijau, dan bakteri. Jamur hitam dan bakteri memiliki aktivitas penghambatan terhadap jamur hijau, hal ini dapat dilihat pada (Gambar 4.8) adanya zona bening sebagai bentuk proteksi 2 jenis mikroorganisme tersebut terhadap jamur berwarna hijau.



Gambar 4.8 Skrining bakteri dengan konsentrasi ampisilin 0,25 ppm hari ketujuh

### 4.3 Hasil Purifikasi Bakteri Konsorsium A<sub>2</sub>

Setelah diketahui adanya potensi antijamur dan resistensi antibakteri pada bakteri konsorsium A<sub>2</sub>, perlu dilakukan purifikasi untuk mendapatkan isolat tunggal. Setelah dilakukan pemindahan berulang, belum didapatkan koloni tunggal sehingga suatu kesatuan koloni ini disebut sebagai bakteri konsorsium. Hasil purifikasi bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dilihat pada gambar 4.9.



Gambar 4.9 Purifikasi bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dengan 4-streak

Purifikasi koloni dilakukan dengan cara, diambil 1 ose koloni bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi medium agar ISP-2 steril, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Media ISP-2 digunakan dalam purifikasi dikarenakan pada proses skrining di awal menggunakan media yang sama. Media ISP-2 atau dikenal sebagai *International Streptomyces Project-2* digunakan untuk isolasi bakteri *Actinomycetes* (Singh dkk., 2018). Setelah dilakukan purifikasi berulang, pada Tabel 4.2 dapat diamati karakteristik bakteri konsorsium A<sub>2</sub> secara morfologi (non-mikroskopis).

Tabel 4.2 Morfologi koloni konsorsium A<sub>2</sub> hasil purifikasi terakhir

Identifikasi awal	Morfologi bakteri Konsorsium A <sub>2</sub>
Bentuk	Bulat
Kelimpahan Pertumbuhan	Banyak
Letak Pertumbuhan	Permukaan agar
Permukaan	Mengkilap
Tepi	Rata
Konsistensi	<i>Butterlike</i> *
Pigmentasi	Putih-kuning
Elevasi	Timbul
Distribusi media cair	<i>Uniform</i> *

\**butterlike*: mudah diambil dengan ose

\**uniform*: pertumbuhan di media agar tersebar di seluruh agar

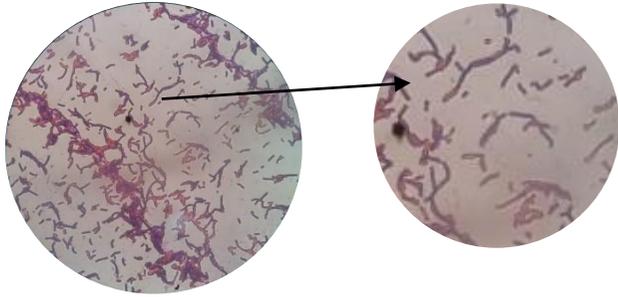
Bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dapat hidup dengan mengandalkan nutrisi yang ada pada media ISP-2. Hal ini dikarenakan media ISP-2 mengandung ekstrak gandum (*malt*), ekstrak ragi (*yeast*), dekstrosa, dan agar. Ekstrak gandum (*malt*) merupakan sumber karbohidrat dan nitrogen bagi bakteri. Selain itu, dalam ekstrak gandum (*malt*) juga terkandung natrium klorida 0,1% w/w sebagai media pengatur tekanan osmosis pada bakteri agar nutrisi pada media dapat masuk ke dalam sel bakteri (Thermo Scientific, 2019). Ekstrak ragi (*yeast*) mengandung asam amino, karbohidrat, vitamin, dan mineral yang mudah dicerna oleh mikroorganisme (Li dkk., 2011). Dekstrosa digunakan sebagai sumber utama energi

(karbohidrat) dan agar yang berfungsi untuk memadatkan media (Thomas dkk., 2011).

Pertumbuhan bakteri menggunakan media cair dilakukan dengan cara mengambil bakteri dari proses regenerasi sebelumnya, kemudian diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam 10 mL *ISP-broth* pada erlemeyer 50 mL dinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Suhu inkubasi bakteri dilakukan pada suhu 37 °C dikarenakan suhu 30-40°C merupakan suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini terjadi karena suhu optimum suatu bakteri bergantung pada suhu sel tempat bakteri itu berasal atau melebihi suhu sel tersebut (Sumardi dkk., 2012).

#### **4.4 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri**

Untuk lebih memastikan identifikasi bakteri yang berhasil diisolasi, selain dilakukan pengamatan secara morfologi, juga diperlukan pengamatan secara mikroskopis melalui mikroskop. Untuk melakukan uji pewarnaan gram, diambil 1 ose dari koloni yang terpisah dan berada pada kuadran terakhir yang dirasa sudah murni. Pada gambar 4.10 merupakan penampakan secara mikroskopis bakteri konsorsium A<sub>2</sub> berdasarkan hasil pewarnaan gram bakteri dengan perbesaran 1000x. Bakteri konsorsium A<sub>2</sub> yang diamati dominan bakteri gram negatif, hal ini dapat diketahui dari warna sel yang berwarna merah muda akibat adanya penambahan safranin. Selain ditemukan bakteri gram negatif, juga ditemukan bakteri gram positif karena adanya sel yang berwarna ungu. Penampakan sel bakteri dari mikroskop memiliki bentuk sel yang sejenis yakni basil atau tabung.



Gambar 4.10 Hasil pewarnaan Gram bakteri perbesaran 1000x

Umumnya, bakteri penghasil antibiotik berasal dari kelompok bakteri *Actinomycetes*, terutama spesies *Streptomyces*. Bakteri dari kelompok *Actinomycetes* termasuk dalam bakteri gram positif (Jannah, 2013). Pada bakteri konsorsium A<sub>2</sub> belum bisa dikelompokkan sebagai suatu kesatuan tunggal antara bakteri gram positif atau negatif. Terlihat warna dominan merah mengindikasikan lebih dominan keberadaan bakteri gram negatif.

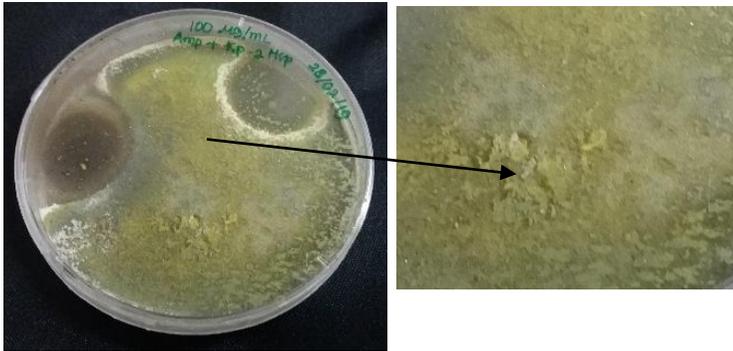
Pada bakteri gram positif, antibiotik  $\beta$ -laktam memiliki kebebasan untuk menjangkau membran sitoplasma bakteri, sedangkan pada bakteri gram negatif, membran terluarnya dapat membatasi masuknya antibiotik  $\beta$ -laktam (Hidayati, 2014). Konsorsium A<sub>2</sub> dapat dikatakan resisten terhadap antibiotik dikarenakan telah bertahan dalam penambahan antibiotik ampisilin pada skrining. Ampisilin merupakan antibiotik golongan  $\beta$ -laktam yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi pada bakteri gram positif dan gram negatif. Ampisilin dapat melakukan penetrasi pada dinding sel bakteri gram positif dan negatif (Akbar dkk., 2016). Pada ampisilin terdapat gugus asam amino yang mampu menembus membran terluar pada gram negatif. Hal inilah yang menjadi batasan pada beberapa antibiotik lain seperti eritromisin (spektrum sempit) yang hanya terbatas untuk melawan bakteri gram positif (Djari, 2018).

Pada beberapa penelitian sebelumnya, ditemukan bahwa pada beberapa spesies bakteri gram negatif mempunyai resistensi terhadap antibiotik. Penyebab dari resistensi ini bisa terjadi karena pada membran luar bakteri gram negatif memiliki *barrier* sehingga senyawa antibiotik tidak mudah masuk ke dalam sel. Konsorsium A<sub>2</sub> belum bisa dikategorikan sebagai bakteri gram negatif yang merugikan atau menguntungkan karena uji yang belum lengkap. Sebagai contoh, bakteri gram negatif *Salmonella* hasil isolasi dari ikan memiliki resistensi terhadap antibiotik eritromisin, hal ini terjadi karena dinding sel bakteri gram negatif memiliki lapisan hidrofobik lebih tebal, sehingga antibiotik tersebut tidak masuk ke membran dalam dan luar dari dinding sel bakteri gram negatif (Aulia dkk.,2015).

Umumnya, bakteri gram negatif bersifat resisten terhadap antibiotik karena kebanyakan termasuk dalam kelompok bakteri penyebab infeksi dan memiliki ketahanan terhadap beberapa antibiotik atau *multi drug resistant*. Pada beberapa penelitian sebelumnya, telah ditemukan isolat bakteri gram negatif yang memiliki aktivitas antibakteri, seperti contoh, isolat S.5 dan S.8 yang diisolasi dari perairan selat Makassar berbentuk basil (Dewi dkk.,2017) dan isolat 7DT yang diisolasi dari tanah sawah di Samarinda berbentuk basil (Fitriani dkk., 2016).

#### **4.5 Uji Interaksi Bakteri Konsorsium A<sub>2</sub> dengan *Aspergillus sp.* dan *A. fumigatus***

Berdasarkan hasil skrining sebelumnya, diketahui bahwa bakteri konsorsium A<sub>2</sub> memiliki aktivitas penghambatan terhadap jamur lain yang tumbuh pada penambahan konsentrasi antibiotik ampisilin sebesar 0,25 ppm. Jamur berwarna hijau dengan karakteristik diduga mirip dengan spesies jamur *Aspergillus*. Karakteristik morfologi jamur yang tumbuh pada hasil skrining memiliki penampakan antara lain, berwarna hijau, permukaan seperti beludru, dan hifa yang tersebar (Gambar 4.11).



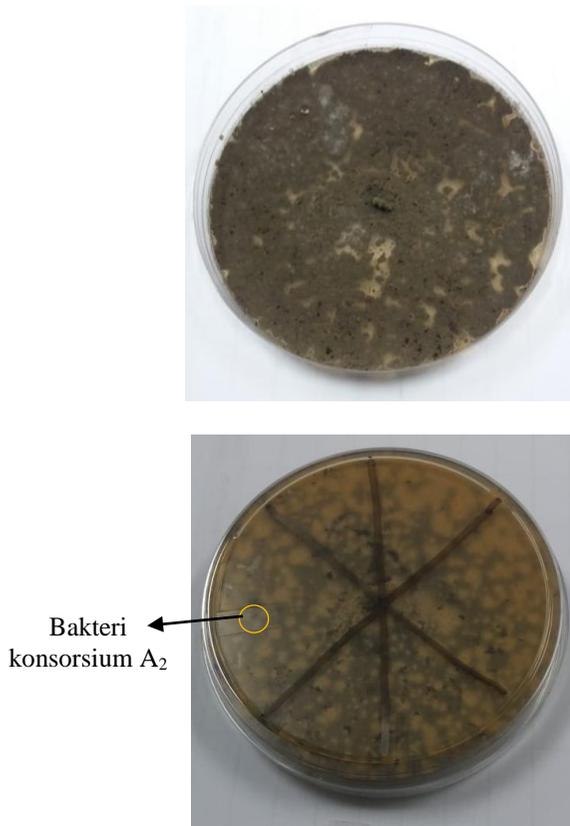
Gambar 4.11 Karakteristik jamur hasil skrining

Pada penelitian ini tidak dilakukan pengujian spesifik untuk mengetahui morfologi dan fisiologi jamur yang ditemukan pada skrining karena susahnya regenerasi jamur tersebut (ada nya kontaminan), sehingga setelah dilakukan pemindahan berulang, belum didapatkan jamur yang diinginkan. Adanya kontaminan ini dibuktikan dengan foto skrining pada hari ke-2 pada cawan petri terdapat isolat bakteri, sedangkan pada hari ke-7 barulah tertutupi oleh jamur (Gambar 4.11).

Untuk mengetahui adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur terhadap bakteri konsorsium  $A_2$ , maka diperlukan pengujian interaksi antara bakteri konsorsium  $A_2$  dengan jamur *Aspergillus*. Pada penelitian ini, dipilih dua jamur uji yang tersedia di Laboratorium Kimia Mikroorganisme yakni *Aspergillus fumigatus*. Pilihan jamur tersebut didasarkan karena belum teridentifikasinya jamur yang tumbuh pada hasil skrining dengan penambahan antibiotik ampisilin konsentrasi 0,25 ppm.

Hasil uji dual kultur pada jamur *Aspergillus fumigatus* dapat diperhatikan pada gambar 4.12, dimana jamur *A. fumigatus* bisa tumbuh dengan subur tanpa terganggu keberadaan 1 titik koloni konsorsium  $A_2$ . Konsorsium  $A_2$  tertutupi oleh hifa jamur *A. fumigatus*. Berdasarkan uji tersebut maka dapat dikatakan bahwa

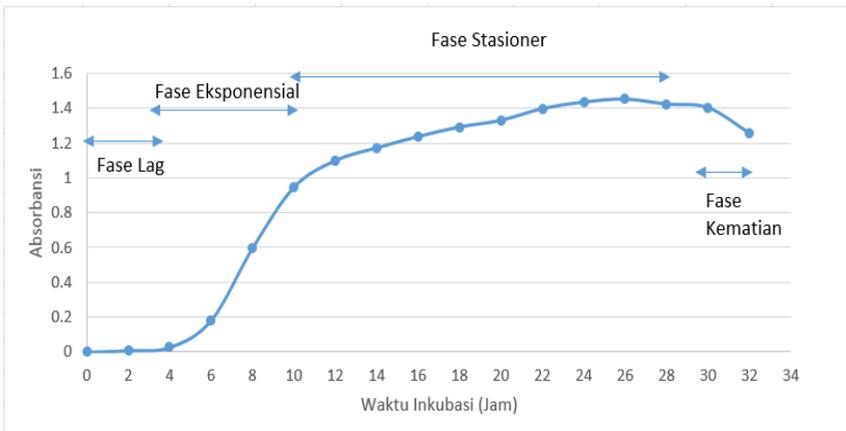
konsorsium A<sub>2</sub> tidak memiliki aktivitas antagonis terhadap Jamur *A. fumigatus*.



Gambar 4.12 Hasil uji interaksi bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dan *A. fumigatus* (tampak depan dan belakang)

#### 4.6 Kurva Pertumbuhan Bakteri Konsorsium A<sub>2</sub>

Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri bertujuan untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan dari suatu bakteri. Pada penelitian ini, pembuatan kurva pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui waktu fasa stasioner konsorsium A<sub>2</sub>, karena pada fasa stasioner bakteri memiliki kemampuan optimal untuk memproduksi metabolit sekunder yang digunakan dalam uji aktivitas antimikroba dengan metode yang diusulkan oleh Kirby-Bauer. Pembuatan kurva pertumbuhan dalam penelitian ini dilakukan dengan metode turbidimetri pada *optical density* 600 nm (OD<sub>600</sub>). Metode Turbidimetri merupakan metode pengukuran jumlah sel bakteri berdasarkan kekeruhan. Metode ini mengukur pengurangan intensitas cahaya pada spektrofotometer akibat adanya penghamburan cahaya oleh sel-sel bakteri yang ada pada kuvet. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 600 nm, dipilih karena kultur bakteri berwarna kuning kecoklatan (Ashari, 2014).



Gambar 4. 13 Kurva pertumbuhan bakteri konsorsium A<sub>2</sub>

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan fase hidup bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dengan pembuatan kurva pertumbuhan untuk mengetahui fase stasionernya. Sebagian besar bakteri kelompok *Actinomycetes* membentuk spora pada media padat dan

memproduksi metabolit sekunder pada fase stasioner (Cheng, 2009), untuk itulah hal ini dijadikan dasar dalam menentukan fase stasioner. Dari kurva tersebut dapat diketahui bahwa fase adaptasi konsorsium  $A_2$  pada 0-4 jam inkubasi, fase eksponensial pada 4-12 jam inkubasi, fase stasioner pada 12-28 jam inkubasi, dan fase kematian pada 28-32 jam inkubasi. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa waktu optimal untuk menginkubasi konsorsium  $A_2$  adalah waktu peralihan antara fase eksponensial dan fase stasioner yaitu setelah 12 jam inkubasi.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Bedasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa telah berhasil dilakukan skrining dan isolasi bakteri konsorsium dari Lumpur Lapindo titik A1 (Lintang Selatan: 7° 31'46,23" dan Bujur Timur: 112° 42'36,83") yang resisten terhadap antibiotik ampicilin sebesar 0,25 ppm. Bakteri konsorsium tersebut diberi nama bakteri konsorsium A<sub>2</sub>. Bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dominan bakteri gram negatif berbentuk basil. Hasil skrining menunjukkan bahwa bakteri konsorsium A<sub>2</sub> dapat menghambat pertumbuhan jamur tetapi, bakteri konsorsium A<sub>2</sub> tidak dapat memberikan zona hambat pada pertumbuhan dengan metode *dual* kultur terhadap Jamur uji *Aspergillus sp.* dan *Aspergillus fumigatus*.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi antibiotik ampicilin lebih tinggi untuk mengetahui beraneka macam mikroorganisme yang resistan terhadap antibiotik, selain itu, bakteri konsorsium A<sub>2</sub> perlu purifikasi dan uji biokimia untuk mengetahui kemungkinan spesies nya.



## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A. A. (2007). *Konspirasi di Balik Lumpur Lapindo dari Aktor hingga Strategi Kotor*. Yogyakarta: Penerbit Galangpress.
- Akbar, M., Budiarti, L., & Edyson. (2016). Perbandingan Efektivitas Antibakteri antara Ekstrak Metanol dan Kulit Batang Kasturi dengan Ampisilin terhadap *Staphylococcus aureus*. *Berkala Kedokteran* 12(1), 1-9.
- Al-Karablieh, N. (2017). Antimicrobial Activity of *Bacillus Persicus* 24-DSM Isolated From Dead Sea Mud. *The Open Microbiology Journal*, 372-383.
- Anandani, A. (2017, November 23). *Infeksi Bakteri Aerob dan Anaerob*. Diambil kembali dari e-learning FKK UMJ: <http://elearning.fkkumj.ac.id/pluginfile.php>
- Anggraeni, V. J. (2017). Isolasi Bakteri Antibiotik Inhibitor  $\beta$ -Laktamase dari Limbah Pabrik Tahu. *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY 2017*. Yogyakarta.
- Arista, F. (2011). Pembuatan dan Karakterisasi Adsorben dari Lumpur Lapindo untuk Pemurnian Etanol. *Tugas Akhir Jurnal Teknik Fisika*.
- Aulia, R., Handayani, T., & Yennie, Y. (2015). Isolasi, Identifikasi, dan Enumerasi Bakteri *Salmonella spp.* pada Hasil Perikanan Serta Resistensinya terhadap Antibiotik. *Bioma* 11 (1) *Biologi UNJ Press*, 16-33.
- Ayari, A., Morakchi, H., & Djamila, K. G. (2011). Identification and Antifungal activity of *Streptomyces sp.* s72 isolated

from Lake Oubeira sediments in North East of Algeria.  
*Full Length Research Paper Vol 11(2)*, 305-311.

- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. (2019, April 21).  
*Prakiraan Cuaca Kabupaten Sidoarjo*. Diambil kembali  
dari Badan Meteorologi, Klimatologi, dan Geofisika:  
<https://www.bmkg.go.id/cuaca/prakiraan-cuaca.bmkg>
- Bala, J., Abioye, O., Auta, H., Damisa, D., Kuta, F., Adabara, N.,  
& Udenyi, E. (2012). Isolation and Screening of Soil  
Bacteria with the Potential to Produce Antibiotics.  
*Research and reviews in bioscience regular paper*, 361-  
364.
- Begum, K., Mannan, S., Rahman, M., Mitchell, A., Opoku, R.,  
Burgos, N., Nur-Kamal, A. (2017). Identification of  
Antibiotic Producing Bacteria from Soil Samples of  
Dhaka, Bangladesh. *Journal of Microbiology and  
Experimentation Vol 4 Issue 6*, 1-5.
- Bezoen, A., Van Haren, W., & Hanekamp, J. (2001). Antibiotics :  
Use and Resistance Mechanism. *Human Health and  
Antibiotic Growth Promoters (AGPs)*.
- Bindu, H., Muvva, V., Munaganti, R., Naragani, K., Konda, S., &  
Dorigondla, K. R. (2017). Production of Antimicrobial  
Metabolites by *Streptomyces lavendulocolor* VBH-9  
Isolated from Granite Mines. *Brazilian Archive of Biology  
and Technology An International Journal Vol.60*, 1-13.
- Bonang, G. (1992). *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*.  
Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Morse, S., & Mietzner, T. (2012).  
*Terjemahan buku mikrobiologi kedokteran (151-236)*.  
Jakarta: Penerbit kedokteran EGC.

- Cheng, M. (2009). Secondary Metabolites from The Culture Broth of *Actinomyceete Acrocarpospora sp. Firdi 001* and Their Antimicrobial Activity. *Journal Chilean Chemistry Society* 51, 198.
- Clardy, J., Fischbach, M., & Currie, C. (2009). The Natural History of antibiotics. *Journal of Current Biology* 19(11), 437-441.
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang: LPTIK Universitas Andalas.
- Das, A. P., & Mishra, S. (2008). Hexavalent Chromium (VI) Environment Pollutant and Health Hazard. *Journal of Environmental Research and Development*, 386-392.
- Davies, R., Swarbick, R., Evans, R., & Huuse, M. (2007). *Birth of Mud Volcano : East Java*. GSA Today.
- Dewi, A. K., Meylina, L., & Rusli, R. (2017). Isolasi Bakteri dari Tanah Mangrove *Rhizospora sp.* Di Kota Bontang. *Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, (hal. 59-68). Samarinda.
- Dictionary.com. (2019). *Dictionary.com*. Diambil kembali dari <https://www.dictionary.com/browse/resistance>
- Djari, D. J. (2018). *Uji Sensitivitas Antibiotik Beberapa Bakteri Penyebab Mastitis*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Dwiastuti, M., Fajri, M., & Yunimar. (2015). Potensi *Trichoderma spp.* sebagai Agens Pengendali *Fusarium spp.* Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Stroberi. *Jurnal Hortikultura Vol.25 No.4*, 331-339.

- Dwijoseputro. (2005). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Djambatan.
- Dwyana, S., & Fahrudin. (2012). Uji Resistensi Antibiotik pada Bakteri Resisten Merkuri yang diisolasi dari Kawasan Pantai Losari Makassar. *Jurnal Sainsmat* , 199-204.
- E.Mutschler, Widiyanto, M., & Ranti, A. (1999). *Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi ed.5 diterjemahkan*. Bandung: ITB Bandung.
- Echeverri, A. (2015). *Microbiology 20*. Diambil kembali dari <http://www.lamission.edu/lifesciences/lecturenote/aemic20lectnote.htm>
- Elika, E. P., Resnawaty, R., & Gutama, A. S. (2017). Bencana Sosial Kasus Lumpur PT. Lapindo Brantas Sidoarjo, Jawa Timur. *Jurnal Penelitian dan PKM*, 129-389.
- Ewaldo, V. A., & Agus, M. R. (2016). Biodegradasi Cr(VI) Menggunakan Isolat Bakteri yang Berasal dari Lumpur Lapindo. *Skripsi Universitas Katolik Widya Mandala*.
- Fiscbach, M., & Walsh, C. (2009). Antibiotics For Emerging Pathogens. *Sciences*, 1089-1093.
- Fitriani, Meylina, L., & Rijai, L. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Antibiotik dari Tanah Sawah. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian ke-4*, (hal. 125-132). Samarinda.
- Gilchrist, J., Campbell, J., Donnelly , C., Peeler, J., & Delaney, J. (1973). Spiral Plate Method for Bacterial Determination. *Applied Microbiology Vol. 25 No. 2*, 244-252.

- Habibie, F. M., Wardani, K. A., & Nurcholis, M. (Oktober 2014). Isolasi dan Identifikasi Molekuler Mikroorganisme Termofilik Penghasil Xilanase dari Lumpur Panas Lapindo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 2 No 4* , 231-238.
- Harniza, Y. (2009). *Pola Resistensi Bakteri yang Diisolasi dari Bangsal Bedah Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo pada tahun 2003-2006*. Jakarta: Skripsi Universitas Indonesia.
- Hidayat, H. (2011). Identifikasi Morfologi dan Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri *Eschericia coli* dari Fermentasi Buah Markisa (*Passiflora sp.*). *Eksakta Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 76-85.
- Hidayati, D. N. (2014). *Penapisan dan Karakterisasi Aktinomiset Penghasil Senyawa Antibakteri Eschericia coli ATCC 35218 Resisten Antibiotik Beta Laktam*. Bogor: Skripsi Sekolah Pascasarjana IPB.
- Jannah, F. (2013). *Uji Aktivitas Isolat Actinomycetes dari Tanah Sawah sebagai Penghasil Antibiotik*. Surakarta: Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Joseph, J. R. (2017). *Indirect Methods of Measurement of Microbial Growth*. Diambil kembali dari Linked in slideshare: <https://www.slideshare.net/jeevaraj9/indirect-methods-of-measurement-of>
- Juniawan, A., Rumhayati, B., & Ismuyanto, B. (2013). Karakteristik Lumpur Lapindo dan Fluktuasi Logam Berat Pb dan Cu pada Sungai Porong dan Aloo. *Sains dan Terapan Kimia Vol.7 No.1*, 50-59.

- Jutono, J., Soedarsono, S., Hartadi, S., Kabirun, S., & Suhadi, D. (1980). *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Departemen Mikrobiologi Fakultas Petanian UGM.
- Kalay, A., Hindersah, R., Talahaturuson, A., & Langoi, A. f. (2016). Efek Pemberian Pupuk Hayati Konsorsium terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Sawi. *Jurnal Agroekoteknologi*, 131-138.
- Kamarudin, N. N., Setiabudi, H. D., Jalil, A. A., Adam, S. H., & Salleh, N. M. (2019). Utilization of Lapindo Volcanic Mud for Enhanced Sonosorption Removal of Acid Orange 52. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 189-195.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Komarawidjaja, W. (2009). Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal dalam Media Mengandung Minyak Bumi. *Jurnal Teknologi Lingkungan Vol.10 No.1*, 114-119.
- Kong, K. F., Schneper, L., & Mathee, K. (2010). Beta-lactam Antibiotics : From Antibiosis to Resistance and Bacteriology. *National Institute of Health APMIS*, 1-47.
- Kumala, S., Raisa, N., Rahayu, L., & Kiranasari, A. (2009, Agustus). Uji Kepekaan Bakteri yang Diisolasi dari Urin Penderita Saluran Kemih Terhadap Beberapa Antibiotika periode Maret-Juni 2008. *Majalah Ilmu Kefarmasian Vol.VI No.2*, hal. 45-55.

- Kusnadi. (2003). *Mikrobiologi (Common Text Book)*. Bandung: Biologi FPMIPA UPI.
- Lasino, & Setiati, N. (2017). *Pengembangan Lumpur Sidoarjo sebagai Agregat Ringan Untuk Beton non Struktural*. Bandung.
- Li, M., Liao, X., Zhang, D., Du, G., & Chen, J. (2011). Yeast Extract Promotes Cell Growth and Induces Product of Polyvinyl Alcohol-Degrading Enzymes. *SAGE- Hindawi Access to Research Enzyme Research Vol 2011*, 1-10.
- Listari, Y. (2009). *Efektivitas Penggunaan Metode Uji Antibiotik Isolat Streptomyces dari Rizosfer Familia Poaceae terhadap Eschericia coli*. Surakarta: Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Listyawati, A. F. (2017). Pola Pertumbuhan Pseudomonas sp. dengan Menggunakan Variasi Konsentrasi D-glukosa dalam Media Pertumbuhan terhadap Waktu Inkubasi. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma 5(2)* , 29-32.
- Maia, M. R., Marques, S., Cabrita, A. R., Wallace, R., Thompson, G., Fonseca, A. J., & Oliveira, H. M. (2016). Simple and Versatile Turbidimetric Monitoring of Bacterial Growth in Liquid Cultures Using a Customized 3D Printed Culture Tube Holder and a Miniaturized Spectrophotometer : Application to Facultative and Strictly Anaerobic Bacteri. *Frontiers in Microbiology Vol 7*, 1-7.
- Mazzini, A., Svensen, H., GG, A., G, A., S, P., A Sorensen, M., & B, I. (2007). Triggering and Dynamic Evolution of The Lusi Mud Volcano, Indonesia. *Earth and Planetary Science, 375-388*.

- Meletiadis, J., Meis, J., Monton, J., & Verweij, P. E. (2001). Analysis of Growth Characteristics of Filamentous Fungi in Different Nutrient Media. *Journal Clinical Microbiology*, 478-484.
- Meletiadis, J., te Dorsthorst, D. T., & Verweij, P. E. (2003). Use of Turbidimetric Growth Curves for Early Determination of Antifungal Drug Resistance of Filamentous Fungi. *Journal of Clinical Microbiology*, 4718-4725.
- Moenir, M., Handayani, N. I., & Setyaningsih, N. I. (2016). Isolasi Bakteri Heterotrofik Anaerobik pada Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Kemenperin*. Diambil kembali dari Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma: <https://www.usd.ac.id/fakultas/farmasi/daftar.php?id=download&noid=77&offset=0>
- Mulyani, S. (2015). *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Umbi Bit, Ekstrak Kelopak Bunga Rosella, dan Produk Herbal Y*. Purwokerto: Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Munif, A., Pradana, A. P., Soekarno, B. P., & Herliyana, E. N. (2015). Isolasi dan Uji Potensi Konsorsium Bakteri Endofit asal Tanaman Kehutanan sebagai Agen Biokontrol dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Tomat. *Seminar Nasional Perlindungan Tanaman II*, (hal. 198-205). Bogor.
- Muramatsu, Y., & Maruyamma, M. (2006). Improved Method For Preparation of Samples For The Polymerase Chain Reaction For Detection of *Coxiella burnetti* in Milk Using Immunomagnetic Separation. *Veterinary Microbiology*, 179-185.

- Mustopo, R. S., & Risanti, D. D. (2013). *Karakterisasi Sifat Fisi Lumpur Panas Sidoarjo dengan Akrivasi Kimia dan Fisika*. Surabaya: Jurnal Teknik POMITS.
- Mytilinaois, I., Salih, M., Schofield, H., & Lambert, R. (2012). Growth Curve Prediction from Optical Density. *International Journal of Food Microbiology Vol 154 Issue 3*, 169-176.
- Nasution, R. (2003). *Teknik Sampling*. Diambil kembali dari <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-rozaini.pdf>
- Noerwarsito, T. (2006). *Blok Lempung Porits*. Surabaya: Laboratorium Struktur Arsitektur ITS.
- Nur, N. Q. (2010). *Karakterisasi Senyawa Antibiotika yang Dihasilkan oleh Mikroorganisme dari Air Laut di Perairan Solor Kabupaten Flores Timur*. Makassar: Skripsi Universitas Ilmu Negeri Alauddin Makassar.
- Okoh, A. (2006). Biodegradation Alternative in the Cleanup of Petroleum Hydrocarbon Pollutants. *Biotechnology and Molecular Biology Review 1*, 38-50.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. (2005). *Dasar-Dasar Mikorbiologi terjemahan Ratna Siri Hadioetomo*. Jakarta: UI Press.
- Peraturan Presiden Republik Indonesia. (2017). *Peraturan Presiden Republik Indonesia*. Diambil kembali dari Peraturan Pemerintah: [jdih.pub.go.id/peraturan-download](http://jdih.pub.go.id/peraturan-download)
- Permadi, L. M., & Zulaika, E. (2016). Isolasi Bakteri Resisten Antibiotik dari Kawasan Mangrove Wonorejo Surabaya. *ejurnal ITS Vol.5 No.2* .

- Pertiwi, P. H., Lukiswanto, B. S., & Kurnijasanti, R. (2015). Isolasi, Identifikasi, dan Penampisan Aktivitas Antimikroba *Streptomyces sp.* Isolat Tanah Lumpur Lapindo Sidoarjo. *Veterinaria Medika Vol 8 No 1*, 51-58.
- Pirela, M. R., Suarez, W. B., & Vargas, M. B. (2014). Antibiotic and Heavy Metal Resistance in Bacteria Isolated from Deep Subsurface in El Callao region, Venezuela. *Articulo de Investigacion*, 141-149.
- Powers, J. (2004). Antimicrobial Drug Development - The Past, The Present, The Future. *Clinical Microbiology Infection Vol.10 ed4.*, 23-31.
- Pracahyo, R., Khalimi, K., & Wijana, G. (2015). Kajian Potensi Bakteri Lumpur Lapindo sebagai Agens Hayati terhadap *Pyricularia oryzae* dan Agens Biostimulan pada Tanaman Padi . *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* , 33-45.
- Pratiwi, S. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga hal.22-42.
- Prayitno, J. (2017). Uji Coba Konsorsium Mikroba dalam Upaya Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak dengan Menggunakan Teknik *Landfarming* Skala Bangku. *Jurnal Teknologi Lingkungan Vo. 18 No.2* , 208-215.
- Prayogo, E. (2013). *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri Stapylococcus aureus*. Jakarta: Skripsi UIN Syarif Hidayatullah.
- Prescott. (2005). *Microbiology Sixth Edition* . Amerika: McGraw Hill Companier.

- Rahayu, S. A., & Gumilar, M. H. (2017). Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margarahyu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Eschericia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Vol 4 No 2*, 50-56.
- Rajan, B., & Kannabiran, K. (2014). Extraction and Identification of Antibacterial Secondary Metabolites from Marine *Streptomyces sp.* VITBRK2. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine Summer Vol.3 No.3*, 130-137.
- Rao, S. (2006, June 10). *Gram Staining Technique : Practicals Exercises in Medical Microbiology*. Diambil kembali dari <https://www.microrao.com/micronotes/pg/Gram%20stain.pdf>
- Raynor, B. D. (1997). Penicillin and Ampicillin . *Primary Care Update for OB/GYNS Vol 4(4)*, 147-152.
- Ridwan, P., & Abdurahman, M. (2016, Juli). Deliniasi Wilayah Amblesan Semburan Lumpur Sidoarjo Berdasarkan Data Penginderaan Jauh dan Korelasi Geokimia pada Sistem Vulkanik Kwartir Sekitarnya. *Seminar Fakultas Teknik Geologi UNPAD*. Bandung: Fakultas Teknik Geologi UNPAD. Diambil kembali dari Teknik Geologi <https://seminar.ftgeologi.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2016/07/2.4.pdf>
- Ritonga, I. H. (2018). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif dari Sampel Tanah Di Sekolah Peternakan Rakyat Kabupaten Muara Enim Sumatera Selatan*. Bogor: Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Rohmah, N. S. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) dari

Lumpur Lapindo. *Skripsi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.*

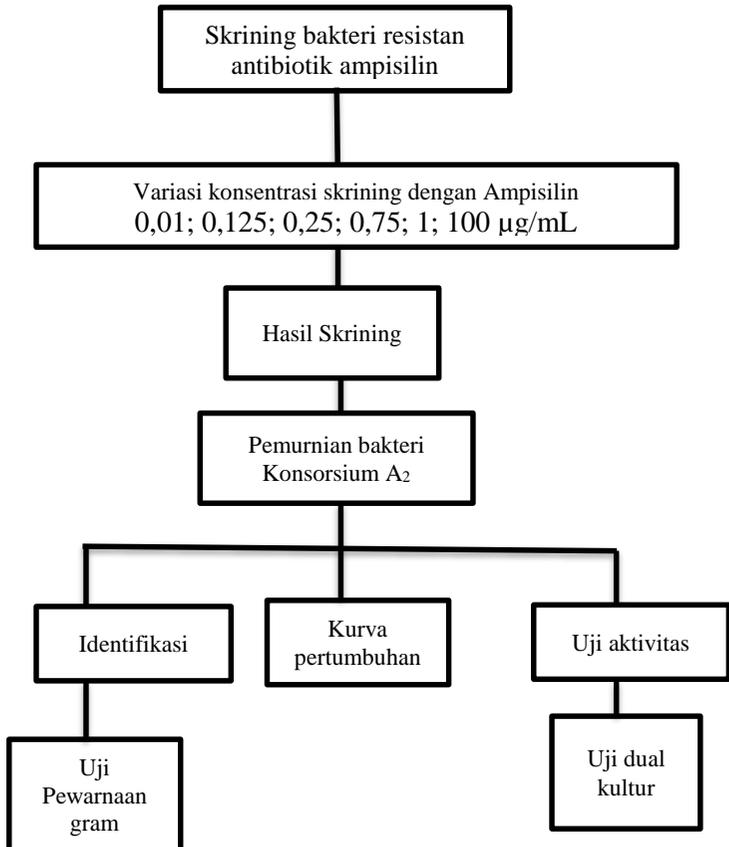
- Rukminasari, N., Nadiarti, & Awaluddin, K. (2014). Pengaruh Derajat Keasamaan (pH) Air Laut Terhadap Konsentrasi Kalsium dan Laju Pertumbuhan *Halimeda* sp. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan 1 Vol.24*, 28-34.
- Sagaa, T., & Yamaguchi, K. (2009). History of Antimicrobial Agents and Resistant Bacteria. *Japan Medical Association Journal Vol.52 No.2*, 103-106.
- Salam, A. (2017). Identifikasi Sifat Lumpur Sidoarjo dan Potensi Pemanfaatannya. *Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan*, 90.
- Saraswati, R., Husen, E., & Simanungkalit, R. (2007). *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Lahan Pertanian.
- Sari, D. R. (2008). *Pengaruh Komposisi Etanol Toluena pada Permeabilisasi Sel *Penicillium chrysogenum* ATCC 26818 untuk Pembentukan Antibiotika secara Enzimatis*. Surabaya: Skripsi Institut Teknologi Sepuluh Nopember .
- Sepanian, E., Sepahy, A., & Hosseini, F. (2018). Isolation and Characterization of Bacterial Species from Ain Mud Volcano, Iran. *Microbiology Vol.87 No.2*, 282-289.
- Setyowati, E. W. (2009). Lapindo sebagai Campuran untuk Meningkatkan Kekuatan Genteng Keramik. *Jurnal Rekayasa Sipil/ Volume 3, No.1 – ISSN 1978 – 5658* , 1-7.
- Singh, B. P., Gupta, V. K., & Passari, A. K. (2018). *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Chennai, India: Elsevier.

- Singh, P., & Vijay, K. (2011). Biological control of *Fusarium* wilt of *Chrysanthemum* with *Trichoderma* and Botanicals. *Journal Agriculture Technology Vol.7 No.6*, 1603-1613.
- Sudigdoadi, S. (2015, 09). *Mekanisme Timbulnya Resistensi Antibiotik Pada Infeksi Bakteri*. Diambil kembali dari <http://pustaka.unpad.ac.id/wpcontent/uploads/2015/09/me kanisme-timbulnya-resistensi-antibiotik-pada-infeksi-bakteri.pdf>
- Sugiyono. (2001). *Statistika untuk Penelitian*. Bandung: Alfabeta.
- Sugiyono. (2015). *Metode Penelitian Kombinasi (Mix Methods)* . Bandung: Alfabeta.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa*. Bandar Lampung: AURA CV. Anugrah Utama Raharja.
- Suhartini, S. (2003). *Penapisan awal Caulerpa racemosa, Sesuvium portulacastrum, Xylocarpus granatum, dan Ulva lactuca sebagai Antimikroba*. Bogor: Program studi teknologi : skripsi.
- Sultan, I., Rahman, S., Jan, A. T., Siddiqui, M. T., Mondal, A. H., & Haq, Q. R. (2018). Antibiotics, Resistome, and Resistance Mechanism : A Bacterial Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 1-16.
- Sumardi, Ekowati, C. N., Handayani, K., & Nurhayati. (2012). Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus sp.* Penghasil Antimikroba dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Matematika III*, 306-311.

- Susilana, R. (2010, Oktober 26). *Modul Populasi dan Sampel*. Diambil kembali dari Universitas Pendidikan Indonesia: [http://file.upi.edu/Direktori/Penelitian\\_Pendidikan/BBM\\_6.pdf](http://file.upi.edu/Direktori/Penelitian_Pendidikan/BBM_6.pdf)
- Sykes, R., & Matthew, M. (1976). The  $\beta$ -lactamases of Gram Negative Bacteria and Their Role In Resistance to  $\beta$ -lactam Antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2, 115-157.
- Tan, S. Y., & Tatsumura, Y. (2015). Alexander Fleming (1881–1955): Discoverer of Penicillin. *Singapore Medicine Journal*, 366-367.
- Thermo Scientific. (2019). *Laboratory Preparation Biological Extract of Malt Extract*. Diambil kembali dari oxoid <http://www.oxoid.com/UK>
- Timothius, K. (1982). *Mikrobiologi Dasar Cetakan I*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Tortorella, E., Tedesco, P., Espocito, F. P., January, G. G., Fani, R., Jaspars, M., & De Pascale, D. (2018). Antibiotics from Deep Sea Microorganism : Current Discoveries and Perspectives. *Marine drugs*, 1-16.
- TPSA-BPPT, D. B. (2006). *Pengelolaan Luapan Air dan Lumpur di Porong Sidoarjo*. Sidoarjo: Dinas Lingkungan Sidoarjo.
- Triwulan, J E , J., & AT, F. (2014). *Campuran Serat pada Pasta dengan Bahan Dasar Lumpur Lapindo*. Surabaya: Seminar Nasional X 2014- Teknik Sipil ITS.
- U.S. Geological Survey TWRI. (1997). *Fecal Indicator Bacteria*. Publications of the U.S. Geological Survey.

- Universitas Bakrie. (2014, Oktober). *Guest Lecturer Universitas Bakrie : Resettlement Post-Disaster Lumpur Sidoarjo*. Diambil kembali dari Universitas Bakrie: <https://www.bakrie.ac.id/en/guest-lecture/125-news-ub/guest-lecture/guest-lecture-teknik-lingkungan/243-guest-lecturer-universitas-bakrie-resettlement-post-disaster-lumpur-sidoarjo>
- Van Soestberge, A., & Chingo, H. (1969). Pour Plate or Streak Plate. *Application Microbiology*, 1018-1092.
- Wright, A., & Wilkowske, C. (1991). The Penicillins. *Mayo Clinic Proceedings* (hal. 1047). United State: Elsevier on behalf of mayo clinic.
- Yanlinastuti, & Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *ACES Journal Paper 17 (IX)*, 22-33.
- Yotopranoto, S., Kurnijasanti, R., & Rohmah, E. A. (June 2017). Isolation of *Streptomyces sp.* from Lapindo Mud Soil, Sidoarjo, East Java Province, Indonesia as a Larvacide Candidate Against *Aedes aegypti*. *Folia Medica Indonesiana Vol. 53 No. 2* , 118-123.
- Yulis, P. R. (2018). Analisis Kadar Logam Merkuri (Hg) dan (pH) Air Sungai Kuantan Terdampak Penambangan Emas Tanpa Izin. *Jurnal Pendidikan Kimia Volum 2, Nomor 1*, 28-36.
- Yunilas. (2017). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Peternakan*. Sumatera Utara: Repository Universitas Sumatera Utara.

- Zackiyah. (2013). *Spektrometri Ultra Violet/Sinar Tampak UV-Vis*. Diambil kembali dari pustaka ut: <http://www.pustaka.ut.ac.id/lib/>
- Zainuddin, M. (2017). Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Genotipik 16S r-RNA Bakteri Proteolitik Indogeneous Dari Ekosistem Mangrove Karimunjawa sebagai Kandidat Konsorsium Probiotik Untuk Bioremediasi Limbah Organik Tambak. *Jurnal Sumberdaya Perairan Vol. 11 No.1*, 71-77.
- Zega, S., Hidayat, M. A., & Rafi, M. (2017, 06 02). *Penentuan Kadar Sulfat dengan Teknik Turbidimetri*. <https://caridokumen.com/download/penentuan-kadar-sulfat-dengan-teknik-turbidimetri>
- Zubaidah, S. (2000). *Bakteri : Kajian tentang beberapa aspek biologis*. Malang: Universitas Negeri Malang.

**LAMPIRAN A: SKEMA KERJA**

## LAMPIRAN B: PERHITUNGAN

### 1. Pembuatan media agar ISP-2

a) Pembuatan media agar ISP-2 dalam 100 ml aquades

- *Malt extract* (Komposisi pelarutan = 10 g/L)

$$\begin{aligned} \text{Malt extract} &= \frac{100 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 1 \text{ g} \end{aligned}$$

- *Yeast extract* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned} \text{Yeast extract} &= \frac{100 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,4 \text{ g} \end{aligned}$$

- *Dextrose* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned} \text{Dextrose} &= \frac{100 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,4 \text{ g} \end{aligned}$$

- Agar (Komposisi pelarutan = 20 g/L)

$$\begin{aligned} \text{Agar} &= \frac{100 \text{ ml} \times 20 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 2 \text{ g} \end{aligned}$$

b) Pembuatan media padat ISP-2 dalam 50 ml aquades

- *Malt extract* (Komposisi pelarutan = 10 g/L)

$$\begin{aligned} \text{Malt extract} &= \frac{50 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,5 \text{ g} \end{aligned}$$

- *Yeast extract* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned} \text{Yeast extract} &= \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,2 \text{ g} \end{aligned}$$

- *Dextrose* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned} \text{Dextrose} &= \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,2 \text{ g} \end{aligned}$$

- Agar (Komposisi pelarutan = 20 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Agar} &= \frac{50 \text{ ml} \times 20 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 1 \text{ g}\end{aligned}$$

c) Pembuatan media padat ISP-2 dalam 50 ml aquades

- *Malt extract* (Komposisi pelarutan = 10 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Malt extract} &= \frac{50 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,5 \text{ g}\end{aligned}$$

- *Yeast extract* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Yeast extract} &= \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

- *Dextrose* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Dextrose} &= \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

- Agar (Komposisi pelarutan = 20 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Agar} &= \frac{50 \text{ ml} \times 20 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 1 \text{ g}\end{aligned}$$

## 2. Pembuatan media *broth* ISP-2

a) Pembuatan media *broth* ISP-2 dalam 10 ml aquades

- *Malt extract* (Komposisi pelarutan = 10 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Malt extract} &= \frac{10 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,1 \text{ g}\end{aligned}$$

- *Yeast extract* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Yeast extract} &= \frac{10 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,04 \text{ g}\end{aligned}$$

- *Dextrose* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned}\text{Dextrose} &= \frac{10 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= 0,04 \text{ g}\end{aligned}$$

b) Pembuatan media *broth* ISP-2 dalam 400 ml aquades

- *Malt extract* (Komposisi pelarutan = 10 g/L)

$$\begin{aligned} \textit{Malt extract} &= \frac{400 \textit{ ml} \times 10 \textit{ g}}{1000 \textit{ ml}} \\ &= 4 \textit{ g} \end{aligned}$$

- *Yeast extract* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned} \textit{Yeast extract} &= \frac{400 \textit{ ml} \times 4 \textit{ g}}{1000 \textit{ ml}} \\ &= 1,6 \textit{ g} \end{aligned}$$

- *Dextrose* (Komposisi pelarutan = 4 g/L)

$$\begin{aligned} \textit{Dextrose} &= \frac{400 \textit{ ml} \times 4 \textit{ g}}{1000 \textit{ ml}} \\ &= 1,6 \textit{ g} \end{aligned}$$

### 3. Pembuatan larutan stok Antibiotik Ampisilin

a) Pembuatan larutan stok antibiotik ampisilin 1000 ppm

Hasil timbangan = 690,9 mg

Satu tablet ampisilin tertulis = 500,0 mg -  
 $\frac{\quad}{190,9 \textit{ mg}}$

Secara teoritis, diperlukan penimbangan 100 mg dalam 100 ml, sehingga dalam pembuatan 1000 ml perlu membagi 500 mg diperlukan  $500 \textit{ mg}/5 = 100 \textit{ mg}$ .

Untuk mengekuivalensi total 500 mg dengan total penimbangan sebesar 690,9 mg, selisih 190,9 mg dibagi 5 = 0,3818 g.

Total antibiotik yang dilarutkan = 100 mg + 38,18 mg = 138,18 mg.

- b) Pengenceran larutan stok antibiotik ampisilin 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

- c) Pengenceran larutan stok antibiotik ampisilin 10 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

#### 4. Preparasi skrining sampel dengan variasi konsentrasi

- a) Pengenceran antibiotik Ampisilin variasi konsentrasi dalam media ISP-agar

- Konsentrasi Ampisilin 0,25 ppm dalam media

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 0,25 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml (volume Erlenmeyer)}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ ml}$$

- Konsentrasi Ampisilin 0,5 ppm dalam media

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml (volume Erlenmeyer)}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

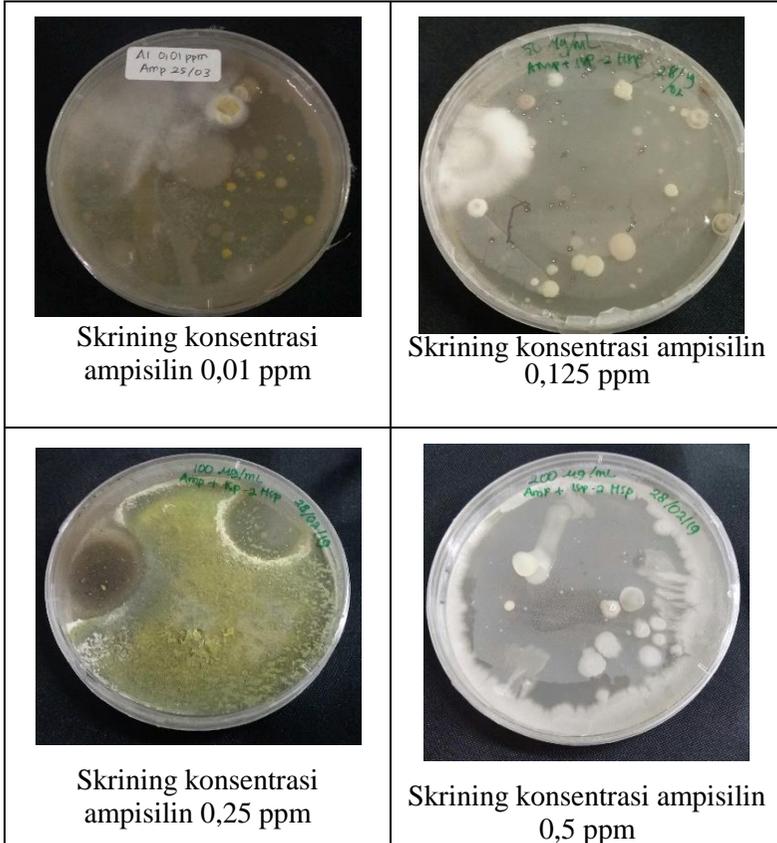
- Konsentrasi Ampisilin 0,125 ppm dalam media

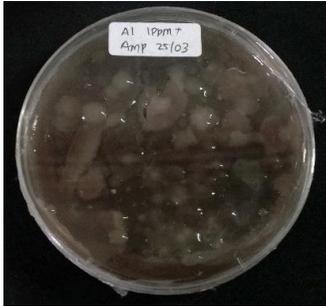
$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml (volume Erlenmeyer)}$$

$$V_1 = 0,625 \text{ ml}$$

LAMPIRAN C: GAMBAR





Skrining konsentrasi  
ampisilin 1 ppm



Skrining konsentrasi ampicilin  
100 ppm



## BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Samarinda pada 6 Juni 1997 dan merupakan anak pertama dari empat bersaudara. Pendidikan formal yang telah ditempuh yaitu TK Nurul Ikhwan Palangkaraya pada tahun 2003, satu tahun bersekolah di Sekolah Indonesia Kuala Lumpur pada tahun 2006, menyelesaikan sekolah dasar di MIN Malang 1 pada 2009, kemudian melanjutkan sekolah di MTsN Malang 1 dan SMAN 1 Malang.

Penulis diterima di jurusan Kimia Fakultas Sains melalui jalur mandiri dan terdaftar dengan NRP 01211540000123. Selama kuliah, penulis aktif mengikuti kegiatan internal kampus seperti BEM Fakultas Sains selaku staf departemen Dalam Negeri periode 2016/2017 dan ketua departemen Sosial Masyarakat periode 2018/2019. Selain itu, penulis juga aktif di beberapa kepanitiaan di lingkup departemen Kimia, Fakultas Sains, dan ITS. Beberapa di antaranya, penulis berperan aktif dalam sie desain, dekorasi, dan dokumentasi selaku staf, koordinator, dan konseptor di Chemistry Week; kemudian menjadi staf dan staf ahli di GEMPA FMIPA 2015 dan 2016; dan menjadi staf serta staf ahli di ITS EXPO 2016 dan 2017. Penulis melakukan kerja praktek di laboratorium forensik POLDA JATIM bagian kimia biologi forensik pada bulan Juni-Juli 2018. Penulis menyelesaikan program sarjana dan mengambil skripsi di bidang Kimia Mikroorganisme di bawah bimbingan Bapak Herdayanto Sulisty Putro, M.Si. Penulis dapat dihubungi melalui email [azizatunnisaa66@gmail.com](mailto:azizatunnisaa66@gmail.com)