



**SKRIPSI**

**KARAKTERISASI AWAL KONSORSIUM  
MIKROBA A<sub>3</sub> DARI LUMPUR LAPINDO  
MENGUNAKAN HASIL SKRINING  
RESISTANSI ANTIBIOTIK**

**TSABITA ARIBA FIRYAAL AFAANIN  
NRP 01211540000100**

**Dosen Pembimbing I  
Herdayanto Sulistiyo Putro, S.Si, M.Si.**

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

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



---

SCRIPT

**PRELIMINARY CHARACTERIZATION OF  
MICROBIAL CONSORTIUM A<sub>3</sub> FROM LAPINDO  
MUD USING ANTIBIOTIC RESISTANCE  
SCREENING**

**TSABITA ARIBA FIRYAAL AFAANIN  
NRP. 01211540000100**

**Advisor lecturer I  
Herdayanto Sulistiyo Putro, S.Si., M.Si.**

**Advisor lecturer II  
Hamdan Dwi Rizqi, S.Si., M.Si**

**DEPARTEMENT OF CHEMISTRY  
FACULTY OF SCIENCE  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
2019**

**KARAKTERISASI AWAL KONSORSIUM MIKROBA A<sub>3</sub>  
DARI LUMPUR LAPINDO MENGGUNAKAN HASIL  
SKRINING ISOLASI RESISTANSI ANTIBIOTIK**

**SKRIPSI**

Disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
pada program studi S-1 Kimia  
Di Departemen Kimia, Fakultas Sains  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

Disusun Oleh:

**TSABITA ARIBA FIRYAAL AFAANIN**  
**NRP 01211540000100**

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

**LEMBAR PENGESAHAN  
KARAKTERISASI AWAL KONSORSIUM MIKROBA A<sub>3</sub>  
DARI LUMPUR LAPINDO MENGGUNAKAN HASIL  
SKRINING ISOLASI RESISTANSI ANTIBIOTIK**

**SKRIPSI**

Disusun oleh :

**TSABITA ARIBA FIRYAAL AFAANIN**  
**NRP 01211540000100**

Surabaya, 4 Juli 2019

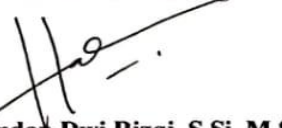
**Menyetujui,**

**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**



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

# KARAKTERISASI AWAL MIKROBA A<sub>3</sub> DARI LUMPUR LAPINDO MENGGUNAKAN HASIL SKRINING ISOLASI RESISTANSI ANTIBIOTIK

Nama : Tsabita Ariba Firyaaal Afaanin  
NRP : 01211540000100  
Departemen : Kimia  
Dosen Pembimbing I : Herdayanto S. Putro, S.Si, M.Si.  
Dosen Pembimbing II : Hamdan Dwi Rizqi, S.Si, M.Si.

## ABSTRAK

Konsorsium mikroba merupakan campuran populasi mikroba dalam bentuk komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal, dan mutualistik. Secara alamiah, bakteri mampu berkomunikasi satu dengan yang lainnya. Antar bakteri dapat mempunyai hubungan sinergis jika substrat cukup dan tidak saling menghambat pertumbuhan. Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi mikroba konsorsium yang resistan terhadap antibiotik ampisilin dengan konsentrasi 25 ppm dari lumpur Lapindo pada titik lokasi B1 (Lintang Selatan: 7° 31'49,9" dan Bujur Timur: 112° 42'39,4"). Isolasi dilakukan dengan memilih isolat yang memiliki zona bening disekitarnya apabila berdekatan dengan koloni bakteri maupun jamur lain yang tumbuh dalam satu petri dish. Karakterisasi dilakukan dengan uji pewarnaan *Gram*, dimana hasil pewarnaan *Gram* menunjukkan bahwa komposisi konsorsium mikroorganisme A<sub>3</sub> terdiri dari bakteri *Gram*-positif dan bakteri *Gram*-negatif berbentuk basil. Resistensi terhadap antibiotik dilakukan menggunakan metode dilusi *broth* untuk mengetahui minimum konsentrasi terhambatnya konsorsium A<sub>3</sub> terhadap penambahan ampisilin. Pada uji dual kultur tidak didapati adanya interaksi penghambatan pada jamur *Aspergillus fumigatus*.

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

# PRELIMINARY CHARACTERIZATION OF MICROBIAL CONSORTIUM A<sub>3</sub> FROM LAPINDO MUD USING ANTIBIOTIC RESISTANCE SCREENING ISOLATION

Nama : Tsabita Ariba Firyaal Afaanin  
NRP : 01211540000100  
Department : Kimia  
Supervisor I : Herdayanto S. Putro, S.Si, M.Si.  
Supervisor II : Hamdan Dwi Rizqi, S.Si, M.Si.

## ABSTRACT

Microbial consortium is a mixture of microbial populations in the form of communities that have cooperative, commensal, and mutualistic relationships. Naturally, bacteria are able to communicate with each other. Between bacteria can have a synergistic relationship if the substrate is sufficient and between bacteria does not inhibit mutual growth. In this study, microbial consortiums that were resistant to ampicillin antibiotic with a concentration of 25 ppm from Lapindo mud at location points B1 (South Latitude: 70 31'49.9" and East Longitude: 1120 42'39.4") was isolated. Isolation was done by selecting isolates that have a clear zone around when close to other colonies of bacteria and fungi that grow in one petri dish. Characterization was carried out by *Gram* staining, where the results of *Gram* staining showed that the composition of the consortium of A<sub>3</sub> microorganisms consisted of *Gram*-positive bacteria and *Gram*-negative bacilli bacteria. Antibiotic resistance was carried out using the dilution broth method to determine the minimum concentration of inhibition of the A<sub>3</sub> consortium against the addition of ampicillin. In the dual culture test there was no inhibition interaction in the fungi *Aspergillus fumigatus*.

**Keyword** : *antibiotic, antibiotic resistance, consortium microbial, Lapindo mud.*

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang selalu melimpahkan Rahmat dan Karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan dengan baik naskah skripsi yang berjudul **“Karakterisasi Awal Konsorsium Mikroba A<sub>3</sub> dari Lumpur Lapindo Menggunakan Hasil Skrining Isolasi Resistansi Antibiotik”**.

Tulisan ini tidak akan terwujud dengan baik tanpa bantuan dan dukungan dari semua pihak. Untuk itu, penulis sangat berterimakasih kepada:

1. Bapak Herdayanto Sulisty Putro S.Si, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan skripsi ini
2. Hamdan Dwi Rizqi S.Si, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah mengarahkan dan membimbing penyusunan skripsi ini.
3. Drs. Refdinal Nawfa, M.S selaku Kepala Laboratorium Kimia Mikroorganisme yang telah memberikan izin dan fasilitas selama melakukan penelitian.
4. Bapak Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc., selaku Kepala Departemen Kimia atas fasilitas yang telah diberikan hingga Skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
5. Keluarga tercinta yang selalu memberi dukungan dan doa.
6. Teman-teman Kimia ITS angkatan 2015 Goldschimdt yang telah berjuang bersama sejak menjadi mahasiswa baru.
7. Teman-teman Laboratorium Kimia Mikroorganisme yang telah membantu, menghibur, dan menjadi sumber motivasi Penulis dalam menyelesaikan naskah Skripsi ini.
8. Sahabatku Nur Azizatunnisa., Badzlin Nabilah., Febrilia Agar, yang telah setia menjadi tempat untuk mendengar, penyemangat, serta selalu menemani dalam keadaan susah maupun senang.

9. Tim ekstrimo Aziza, Naufal dan tim se-bimbingan Dhita, Risca, Aqila yang saling menyemangati satu sama lain.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan naskah Skripsi ini tidak lepas dari kekurangan. Oleh karena itu, penulis terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun. Semoga Naskah Skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 4 Juli 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT .....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
BAB I .....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II .....	5
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 Bakteri Resisten Penghasil Antibiotik .....	10
2.4. Pewarnaan <i>Gram</i> Bakteri .....	11
2.5 Pertumbuhan Bakteri.....	13
2.6 Spektrofotometri UV-Vis .....	16
BAB III.....	19
METODE PENELITIAN .....	19
3.1. Alat dan Bahan .....	19
3.1.1. Alat.....	19
3.1.2. Bahan .....	19
3.2. Prosedur Kerja.....	20
3.2.1 Pengambilan Sampel Lumpur.....	20
3.2.2 Pembuatan Media ISP-2 ( <i>International Strepomyces Project 2</i> ).....	20

3.2.3 Preparasi Sampel.....	20
3.2.4 Pembuatan Stok Antibiotik 1000 ppm.....	20
3.2.5 Pembuatan Stok Antijamur 100 ppm.....	21
3.2.6 Skrining Bakteri Resisten terhadap Antibiotik ...	21
3.2.7 Isolasi dan Pemurnian Isolat Bakteri .....	21
3.2.8 Pembuatan Kurva Pertumbuhan dengan Metode Optical Density (OD).....	21
3.2.9 Pewarnaan <i>Gram</i> Isolat Bakteri .....	21
3.2.10 Interaksi Bakteri Hasil Isolasi dengan Jamur Uji .....	22
BAB IV.....	23
HASIL DAN PEMBAHASAN .....	23
4.1.Sampling dan Analisa Sampel Lumpur .....	23
4.2 Skrining Sampel dalam Media Selektif .....	25
4.3 Peremajaan Biakan dan Kultur Padat .....	27
4.4 Hasil Pewarnaan <i>Gram</i> .....	29
4.5 Uji Interaksi Konsorsium A <sub>3</sub> dengan Jamur Patogen ...	31
4.5 Kurva Pertumbuhan.....	33
BAB V .....	35
KESIMPULAN DAN SARAN .....	35
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN .....	43
Lampiran 1. Diagram Alir .....	43
Lampiran 2. Gambar.....	44
Lampiran 3. Perhitungan .....	46
BIODATA .....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Wilayah kecamatan yang terkena semburan lumpur Lapindo Sidoarjo (Sumber: dokumen Badan Penanggulangan Lumpur Sidoarjo) .....	5
Gambar 2.2 Luapan lumpur yang muncul ke permukaan tanah (Sumber: Data penulis) .....	6
Gambar 2.3 Proses Pewarnaan <i>Gram</i> (Sumber: Prescott dan Harley dkk., 2009) .....	12
Gambar 2.4 Kurva pertumbuhan bakteri .....	16
Gambar 2.5 Skema alat spektrofotometer UV-Vis .....	17
Gambar 3. 1 Posisi peletakan kultur uji.....	22
Gambar 4.1 Lokasi sampling Lumpur Lapindo yang terlihat dari maps (Sumber: Google Earth) .....	23
Gambar 4.2 (a) Titik Pengambilan sampel lumpur A1. ....	24
Gambar 4.3 (a) Pengukuran suhu aliran air titik A2.1 (b) Pengukuran suhu aliran titik A2 .....	24
Gambar 4.4 Hasil Skrining dengan konsentrasi ampisilin 25 ppm .....	27
Gambar 4.5 (a) Isolat bakteri setelah dilakukan pemindahan pada medium baru. ....	28
Gambar 4.6 Hasil pewarnaan <i>Gram</i> isolat bakteri perbesaran 1000x .....	30
Gambar 4.7 Karakteristik Jamur yang tumbuh pada hasil Skrining .....	31
Gambar 4.8 Hasil uji interaksi isolate bakteri konsorium A <sub>3</sub> terhadap jamur <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	32
Gambar 4.9 Kurva pertumbuhan isolat bakteri konsorium A <sub>3</sub> ....	33

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Ciri pertumbuhan bakteri pada setiap fase pertumbuhan .....	15
Tabel 4.1 Data analisa sampel Lumpur Lapindo.....	25

*Karya ini  
dipersembahkan untuk Mama  
dan Papa sebagai inspirator,  
motivator, serta pendukung  
terhebat*



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kebutuhan antibiotik baru masih sangat tinggi, terutama yang efektif melawan mikroba patogen yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik. Antibiotik mempunyai nilai ekonomi tinggi di bidang kesehatan, karena kegunaannya untuk mengobati berbagai jenis penyakit infeksi. Usaha memodifikasi antibiotik yang sudah ada guna mendapatkan senyawa turunan antibiotik baru telah dilakukan, namun kenyataannya mikroorganisme memiliki kemampuan untuk bermutasi, sehingga memiliki mekanisme resistensi terhadap turunan antibiotik tersebut (Suwandi, 1993).

Beberapa bakteri patogen yang memperlihatkan fenomena akan resistansi pada antibiotik tersebut di antaranya adalah enteropatogen *Escherichia coli*, *Pseudomonas pseudomallei*, dan *Listeria monocytogenes*. Enteropatogen *E. coli* merupakan salah satu dari enam serotipe *E. coli* yang dapat menyebabkan diare, terutama pada bayi dan anak-anak. *P. pseudomallei* menyebabkan *melioidosis* pada manusia dan hewan, sedangkan *L. monocytogenes* menyebabkan *listeriosis* pada janin, bayi baru lahir, dan ibu hamil yang dapat mengakibatkan keguguran kandungan atau kematian bayi (Yuniarti, 2003; Ramli dan Pamoentjak, 1997; Gibbon, 1972).

Namun beberapa bakteri juga merupakan penghasil sumber senyawa kimiawi yang tidak habis-habisnya menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder aktif. Bakteri laut biasanya merupakan target untuk bioteknologi industri karena memiliki sejumlah besar senyawa bioaktif. Aplikasi terapi dari metabolit yang dihasilkan mikrobia ini telah memberikan peluang untuk penemuan antibiotik baru. Beberapa antibiotik diperoleh dari berbagai mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan yang ekstrim atau tidak layak huni bagi manusia, seperti daerah dengan suhu tinggi, suhu rendah, laut bagian dalam, padang pasir, lapisan es, sumber air panas dan minyak (Yulianti dkk., 2015).

Lumpur Lapindo merupakan salah satu tempat yang bisa disebut sebagai tempat tidak layak huni bagi manusia. Hal ini disebabkan kondisi lumpur yang keluar memiliki suhu  $>100^{\circ}\text{C}$  (Lasino dan Setiati, 2017), serta kandungan yang dihasilkan oleh lumpur panas ini diantaranya terdapat gas  $\text{CO}_2$  9.9-11.3%,  $\text{CH}_4$  83-85.4% dan beberapa gas hidrokarbon lainnya, serta komposisi airnya mengandung 39% klorida dan larutan lainnya mirip dengan senyawa  $\text{SO}_4^{2-}$ , dan Mg yang konsentrasinya lebih rendah dari air laut (Mazzini dkk., 2007). Santosa (2008) melaporkan bahwa dengan kondisi dan karakterisasi yang dimiliki lumpur lapindo, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* sp., *Clostridium* sp., *Coliform*, *Salmonella*, dan *Staphylococcus aerus* dapat hidup di lumpur Lapindo. Bakteri-bakteri tersebut menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder aktif. *Streptomyces* dikenal mampu menghasilkan banyak antibiotik seperti streptomisin yang dihasilkan oleh *Streptomyces aureofaciens*, oledanomisin yang dihasilkan oleh *Streptomyes antibioticus*, dan eritromisin yang dihasilkan oleh *Streptomyces erythreus* (Dwidjoseputro, 1987).

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi mikroorganisme khususnya bakteri yang dapat hidup di beberapa titik lokasi terdekat dari semburan lumpur Lapindo. Eksplorasi ini memungkinkan untuk mendapatkan bakteri yang berperan sebagai penghasil antibiotik.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Status semburan lumpur Lapindo Sidoarjo hingga saat ini masih aktif dan mengeluarkan material yang cukup berbahaya bagi kehidupan makhluk hidup disekitarnya. Munculnya luapan lumpur ini membuka potensi untuk mencari solusi permasalahan yang melibatkan manusia. Salah satunya yaitu permasalahan tentang kebutuhan antibiotik baru yang efektif melawan mikroba patogen dan resisten terhadap antibiotik yang telah ada. Permasalahan tersebut mendorong penulis untuk melakukan isolasi bakteri baru yang dapat melawan mikroba patogen serta berperan sebagai antibiotik.



### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan dan mengkarakterisasi isolat bakteri dari lumpur Lapindo yang tahan terhadap antibiotik.

### **1.4 Batasan Masalah**

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada titik lokasi sampling pada titik B1 (Lintang Selatan:  $7^{\circ} 31'49,9''$  dan Bujur Timur:  $112^{\circ} 42'39,4''$ ). Skrining dibatasi pada konsentrasi antibiotik ampisilin sebesar 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Pengamatan bakteri hanya dilakukan pada pengamatan fisik saja meliputi *Gram*-negatif atau *Gram*-positif.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

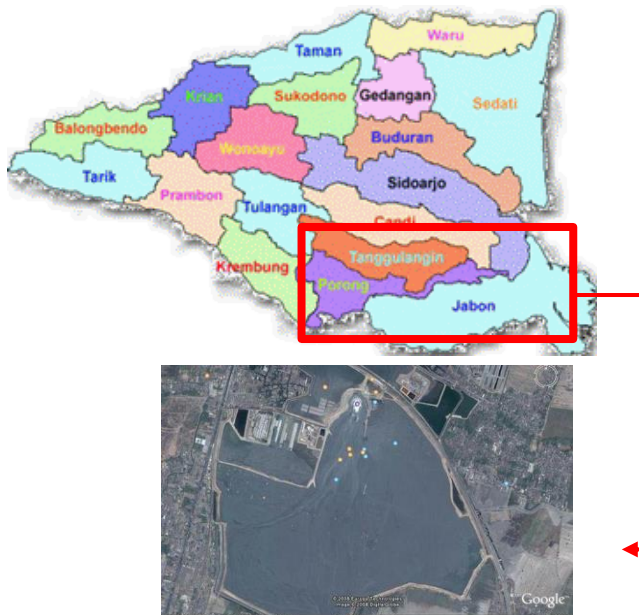
Memberikan data ilmiah mengenai kemampuan mikroorganisme khususnya bakteri yang potensial dalam menghasilkan antibiotik yang diisolasi dari lumpur Lapindo serta potensinya dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Lumpur Lapindo

Lumpur Lapindo merupakan bencana nasional sejak 29 Mei 2006 akibat aktivitas pengeboran minyak yang dilakukan oleh P.T Lapindo Brantas (Davies.R.J., 2006). Setidaknya terdapat tiga kecamatan yang terkena luapan lumpur panas ini, yaitu kecamatan Tanggulangin, Porong, dan Jabon, dimana tiga wilayah tersebut ditunjukkan pada Gambar 2.1. Kawasan area yang terkena luapan lumpur Sidoarjo ini secara geografis terletak di antara  $7^{\circ}30'40''$ - $7^{\circ}32'31''$ LS dan  $112^{\circ}42'28''$ - $112^{\circ}43'6''$  BT.



Gambar 2.1 Wilayah kecamatan yang terkena semburan lumpur Lapindo Sidoarjo (Sumber: dokumen Badan Penanggulangan Lumpur Sidoarjo)

Luapan lumpur yang muncul ke permukaan mengandung material vulkanis yang disertai gas seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.2. Semburan gas tersebut dinamakan *mud volcano* (Gunung Lumpur) (Mustopo dan Risanti, 2013). Gunung lumpur sendiri merupakan gunung atau bukit yang terbentuk dari hasil emisi bahan berkelembung yang bercampur dengan air panas dan lumpur pada permukaan bumi atau dasar laut (Dimitrov, 2002). Gunung lumpur lapindo Sidoarjo ini memiliki karakteristik yang unik dan cukup berbeda dengan yang lainnya. Setelah beberapa tahun kemunculannya, lumpur Sidoarjo ini dinyatakan masih aktif, tetapi debit semburan terpantau mengalami penurunan yang signifikan (Mazzini dkk., 2007).



Gambar 2. 2 Luapan lumpur yang muncul ke permukaan tanah  
(Sumber: Data penulis)

Terbukti, pada tahun 2006-2007 diperkirakan volume lumpur yang keluar dari pusat semburan sebesar 100.000 m<sup>3</sup>/hari bahkan pernah mencapai 180.000 m<sup>3</sup>/hari pada Desember 2006, dan cenderung berkurang menjadi sekitar 75.000 m<sup>3</sup>/hari pada Juli 2009 (Triwulan dkk., 2014). Pada September 2011, volume semburan diperkirakan sebesar 50.000 m<sup>3</sup>/hari (Fajriyanto, 2008). Pada tahun 2017, volume lumpur yang di keluarkan berkapasitas sebesar 30.000 m<sup>3</sup> sampai dengan 80.000 m<sup>3</sup>/hari dengan suhu dipusat semburan >100<sup>0</sup>C (Lasino dan Setiati, 2017). Namun, untuk temperatur lumpur yang dikeluarkan di permukaan bumi akan lebih rendah daripada temperatur lumpur sumbernya, dengan

suhu rata-rata sekitar 75<sup>0</sup>C (Mukhtarov, dkk., 2003). Mazzini, dkk., pada tahun 2007, melaporkan bahwa gunung lumpur Sidoarjo memiliki kandungan gas CO<sub>2</sub> 9.9-11.3%, CH<sub>4</sub> 83-85.4% dan beberapa gas hidrokarbon lainnya. Komposisi airnya mengandung 39% khlorida dan larutan lainnya mirip dengan senyawa SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, dan Mg yang konsentrasinya lebih rendah dari air laut. Dengan kondisi lingkungan lumpur lapindo seperti itu, kemungkinan besar dapat ditemukan beraneka macam spesies bakteri yang dapat hidup di tempat tersebut.

Santoso (2008) melaporkan bahwa *B. subtilis*, *Streptomyces* sp., dan *Clostridium* sp., *Coliform*, *Salmonella*, dan *S. aureus* merupakan mikroorganisme yang dapat hidup di lumpur Lapindo serta dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, salah satunya bakteri resistan dan penghasil antibiotik.

## 2.2 Antibiotik

Kata antibiotik diberikan pada produk metabolik yang dihasilkan oleh suatu organisme tertentu, yang dalam jumlah amat kecil bersifat merusak atau menghambat serta dapat membunuh banyak mikroorganisme lainnya termasuk bakteri yang berbeda, virus dan sel eukariotik. Antibiotik merupakan metabolit sekunder (Pelczar, 1988). Metabolit sekunder adalah suatu molekul atau produk metabolit yang dihasilkan oleh proses metabolisme sekunder mikroorganisme, dimana produk metabolit tersebut bukan merupakan kebutuhan pokok mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh. Meskipun tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan, namun metabolit sekunder dapat juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup. Fungsi metabolit sekunder bagi mikroorganisme penghasil itu sendiri sebagian besar belum jelas.

Metabolit sekunder dibuat dan disimpan secara ekstraseluler. Metabolit sekunder banyak bermanfaat bagi manusia dan makhluk hidup lain karena banyak diantaranya bersifat sebagai obat, pigmen, vitamin ataupun hormon. Metabolit sekunder tidak diproduksi pada saat pertumbuhan sel secara cepat (fase logaritmik), tetapi biasanya disintesis pada akhir siklus

pertumbuhan sel, yaitu pada fase stasioner saat populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Pada fase ini sel mikroorganisme lebih tahan terhadap keadaan ekstrim, misalnya suhu yang lebih panas atau dingin, radiasi, bahan kimia, dan metabolit yang dihasilkannya sendiri (Pratiwi, 2008).

Antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan aktivitas mekanisme aksi dan spektrum aktivitas. Berdasarkan mekanisme aksinya, antibiotik dibedakan menjadi lima, yaitu antibiotik dengan mekanisme penghambatan sintesis dinding sel, perusakan membran plasma, penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat, dan penghambatan sintesis metabolit esensial (Pratiwi, 2008). Berdasarkan spektrum aktivitasnya antibiotik dapat dibedakan menjadi antibiotik berspektrum sempit (*narrow spectrum*) dan antibiotik berspektrum luas (*broad spectrum*) (Pratiwi, 2008).

Penggolongan antibiotik berdasarkan atas spektrum aktivitasnya dapat dibagi lagi atas beberapa golongan (Djide, 2008).

1. Golongan antibiotik dengan spektrum luas, yaitu antibiotik yang efektif baik terhadap *Gram*-positif dan *Gram*-negatif. Sebagai contoh adalah turunan tetrasiklin, turunan amfenikol, turunan aminoglikosida, turunan mikrolida, rifampisin, beberapa turunan penisilin (ampisilin, amoksisilin, bakampisin, karbenisin dan lain-lain).
2. Golongan antibiotik yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri *Gram*-positif. Sebagai contoh adalah basitrasin, eritromisin, sebagian besar turunan penisilin seperti benzyl penisilin, kloksasilin dan lain-lain.
3. Golongan antibiotik yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri *Gram*-negatif. Sebagai contoh adalah kolistin, polimiksin B sulfat dan sulfomisin.  
Golongan antibiotik yang aktivitasnya dominan pada mycobacteriae. Sebagai contoh adalah streptomisin, kanamisin, sikloserin, fimisin dan lain-lain.

4. Golongan antibiotik yang aktif terhadap neoplasma (antikanker). Contohnya adalah aktinomisin, deomisin, mitisin, midramisin dan lain-lain.

Penemuan sumber-sumber antibiotik baru tersebut di alam dilakukan dengan cara penapisan atau skrining (*screening*) untuk menemukan mikroorganisme penghasil antibiotik. Sampel dari berbagai macam sumber, termasuk tanah, dan air dari berbagai tempat diuji kemampuan potensialnya dalam menghasilkan antibiotik.

## **2.3 Bakteri**

### **2.3.1 Bakteri Konsorsium**

Bakteri merupakan salah satu golongan organisme yang tidak memiliki selubung inti (prokariotik). Bakteri disebut makhluk hidup karena memiliki informasi genetik berupa DNA, namun tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoid. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstra kromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz dkk., 2008). Bakteri juga merupakan mikroorganisme bersel tunggal (uniseluler) dan umumnya tidak mempunyai klorofil sehingga bersifat heterotrof (tidak bisa membuat makanan sendiri), ada yang bersifat saprofit atau parasit pada organisme lain. Namun ada pula bakteri yang bersifat autotrof karena memiliki klorofil sehingga dapat membuat makanannya sendiri (Brooks dkk., 2012).

Beberapa kelompok bakteri menunjukkan ciri-ciri koloni yang saling berbeda, baik dilihat dari bentuknya, elevasi, maupun bentuk tepi koloni. Sering kali bakteri yang tumbuh dalam koloni tunggal, terdapat satu jenis bakteri dengan morfologi bentuk yang sama. Sejak beberapa tahun terakhir telah dikembangkan penemuan bakteri konsorsium untuk memberikan efek yang lebih baik dibandingkan dengan bakteri berkoloni tunggal.

Bakteri konsorsium merupakan campuran populasi mikroba dalam bentuk komunitas yang mempunyai hubungan yang kooperatif, komersial, dan mutualistik. Anggota komunitas yang mempunyai hubungan tersebut akan berasosiasi, sehingga akan lebih memiliki tingkat keberhasilan dalam mendegradasi senyawa kimia dibandingkan isolat tunggal. Hubungan antar bakteri konsorsium dalam keadaan substrat yang mencukupi tidak akan saling mengganggu tetapi akan saling bersinergi, sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi selama proses pengolahan (Okoh, 2006).

Penggunaan konsorsium mikroba memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penggunaan isolat tunggal karena diharapkan kerja enzim dari tiap jenis mikroba dapat saling melengkapi untuk dapat bertahan hidup menggunakan sumber nutrisi yang tersedia dalam media pembawa tersebut (Siahaan dkk., 2013)

### **2.3.2 Bakteri Resisten Penghasil Antibiotik**

Resistensi adalah kemampuan suatu bakteri untuk tidak terbunuh atau terhambat pertumbuhannya oleh suatu antibakteri (Priyanto dan Batubara, 2008). Mikroorganisme dapat kehilangan target spesifik tertentu terhadap obat untuk beberapa generasi sehingga menjadi resisten. Sebagian besar mikroba yang resisten terhadap obat muncul akibat perubahan genetik (Jawetz dkk., 2005).

Resistensi mikroorganisme dapat dibedakan menjadi tiga yaitu:

- a. Resistensi bawaan (primer), merupakan resistensi yang menjadi sifat alamimikroorganisme.
- b. Resistensi dapatan (sekunder), diperoleh akibat kontak antara mikroorganisme dengan agen antimikroba dalam waktu yang cukup lama dengan frekuensi yang tinggi, sehingga memungkinkan terjadinya mutasi pada mikroorganisme.



- c. Resistensi episomal disebabkan oleh faktor genetik di luar kromosom.

Beberapa bakteri memiliki faktor R pada plasmidnya yang dapat menular pada bakteri lain yang memiliki kaitan spesies melalui kontak sel secara konjugasi maupun transduksi (Pratiwi, 2008).

#### **2.4. Pewarnaan *Gram* Bakteri**

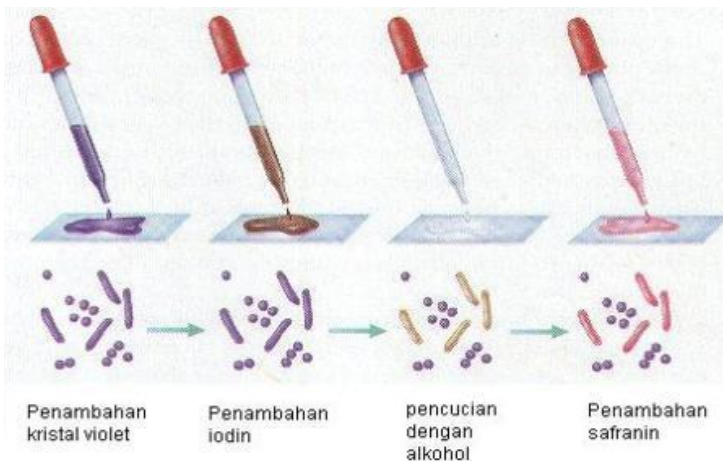
Sel bakteri pada umumnya bersifat tembus cahaya, hal tersebut disebabkan banyak bakteri yang tidak memiliki zat warna pada sel dindingnya (Waluyo, 2007). Kontras antara sel dan latar belakangnya dapat dipertajam dengan cara mewarnai sel-sel tersebut dengan zat-zat warna. Pewarnaan yang paling umum digunakan adalah pewarnaan sederhana (Hadioetomo, 1993).

Pewarnaan sederhana memungkinkan dibedakannya bakteri dengan bermacam-macam tipe morfologi (kokus, basilus, vibrio, spirulum, dan sebagainya) dari bahan-bahan lainnya yang ada pada olesan yang diwarnai (Hadioetomo, 1993). Menurut Pelczar dan Chan (2007) bakteri lebih sering diamati dalam olesan terwarnai dengan suatu zat pewarna kimia agar mudah untuk diamati dengan jelas dalam hal ukuran, bentuk, susunan dan keadaan struktur selnya. Sel bakteri dapat berbentuk seperti bola/elips, batang (silindris), atau spiral (heliks).

Pewarnaan bakteri bertujuan untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas daripada bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya. Pemberian warna pada bakteri atau jasad-jasad renik lain dengan menggunakan larutan tunggal suatu pewarna pada lapisan tipis, atau olesan, yang sudah difiksasi, dinamakan pewarnaan sederhana atau pewarnaan *Gram* (Pelczar dan Chan, 2007).

Zat yang digunakan untuk pewarnaan *Gram* bakteri termasuk ke dalam biological dye. Zat pewarna/cat yang digunakan untuk mewarnai bakteri mempunyai dua sifat utama, yaitu mempunyai kelompok kromofor dan memiliki ikatan dengan sel secara ionik, kovalen, atau hidrofobik. Kromofor merupakan gugus pemberi warna dari biological dye (Prescott dkk., 2002).

Pengecatan *Gram* menggunakan empat macam larutan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Larutan pertama adalah cat utama, yaitu kristal violet. Larutan kedua adalah mordant, yaitu *Gram's iodine*. Mordant berfungsi untuk meningkatkan afinitas antara cat dengan sel bakteri. Mordant akan berikatan kuat dengan kristal violet. Setelah diberi mordant, baik bakteri *Gram*-positif maupun negatif, akan tampak berwarna ungu atau biru. Larutan ketiga adalah zat pendekolorisasi, yaitu alkohol.



Gambar 2. 3 Proses Pewarnaan *Gram* (Sumber: Prescott dan Harley dkk., 2009)

Fungsi zat pendekolorisasi adalah untuk meluruhkan warna ungu pada bakteri *Gram*-negatif, sedangkan bakteri *Gram*-positif akan tetap berwarna ungu. Larutan keempat adalah zat pewarna lawan (counter stain), yaitu safranin (Prescott dan Harley, 2002; Willey dkk., 2009). Fungsi zat pewarna lawan adalah akan

memberikan warna pink pada bakteri *Gram*-negatif, sedangkan pada bakteri *Gram*-positif akan tetap berwarna ungu (Benson, 2001; Tortora dkk., 2010).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pewarnaan *Gram* adalah faktor cat, faktor dinding sel, dan proses pewarnaan. Cat yang digunakan tidak boleh yang sudah lama karena dapat mempengaruhi hasil pengecatan. Struktur dinding sel juga dapat mempengaruhi hasil pengecatan, karena struktur dinding sel pada bakteri *Gram*-positif dan bakteri *Gram*-negatif berbeda. Proses pengecatan sel juga harus diperhatikan, misalnya pada tahap fiksasi dan pencucian. Umur biakan yang digunakan juga tidak boleh yang sudah tua, karena biakan yang sudah tua lebih mudah terdekolisasi dibandingkan biakan yang masih muda sehingga bakteri *Gram*-positif bisa terlihat seperti bakteri *Gram*-negatif (Benson, 2001; Tortora dkk., 2010; Madigan dkk., 2011).

## **2.5 Pertumbuhan Bakteri**

Pertumbuhan adalah penambahan substansi hidup yang tidak dapat kembali disertai dengan penambahan ukuran dan pembelahan sel (Schlegel, 1994). Pengamatan pertumbuhan bakteri dapat dilakukan dengan perhitungan langsung secara mikroskopis, hitungan cawan (*Total Plate Count*) meningkatnya jumlah sel atau berat kering sel, kekeruhan biakan dan aktivitas metabolismenya (metabolitnya dan penggunaan unsur dalam media). Pada umumnya bakteri dapat memperbanyak diri dengan pembelahan biner yaitu dari satu sel membelah menjadi 2 sel baru, pertumbuhan dapat diukur dari bertambahnya jumlah sel. (Sumarsih, 2003).

Laju pertumbuhan adalah perubahan jumlah sel/ massa sel per unit waktu selama siklus pembelahan sel, semua komponen struktural pada siklus pembelahan sel, semua komponen struktural pada sel mengganda. Interval waktu untuk membentuk dua sel dari satu sel disebut dengan generasi. Sedangkan waktu yang diperlukan untuk mengganda disebut dengan waktu generasi. Waktu generasi bervariasi pada setiap organisme.

Beberapa bakteri memerlukan waktu satu hingga tiga hari untuk mengganda (Madigan dkk., 2000). Laju pertumbuhan bakteri dapat dinyatakan sebagai logaritma jumlah sel terhadap waktu pertumbuhan. Berdasarkan laju pertumbuhan maka dapat dibentuk kurva pertumbuhan bakteri yang diperoleh dibagi menjadi empat fase seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 2.4. Menurut Volk dan Wheeler (1984), keempat fase tersebut adalah fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian.

Fase lag, yaitu periode penyesuaian terhadap lingkungan dan lama waktu dapat berlangsung satu jam hingga beberapa hari. Lama waktu ini bergantung pada jenis bakteri, umur biakan dan nutrisi yang terdapat di dalam medium yang disediakan. Di dalam fase ini, sel sangat aktif dalam metabolisme. Inklusi dihabiskan dan terjadi sintesis enzim serta konstituen penting secara aktif. Sel akan mengalami perbesaran ukuran keseluruhan (Volk dan Wheeler, 1984).

Fase logaritma (log) yaitu fase ketika beberapa sel mulai membelah, beberapa sel sedang setengah selesai sedangkan yang lain telah selesai membelah. Fase ini memiliki ciri antara lain perkembangbiakan cepat dan merupakan periode yang di dalamnya teramati ciri khas sel-sel yang aktif. Selama fase inilah, waktu generasi tetap tidak berubah bagi setiap jenis, jika dibuat proyeksi logaritma jumlah organisme terhadap waktu, fase log ini muncul sebagai garis lurus. Waktu generasi dapat ditentukan pada fase ini karena setiap generasi menghasilkan jumlah sel yang berlipat dua. Kadar nutrisi, suhu inkubasi, pH, persediaan oksigen bagi yang bersifat aerob akan mempengaruhi perkembangbiakan sel (Volk dan Wheeler, 1984).

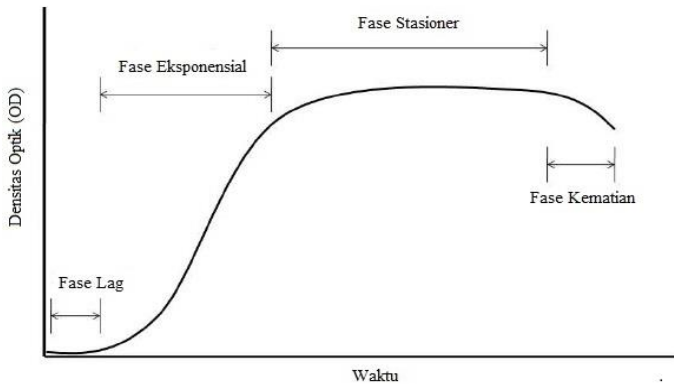
Fase stasioner yaitu apabila laju perkembangbiakan sama dengan laju kematian sehingga jumlah keseluruhan bakteri akan tetap. Sementara biakan menjadi tua dan mendekati populasi maksimum yang dapat ditunjang oleh medium, laju perkembangbiakan berkurang serta beberapa sel mati.

Penurunan pada fase stasioner dikarenakan produk limbah metabolisme yang cenderung menumpuk dan mungkin meracuni mikroorganisme. Untuk organisme aerob, persediaan oksigen tidak tercukupi. Fase kematian yaitu apabila laju kematian melampaui laju perkembangbiakan. Jumlah bakteri mengalami kematian. Pada fase ini, biasanya perkembangbiakan berhenti. Hal ini memerlukan waktu berminggu-minggu bahkan berbulan-bulan (Volk dan Wheeler, 1984).

Tabel 2. 1 Ciri pertumbuhan bakteri pada setiap fase pertumbuhan

<b>FASE PERTUMBUHAN</b>	<b>CIRI</b>
Lamban (Lag)	Tidak ada penambahan populasi Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan penambahan ukuran. Substansi interseluler bertambah
Logaritma/ Ekponensial	Sel membelah dengan laju yang konstan Massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama. Aktivitas metabolik konstan Keadaan pertumbuhan seimbang.
Statis	Penumpukan produk beracun dan/kehabisan nutrient. Beberapa sel mati sedangkan yang lain tumbuh dan membelah, jumlah sel hidup menjadi tetap.
Penurunan/ Kematian	Sel menjadi mati lebih cepat daripada terbentuknya sel baru. Bergantung kepada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari/ bulan.

Sumber: Hadioetomo dkk., 1985



Gambar 2. 4 Kurva pertumbuhan bakteri  
(Sumber: Madigan dkk., 2000)

Dalam penelitian ini instrumentasi UV-Vis digunakan dalam pembuatan kurva pertumbuhan bakteri. Kurva pertumbuhan bakteri merupakan kurva yang menunjukkan fase-fase pertumbuhan bakteri sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 2.4. Pembuatan kurva pertumbuhan dalam penelitian ini dilakukan pada *optical density* OD<sub>600</sub>.

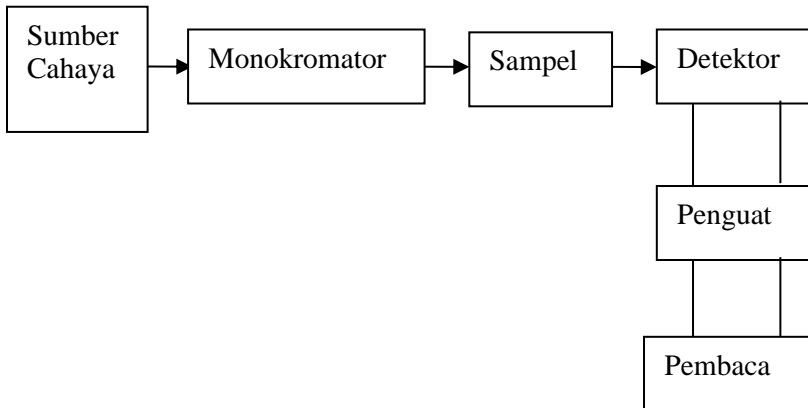
## 2.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan instrumentasi yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi antara kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah sinar ultraviolet (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780nm). Jangkauan panjang gelombang yang tersedia untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke garis inframerah (Skoog, 1998).

Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat

terlarut untuk mangabsorbsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi ( $A$ ).

Nilai absorbansi setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui pada suatu poin dimana presentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorbsi diukur dengan *phototube* (Harmita, 2006).



Gambar 2. 5 Skema alat spektrofotometer UV-Vis

Data yang diperoleh dengan spektrofotometri UV-Vis biasanya berupa panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ). Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang dimana terjadinya eksitasi elektronik yang memberikan absorbansi yang terbesar. Penentuan panjang gelombang maksimum yang pasti (tetap) dapat dipakai untuk identifikasi molekul yang bersifat karakteristik sebagai data sekunder. Dengan demikian spektrum UV-Vis dapat dipakai untuk tujuan analisis kualitatif dan kuantitatif. Sedangkan pokok kegunaan analisis spektrofotometri UV-Vis adalah untuk analisis kuantitatif karena melibatkan energi eksitasi yang cukup besar. Secara umum skema alat spektrofotometer UV-Vis dijelaskan pada Gambar 2.5 (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofometer UV-Vis menggunakan hukum Lambert-Beer sebagai acuan (Gandhimathi dkk.,2012). Persamaan ditunjukkan pada:

$$A = a.b.c \text{ (g/L)} \dots\dots\dots(2.1)$$

$$A = \epsilon.b.c \text{ (mol/L)} \dots\dots\dots(2.2)$$

Dimana :        A = Serapan  
                   a = Absoptivitas  
                   b = Ketebalan Sel  
                   c = Konsentrasi  
                    $\epsilon$  = Absorptivitas Molar

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometri dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus diatas. Absorptivitas (a) merupakan kostanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang radiasi (Day dan Underwood, 2002).

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{100}{T (\%)} \dots\dots\dots(2.3)$$

$$A = \log \frac{1}{T} \dots\dots\dots(2.4)$$

$$T (\%) = \frac{I}{I_0} \cdot 100 \% \dots\dots\dots(2.5)$$

Dimana :        A        = Absorbansi  
                   I<sub>0</sub>    = Intesitas cahaya di serap  
                   I        = Intesitas cahaya diteruskan  
                   T        = Transmitan

Hubungan antara transmisi dan absorbansi erat adanya ditunjukkan dari persamaan (2.3) hingga (2.5) (Perkampus, 1992).



## **BAB III METODE PENELITIAN**

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

#### **3.1.1. Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave* (GEA LS-50LJ), *laminary air flow* (Hotpack 524042), *incubator shaker* (New Brunswick Scientific Excella E25), oven, Spektrofotometer UV-Vis Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS, neraca analitik, jarum ose, *homogenize*, *falcon tube* (tabung falcon), *sentrifuge* (Thermo Electron corporation IEC CL40R) dan peralatan tambahan lain yang lazim untuk digunakan dalam laboratorium.

#### **3.1.2. Bahan**

##### **3.1.2.1 Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah salah satu sampel lumpur panas Lapindo dengan kode sampel B1 yang diambil pada titik koordinat  $7^{\circ} 31' 49,9''\text{S} | 112^{\circ} 42' 39,4''\text{E}$ .

##### **3.1.2.2 Bahan Kimia**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah stok jamur patogen *A. fumigatus* yang diambil dari koleksi Laboratorium Mikroorganisme Departemen Kimia ITS. Media yang digunakan untuk *Screening* dan pertumbuhan isolat yaitu ISP2 yang mengandung *yeast extract*, *malt extract*, Glukosa, agar, aquades steril, antibiotik ampicillin, dan antijamur nystatin *ringer solution*, serta bahan uji pengecatan *Gram* (Kristal violet, lugol iodine, safranin, alkohol 70%).

## **3.2. Prosedur Kerja**

### **3.2.1 Pengambilan Sampel Lumpur**

Pengambilan sampel lumpur dilakukan di sekitar semburan lumpur panas Lapindo, Sidoarjo, dengan empat titik lokasi. Titik koordinat pertama yaitu pada  $7^{\circ} 31'46.23''\text{S} \mid 112^{\circ} 42'36.83''\text{E}$ , titik koordinat kedua pada  $7^{\circ} 31'49.9''\text{S} \mid 112^{\circ} 42'39.4''\text{E}$ , titik koordinat ketiga pada  $7^{\circ} 31'46.6''\text{S} \mid 112^{\circ} 42'36.9''\text{E}$ , dan titik koordinat keempat pada  $7^{\circ} 33'18.21''\text{S} \mid 112^{\circ} 42'29.85''\text{E}$ . Masing-masing sampel lumpur diambil dengan kedalaman  $\pm 10$  cm dan disimpan dalam *falcon tube* steril dan diberi kode. Pengukuran parameter suhu sampel dilakukan terlebih dahulu dengan menggunakan termometer yang dimasukkan ke dalam galian sampel lumpur dan dibiarkan selama 1 menit. Pengukuran parameter pH sampel diukur dengan meneteskan aquades ke dalam lumpur yang disimpan terpisah dan diukur dengan kertas pH universal. Sampel tersebut lalu dibawa ke Laboratorium Kimia Mikroorganisme Departemen Kimia ITS untuk dilakukan isolasi.

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

Media yang digunakan untuk mengisolasi bakteri yaitu ISP-2 (*International Streptomyces Project 2*), terdiri dari 2 g D-Glukosa, 2 g Yeast Extract, 5 g Malt Extract, dan 10 g Agar yang dilarutkan ke dalam 500 mL aquades. Larutan kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Media tersebut disterilkan dengan *autoclave* pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

### **3.2.3 Preparasi Sampel**

Sampel padatan lumpur Lapindo diambil 0,5 g dan dilarutkan dalam 49,5 mL *ringer solution* dalam *falcon tube* steril.

### **3.2.4 Pembuatan Stok Antibiotik 1000 ppm**

Stok antibiotik 1000 ppm dibuat dengan melarutkan ampicillin 0,1382 g dalam aquades steril hingga 100 mL.

### 3.2.5 Pembuatan Stok Antijamur 100 ppm

Stok antijamur 100 ppm dibuat dengan melarutkan 0,5 mL Nystatin 100.000 IU/mL dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades steril hingga tanda batas.

### 3.2.6 Skrining Bakteri Resisten terhadap Antibiotik

Seleksi bakteri yang tahan akan antibiotik dilakukan menggunakan variasi konsentrasi antibiotik sebesar 25, 50, dan 100 ppm. Metode yang dilakukan adalah metode *pour plate*. Sebanyak 1 mL sampel dituang pada media yang telah ditambahkan antibiotik. Mikroorganisme resisten terhadap antibiotik akan diketahui setelah diinkubasi selama 7 hari pada suhu 35°C.

### 3.2.7 Isolasi dan Pemurnian Isolat Bakteri

Setelah didapatkan mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik, dilakukan isolasi bakteri. Isolasi bakteri dilakukan dalam media agar ISP-2 dengan menggunakan cara *streak-4 kuadran*. Pemindehan dilakukan berulang hingga didapatkan isolat tunggal.

### 3.2.8 Pembuatan Kurva Pertumbuhan dengan Metode *Optical Density (OD)*

Sebanyak satu ose dari biakan konsorsium A<sub>3</sub> masing-masing diinokulasikan pada 10 mL media *ISP-broth*. Selanjutnya, di goyang menggunakan 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 goyang menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C. Absorbansi media cair berisi biakan bakteri diukur setiap dua jam menggunakan instrumen spektrofotometer spektronik 20D pada OD<sub>600</sub>

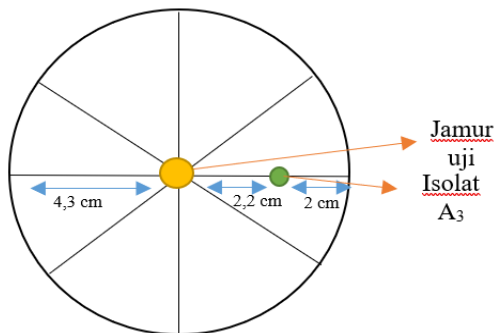
### 3.2.9 Pewarnaan *Gram* Isolat Bakteri

Isolat bakteri diambil satu ose secara aseptik dan digoreskan pada permukaan preparat steril. Isolat bakteri pada

preparat steril kemudian ditetesi larutan kristal violet dan didiamkan selama satu menit. Setelah satu menit, preparat dibilas dengan aquades dan dianginkan hingga kering dengan cara dilewatkan diatas api spiritus. Setelah kering, preparat ditetesi lagi dengan larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades dan dianginkan hingga kering. Selanjutnya preparat ditetesi alkohol 70% dan dibiarkan selama 30 detik, lalu dibilas kembali dengan aquades dan dikeringkan. Preparat kemudian ditetesi safranin dan dibiarkan selama 30 detik lalu dibilas dengan aquades. Pengamatan preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop (Prescott dan Harley, 2002; Willey dkk., 2009).

### 3.2.10 Interaksi Bakteri Hasil Isolasi terhadap Jamur Uji

Analisis interaksi ini dilakukan dengan cara diambil satu plug (9 mm diameter) masing-masing miselium jamur uji yaitu *A. fumigatus* yang telah dipre-inkubasi dan diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi media ISP-2 dengan 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. Kultur selanjutnya diinkubasi pada suhu 35 °C.



Gambar 3. 1 Posisi peletakan kultur uji

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Sampling dan Analisa Sampel Lumpur

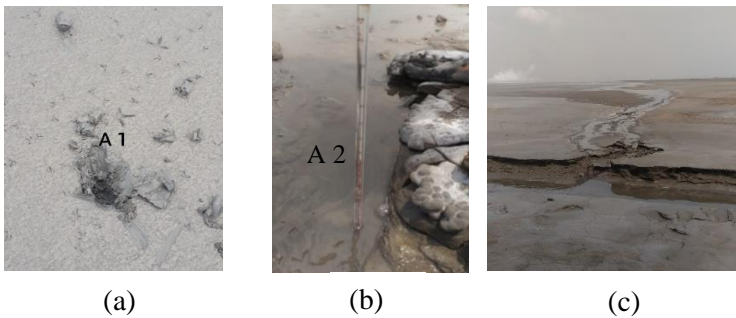
Sampel diambil dari sekitar pusat semburan lumpur panas Lapindo, Porong, Sidoarjo sesuai yang ditunjukkan pada Gambar 4.1. Sampel yang berhasil dikumpulkan merupakan hasil dari pengambilan di empat titik lokasi yang berbeda dengan jarak dari pusat semburan lumpur panas  $\pm 360$ - $390$  m, keempat titik lokasi pengambilan lumpur tersebut dipilih karena titik-titik tersebut merupakan batas maksimal yang dapat di akses serta aman untuk dilakukan pengambilan sampel. Keempat sampel tersebut berupa padatan lumpur dan sampel air.



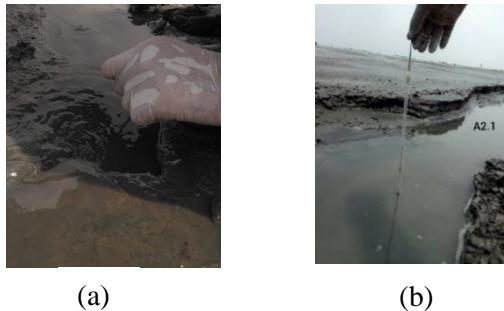
Gambar 4. 1 Lokasi sampling Lumpur Lapindo yang terlihat dari maps (Sumber: Google Earth)

Masing-masing titik lokasi diberi kode dengan A1, A2, A2.1, dan B1. Setiap lokasi pengambilan sampel diukur suhu dan pH menggunakan termometer dan kertas lakmus dan pH meter. Semua sampel diambil pada kedalaman 10-15 cm dari permukaan lumpur dan air secara aseptik untuk meminimalisir akan adanya kontaminasi oleh mikroorganisme lain yang terdapat pada

permukaan lumpur atau air dengan kontak udara sehingga didapatkan isolat bakteri yang benar-benar berasal dari dalam lumpur dan air (Fitriani dkk., 2016). Masing-masing sampel yang telah diambil, disimpan dalam *falcon tube* steril dan diletakkan dalam *cooler box* berisi es kering. Perlakuan ini bertujuan untuk menghambat sementara aktivitas dari mikroorganisme yang terdapat dalam sampel khususnya bakteri sebelum di analisa lebih lanjut di Laboratorium Kimia Mikroorganisme Departemen Kimia ITS.



Gambar 4. 2 (a) Titik Pengambilan sampel lumpur A1.  
 (b) Pengukuran pH aliran air titik A2.  
 (c) Lokasi pengambilan sampel A2, A2.1 dan B1



Gambar 4.3 (a) Pengukuran suhu aliran air titik A2.1  
 (b) Pengukuran suhu aliran titik A2

Titik dengan kode A1 (Gambar 4.2) berada pada titik yang paling mendekati titik semburan lumpur dengan batas maksimal untuk dapat diakses dengan berjalan kaki. Titik dengan kode A2 (Gambar 4.2) diambil berupa sampel air dari sungai kecil di dekat longsor lumpur, sedangkan titik dengan kode A2.1 (Gambar 4.2) diambil dari aliran air yang mengalir dari pusat semburan lumpur yang terbawa air hujan. Titik dengan kode B1 (Gambar 4.2) merupakan sampel lumpur yang diambil di sekitar aliran air tersebut. Setelah melakukan pengambilan sampel, maka di dapatkan 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

## 4.2 Skrining Sampel dalam Media Selektif

Sampel lumpur yang digunakan berasal dari titik lokasi B1 yang berjarak 397 m dari pusat semburan lumpur panas Sidoarjo. Sebanyak 0,5 g sampel lumpur dilarutkan dalam 50 mL *ringer solution* kemudian dikocok dan didiamkan selama beberapa menit sebelum dituang dalam media ISP-2 yang sudah ditambahkan antibiotik dan antijamur nystatin. Larutan *ringer solution* berperan sebagai penyangga pH agar sel bakteri tidak rusak akibat menurunnya pH lingkungan.

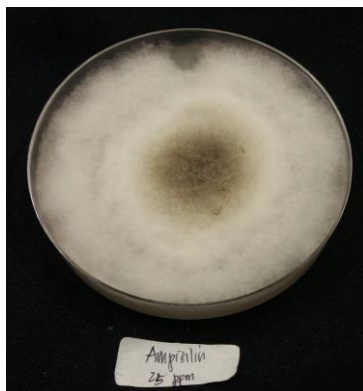
Larutan *ringer solution* terdiri dari NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, serta air (ISO 8199), dimana menurut Lunggana (2002), larutan yang terdapat kandungan NaCl mempunyai keseimbangan kepekatan larutan dengan kepekatan cairan tubuh (isotonik). Sedangkan mekanisme pengawetan dengan menggunakan NaCl adalah dengan memecahkan (plasmolisis) membran sel mikroba, karena NaCl mempunyai tekanan osmotik yang tinggi, di samping itu, NaCl bersifat hidroskopis sehingga dapat menyerap air dari bahan yang mengakibatkan  $a_w$  dari bahan tersebut menjadi rendah. Selain itu, NaCl dapat mengurangi kelarutan oksigen, sehingga mikroba aerob dapat dicegah pertumbuhannya.

Fungsi dari *ringer solution* juga sebagai sumber mineral mikroba karena salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba yaitu sumber mineral dan ini dapat diperoleh dari NaCl, dimana juga NaCl dapat menjaga sel mikroba dalam keadaan yang isotonis, karena jika mikroba dalam keadaan hipotonis atau hipertobis maka sel mikroba akan pecah (Lunggana, 2002). Metode isolasi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode *pour plate*. Metode *pour plate* (cawan tuang) merupakan teknik menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar dengan cara mencampurkan media agar yang masih cair dengan stok kultur bakteri, sehingga sel-sel tersebut tersebar merata dan diam, baik dipermukaan agar atau di dalam agar (Harley dan Presscot, 2002).

Pada penelitian ini, penulis menggunakan variasi antibiotik ampisilin sebesar 25, 50, dan 100 ppm, dilakukan skrining secara duplo. Setelah diinkubasi selama tujuh hari pada suhu 35<sup>0</sup>C, didapatkan beraneka macam mikroorganisme yang tumbuh. Salah satu hasil yang menarik perhatian penulis adalah petri pada konsentrasi ampisilin sebesar 25 ppm. Pada hasil skrining dengan penambahan konsentrasi ampisilin sebesar 25 ppm didapatkan dua jenis mikroorganisme yang dominan, yaitu jamur putih yang tumbuh menyebar dan bakteri.



Bakteri yang tumbuh dalam petri tersebut memiliki aktivitas penghambatan terhadap jamur putih, hal ini dapat dilihat pada (Gambar 4.4) terbentuk zona bening di sekeliling bakteri sebagai bentuk proteksi bakteri tersebut terhadap jamur berwarna putih.



Gambar 4. 4 Hasil Skringing dengan konsentrasi ampisilin 25 ppm

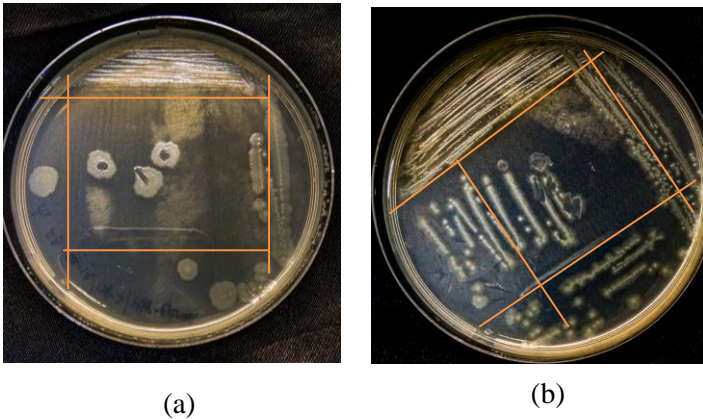
#### **4.3 Peremajaan Biakan dan Kultur Padat**

Peremajaan biakan dan kultur padat bakteri hasil skringing dengan konsentrasi 25 ppm dilakukan dengan memindahkan atau memperbarui biakan bakteri dari media biakan lama ke medium tumbuh yang baru secara berkala. Machmud (2001) menyatakan bahwa teknik peremajaan biakan merupakan cara paling tradisional yang digunakan peneliti untuk memelihara koleksi isolat mikroba di laboratorium. Peremajaan biakan ini juga bertujuan untuk menyelamatkan isolat bakteri tersebut dari kontaminasi oleh bakteri atau mikroorganisme lain, serta memberikan penyegaran pada nutrient yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri.

Peremajaan kultur bakteri menggunakan media segar dengan jenis yang sama seperti media skringing awal yaitu media ISP-2. Hal ini bertujuan untuk mempercepat fase adaptasi dan mempersiapkan sel pada fase eksponensial. Bakteri yang berada dalam fase eskponensial ini mensintesis enzim dan mengatur

aktivitasnya sehingga mampu tumbuh lebih efisien dalam kondisi baru. Peremajaan juga memberikan nutrisi baru bagi bakteri sehingga sel-selnya dapat tumbuh sehat (Hartanti 2010).

Peremajaan biakan dan kultur padat isolat bakteri dilakukan dengan di dalam cawan petri. Kultur padat dilakukan menggunakan metode goresan kuadran (*Streak quadran*). Metode ini hampir sama dengan goresan T, namun dengan pola goresan yang berbeda yaitu dengan dibagi menjadi empat daerah. Daerah goresan pertama merupakan goresan awal, dimana goresan ini masih mengandung banyak sel mikroorganismenya. Goresan selanjutnya dipotongkan atau disilangkan dari goresan pertama sehingga jumlah semakin sedikit dan akhirnya terpisah-pisah menjadi koloni tunggal seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.5.



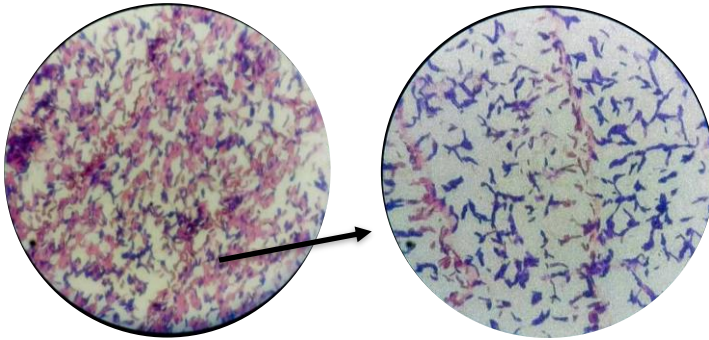
Gambar 4.5 (a) Isolat bakteri setelah dilakukan pemindahan pada medium baru dengan menggunakan teknik empat kuadran  
(b) Isolat bakteri yang telah murni

Dalam kultur murni, goresan empat kuadran merupakan tipe goresan yang sangat tepat. Prinsip kerjanya yaitu mengencerkan (*dilusi*) dan menyebarkan (*dispersi*) sel ketika diinkubasi, sehingga bakteri akan membentuk koloni terisolasi yang dipisahkan. Setelah memasuki masa inkubasi, akan terlihat di tiap kuadran koloni bakteri akan tumbuh, dan pada akhir kuadran (kuadran empat) akan tumbuh koloni tunggal (Microbiology Faculty, 2010). Koloni tunggal tersebut digunakan untuk proses uji selanjutnya yaitu uji pewarnaan *Gram* dikarenakan isolatnya telah murni.

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

Koloni tunggal dari isolat bakteri hasil skrining antibiotik ampicilin dengan konsentrasi 25 ppm diidentifikasi menggunakan uji pewarnaan *Gram*. Uji pewarnaan *Gram* ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri secara mikroskopis. Pewarnaan *Gram* merupakan uji yang paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi karena merupakan uji yang penting untuk tahap awal identifikasi. Pewarnaan ini berdasarkan ketebalan lapisan peptidoglikan pada dinding sel dan banyaknya lapisan lemak pada membrane sel.

Pewarnaan *Gram* bertujuan untuk mengelompokkan bakteri menjadi dua jenis yaitu bakteri *Gram*-positif dan bakteri *Gram*-negatif. Bakteri *Gram*-positif memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis, sedangkan untuk bakteri *Gram*-negatif mempunyai dinding sel tipis yang berada diantara dua lapis membran sel (Manurung, 2010). Berdasarkan hasil uji pewarnaan *Gram* dengan perbesaran 1000x yang dilakukan, telah didapatkan penampakan koloni bakteri secara mikroskopis seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4. 6 Hasil pewarnaan *Gram* isolat bakteri perbesaran 1000x

Berdasarkan penampakan koloni tunggal bakteri yang teramati merupakan sekumpulan bakteri *Gram*-negatif dan *Gram*-positif, hal ini dapat diketahui dari warna sel yang berwarna merah muda akibat adanya penambahan safranin dan warna sel yang berwarna ungu akibat adanya penambahan kristal violet. Sekumpulan isolat tunggal bakteri ini diberi kode isolat yaitu isolat konsorsium A<sub>3</sub>. Dari satu isolat konsorsium A<sub>3</sub> yang diamati memiliki pola koloni sejenis yakni basil atau batang, tersusun berpasangan atau berantai (*Streptobacil*).

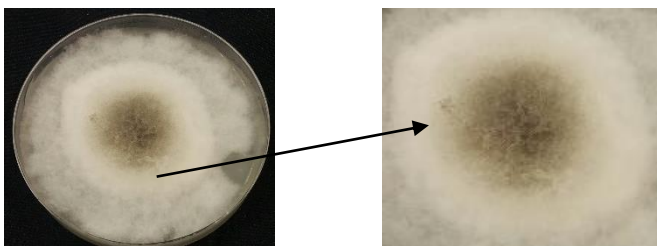
Konsorsium A<sub>3</sub> ini dapat digolongkan menjadi mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik, dikarenakan bakteri ini berhasil bertahan dalam penambahan ampicilin pada tahap skrining awal. Ampicilin merupakan derivat penisilin yang merupakan kelompok antibiotik  $\beta$ -laktam yang memiliki spektrum antimikroba yang luas. Ampicilin efektif terhadap mikroba *Gram*-positif dan *Gram*-negatif (Djide, 2008).

Menurut penelitian Sykes dan Brush (1982), senyawa antibiotik yang stabil terhadap aktivitas degradasi oleh enzim  $\beta$ -laktam, hingga saat ini kebanyakan dihasilkan oleh bakteri *Gram*-positif (Genus *Streptomyces* dan *Bacillus*). Antibiotik  $\beta$ -laktam yang dihasilkan oleh bakteri *Gram*-negatif, hanya dari golongan

monobaktam. Bakteri *Gram*-negatif tersebut semua berbentuk batang, yang berasal dari genus *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, dan *Acetobacter*. Ketiga genus tersebut memiliki ciri yang kurang lebih sama dengan isolat *Gram*-negatif konsorsium A<sub>3</sub>, begitu juga dengan *Gram*-positif konsorsium A<sub>3</sub> memiliki ciri kurang lebih sama dengan genus *Streptomyces* dan *Bacillus* (Holt dkk., 1994). Namun untuk memastikan kekerabatan isolat konsorsium A<sub>3</sub> tersebut dengan spesies/ strain yang saat ini sudah dikenal masih dibutuhkan karakterisasi dan penelitian lebih lanjut.

#### 4.5 Uji Interaksi Konsorsium A<sub>3</sub> dengan Jamur Patogen

Berdasarkan hasil skrining (Gambar 4.4) dapat diketahui bahwa bakteri konsorsium A<sub>3</sub> memiliki aktivitas penghambatan terhadap jamur yang tumbuh pada penambahan konsentrasi antibiotik ampisilin sebesar 25 ppm. Jamur tersebut berwarna putih dengan karakteristik diduga mirip dengan spesies *white mold*. Karakteristik morfologi jamur yang tumbuh pada hasil skrining memiliki penampakan antara lain, berwarna putih, dengan coklat di inti, permukaan seperti bulu halus, dan hifa yang tersebar (Gambar 4.7)

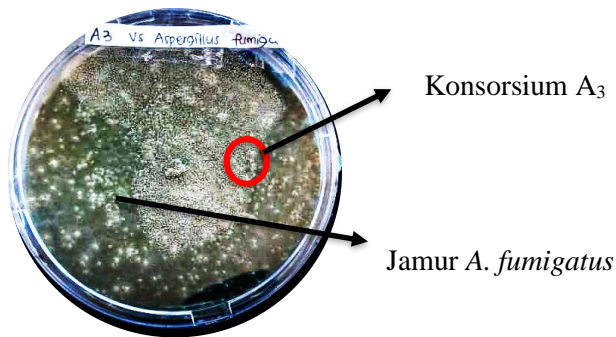


Gambar 4. 7 Karakteristik Jamur yang tumbuh pada hasil Skrining

Dilihat dari perkembangan bakteri konsorsium A<sub>3</sub> yang dapat menghambat pertumbuhan jamur putih tersebut dan menghasilkan zona bening di sekelilingnya, maka dilakukan

pengujian interaksi bakteri konsorsium A<sub>3</sub> terhadap jamur patogen yang telah tersedia di Laboratorium Kimia Mikroorganisme yakni *A. fumigatus*. Pilihan jamur patogen tersebut didasarkan karena belum teridentifikasinya jamur yang tumbuh pada hasil skrining dengan penambahan antibiotik ampisilin konsentrasi 25 ppm.

Hasil uji dual kultur pada jamur *A. fumigatus* dapat diperhatikan pada Gambar 4.8, dimana jamur *A. fumigatus* bisa tumbuh dengan subur tanpa terganggu keberadaan satu titik koloni konsorsium A<sub>3</sub>. Konsorsium A<sub>3</sub> tertutupi oleh hifa jamur *A. fumigatus*. Berdasarkan uji tersebut maka dapat dikatakan bahwa konsorsium A<sub>3</sub> tidak memiliki aktivitas antagonis terhadap Jamur *A. fumigatus*. Selain itu, jamur *A. fumigatus* juga bukan merupakan jamur yang ditemukan pada hasil skrining awal, sehingga dapat disimpulkan dari dua jamur uji coba ini bahwa tidak semua jenis jamur patogen dapat terhambat oleh keberadaan konsorsium A<sub>3</sub>, dan besar kemungkinan bakteri konsorsium A<sub>3</sub> hanya bisa menghambat pertumbuhan jamur dengan ciri dan jenis jamur di awal skrining.

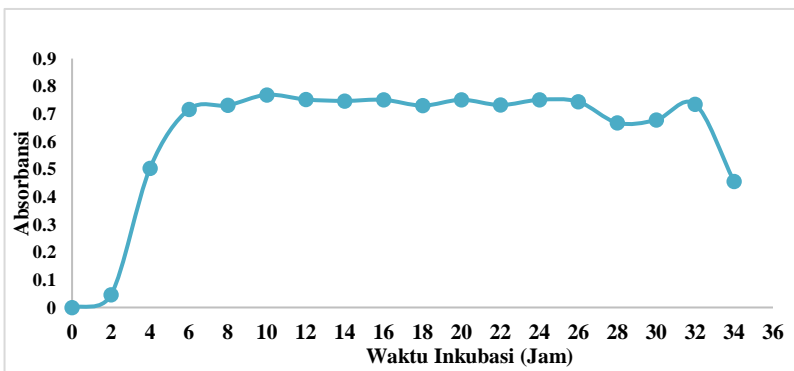


Gambar 4.8 Hasil uji interaksi isolate bakteri konsorium A<sub>3</sub> terhadap jamur *A. fumigatus*

#### 4.5 Kurva Pertumbuhan

Pertumbuhan dapat diartikan sebagai penambahan semua komponen di dalam sel hidup yang berlangsung secara teratur. Pertumbuhan bakteri merupakan pertambahan jumlah sel dan berat sel (Purwoko, 2007). Umumnya pertambahan dan pertumbuhan sel mikroba digambarkan dalam bentuk kurva pertumbuhan berbentuk sigmoid. Kurva pertumbuhan mikroba menggambarkan fase pertumbuhan secara bertahap sejak awal pertumbuhan hingga kematian sel bakteri (Suriawiria, 1990).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan fase hidup isolat bakteri konsorsium A<sub>3</sub> dengan pembuatan kurva pertumbuhan untuk mengetahui fasa stasionernya. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa fase adaptasi isolate bakteri A<sub>3</sub> pada 0-2 jam inkubasi, fase eksponensial pada 2-8 jam inkubasi, fase stasioner pada 10-22 jam inkubasi dan fase kematian pada 32-34 jam inkubasi seperti yang terlihat dalam gambar 4.9. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa waktu optimal inkubasi isolat bakteri A<sub>3</sub> adalah waktu peralihan antara fase eksponensial dan fase stasioner yaitu setelah 8 jam inkubasi.



Gambar 4. 9 Kurva pertumbuhan isolat bakteri konsorsium A<sub>3</sub>

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Konsorsium A<sub>3</sub> merupakan perpaduan antara bakteri *Gram*-positif dan negatif berbentuk batang, tersusun berpasangan atau berantai yang telah berhasil diisolasi dan diskriming dari Lumpur Lapindo, Sidoarjo, Jawa Timur pada titik koordinat B1 (Lintang Selatan: 7° 31'49,9" dan Bujur Timur: 112° 42'39,4"). Hasil dari skrining tersebut memperlihatkan bahwa konsorsium A<sub>3</sub> resistan terhadap antibiotik ampisilin dengan konsentrasi sebesar 25 ppm. Konsorsium A<sub>3</sub> tidak dapat memberikan zona hambat pada pertumbuhan terhadap Jamur uji *A. fumigatus* dengan metode *dual* kultur.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukannya uji karakteristik konsorsium A<sub>3</sub> guna menentukan kekerabatan terhadap strain/spesies mikroba penghasil antibiotik yang telah dikenal saat ini, serta dibutuhkan juga penelitian lebih lanjut dengan berbagai konsentrasi antibiotik ampisilin yang lebih tinggi untuk mengetahui aneka macam mikroorganismenya yang resistan terhadap antibiotik yang berasal dari Lumpur Lapindo Sidoarjo.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajith, P.S., dan Lakshmidivi, N., 2010, Effect of Volatile and Nonvolatile Compounds from *Trichoderma* sp. Against *Colletotrichum Capsici* Incitant of Anthracnose on Bell Peppers, *Nature and Science*, 8(9), 265–269.
- Anggraeni, V.J., 2017, Isolasi Bakteri Antibiotik Inhibitor  $\beta$ -Laktamase dari Limbah Pabrik Tahu, *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY 2017*, Yogyakarta.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika, 2019, *Prakiraan Cuaca Kabupaten Sidoarjo*, Retrieved from Badan Meteorologi, Klimatologi, dan Geofisika, (<https://www.bmkg.go.id/cuaca/prakiraan-cuaca.bmkg>).
- Benson, 2001, *Microbiological Application*, New York: Mc. Graw Hill Publisher.
- Davies R.J., 2006, May 29, Birth of a mud volcano: East Java, *GSA Today*, 4-9.
- Day, R.A. dan Underwood A.L., 2002, *Analisis Kimia Kuantitatif* (6th ed), Jakarta: Erlangga.
- Dimitrov, L., 2002, Mud Volcanoes The most Important Pathway for Degassing Deeply, *Earth-Science*, 49-76.
- Djari, D. J., 2018, Uji Sensitivitas Antibiotik Beberapa Bakteri Penyebab Mastitis, Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Djide, M., 2008, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Universitas Hassanudin: Makassar.
- Dwijpsepturo, D., 1987, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Penerbit Djambatan, Jakarta: 116-154.
- Ewaldo, V.A., dan Agus, M.R., 2016, Biodegradasi Cr(VI) menggunakan isolat bakteri yang berasal dari lumpur lapindo, *Skripsi Universitas Katolik Widya Mandala*.

- Fajriyanto., 2008, Pemanfaatan Lumpur Lapindo Sebagai Panel Dinding Bangunan Tahan Gempa Non Toxic dan Ramah Lingkungan Untuk Pencegahan Wabah Penyakit, PDI LPLI.
- Ganiswarna, S., 1995, Farmakologi dan Terapi, Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gibbon, N.E., 1972, Listeria Pirie, Whom does it honor J. Sist.Bact, 22:1.
- Hadioetomo, R.S., 1993, Mikrobiologi Dasar dalam Praktek, Jakarta: Gramedia.
- Harmita, 2006, Buku Ajar Analisis Fisikokimia, Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, Depok, pp. 144-161.
- Hidayati, D. N., 2014, Penapisan dan Karakterisasi Aktinomiset Penghasil Senyawa Antibakteri Eschericia coli ATCC 35218 Resisten Antibiotik Beta Laktam, Bogor: Skripsi Sekolah Pascasarjana IPB.
- Holt, J.G., N.P. Krieg, P.H.A., Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams., 1994, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9<sup>th</sup> Edition, New York: Lippincott Williams and Wilkins.
- Jannah, F., 2013, Uji Aktivitas Isolat Actinomycetes dari Tanah Sawah sebagai Penghasil Antibiotik, Surakarta: Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Katzung, B., 2007. Basic and Clinical Pharmacology. In Basic and Clinical Pharmacology (Vol. 10th ed). Boston: McGraw Hill.
- 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.
- Lasino, dan Setiati, N., 2017. Pengembangan Lumpur Sidoarjo sebagai Agregat Ringan Untuk Beton Non Struktural. Bandung.

- Lunggana, I., 2002. *Minuman Isotonik Pengganti Energi*. Jakarta (ID) Republika Online.
- Machmud, M., 2001, Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba, Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- Mazzini A., Svensen H., Akhmanov GG., Aloisi G., Plank S., Melthe Sorensen A., dan Istadi B., 2007, Triggering and Dynamic Evolution of the Lusi Mud Volcano, Indonesia, *Earth and Planetary Science*, 261 (3–4), 375–388.
- Mulja, M., Suharman., 1995, Analisis Instrumental, Airlangga University Press, Surabaya.
- Manurung, Pebrin., 2010, Pengamatan Bentuk Bakteri.
- Muramatsu, Y., dan 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., dan Risanti, D. D., 2013, Karakterisasi Sifat Fisi Lumpur Panas Sidoarjo dengan Aktivasi Kimia dan Fisika. Surabaya: Jurnal Teknik POMITS.
- 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 Clean Up Of Petroleum Hydrocarbon Pollutants, *Biotechnol and Molecular Biology Review*, (2):38-50.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan., 2007, *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Prescott dan Harley, 2002, *Laboratory Exercise in Microbiology*, New York: Mc. Graw Hill Publisher.
- Perkampus, H.H., 1992, *UV-Vis Spectroscopy and Its Application*, Jerman: Springer laboratory.

- Pertiwi, P.H., Bambang, S.L., dan Rochmah, K., 2015, Isolasi, Identifikasi, dan Penapisan Aktivitas Antimikroba *Streptomyces* sp. Isolat Tanah Lumpur Lapindo Sidoarjo, *Veterinaria Medika*, vol 8 No 1, 51-58.
- Powers, J., 2004, Antrimicrobial Drug Development The Past, The Present, The Future. *Clinical Microbiology Infection*, 10 ed4, 23-31.
- Purwoko, Tjahjadi., 2007, *Fisologi Mikroba*, Bumi Aksara: Jakarta.
- Ramli, A., dan Pamoentjak, 1997, *Kamus Kedokteran*, Edisi Revisi, Penerbit Djambatan, Jakarta.
- Ridwan, P., dan Abdurahman, M., Juli 2016, 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.
- 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.
- S. Siahaan, M. H., 2013, Penentuan Kondisi Optimum Suhu dan Waktu Karbonasi pada Pembuatan Arang dari Sekam Padi, *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol 2 No.1.
- Santosa, D. A., 2008, Isolat Bakteri Luapan Lumpu Lapindo dan Analisa Dampak Kesehatan, Malang.
- Saga, T., dan Keizo, Y., 2009, History of Antimicrobial Agents and Resistan Bacteria. *Japan Medical Association Journal*, 52 No. 2, 103-106.
- Schlegel, H., 1994, *Mikrobiologi Umum*, Edisi Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Skoog, Douglas A., Holler, J.F., Crouch, S.R., 1998, *Principles of Instrumental analysis sixth Edition*, Thomson Brooks/Cole. Canada.

- Strobel, G.A., dan Bryn D., 2003, Bioprocessing For Microbial Endophytes and Their Natural Products, *Microbiology*, 491-502.
- Suriawiria, Unus., 1980, Mikrobiologi Umum, Departemen Biologi FMIPA, ITB, Bandung.
- Suwandi, U., 1993, Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotik, *Cermin Dunia Kedokteran*, 89, 46-48.
- Sykes, R.B., dan Brush, K., 1982, Fisiologi, Biokimia dan Inaktivasi  $\beta$ -Laktamase. In Morin, R.B. dan Gorman, M. (Eds.), *Kimia dan Biologi Antibiotika  $\beta$ -laktam*, Vol. 3, Penerjemah Mulyani, S. New York: Academic Press.
- Triwulan, Ekaputri J.J., Fadyah A.T., 2014, Campuran Serat pada Pasta dengan Bahan Dasar Lumpur Sidoarjo, Seminar Nasional X ITS, Surabaya, Indonesia.
- Volk dan Wheeler. 1984. Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid I. Erlangga. Jakarta.
- Willey, J. M., L.M. Sherwood and Woolverton, C. J., 2008, Prescott, Harley, and Kleins Microbiology, NY, McGraw Hill, 7<sup>th</sup> Ed.
- Yulis, P.A.R., 2018, Analisis Kadar Logam Merkuri (Hg) dan (pH) Air Sungai Kuantan Terdampak Penambangan Emas Tanpa Izin, *Jurnal Pendidikan Kimia* Volum 2, No 1.
- Yulianti, E., Rakhmawati, A. dan Pertiwi K.R., 2015, Optimasi Produksi Senyawa Antimikrobia pada Cell Free Extraxt Hasil Fermentasi Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi, *Jurnal Sains Dasar*, 4(2), 140-144.
- Yuniarti, E., 2003, Aktivitas Protease Ekstraseluler dan Ketahanan Escherichia Coli Enteropatogen K1.1 pada Substrat Laktoperoksidase, Thesis Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.



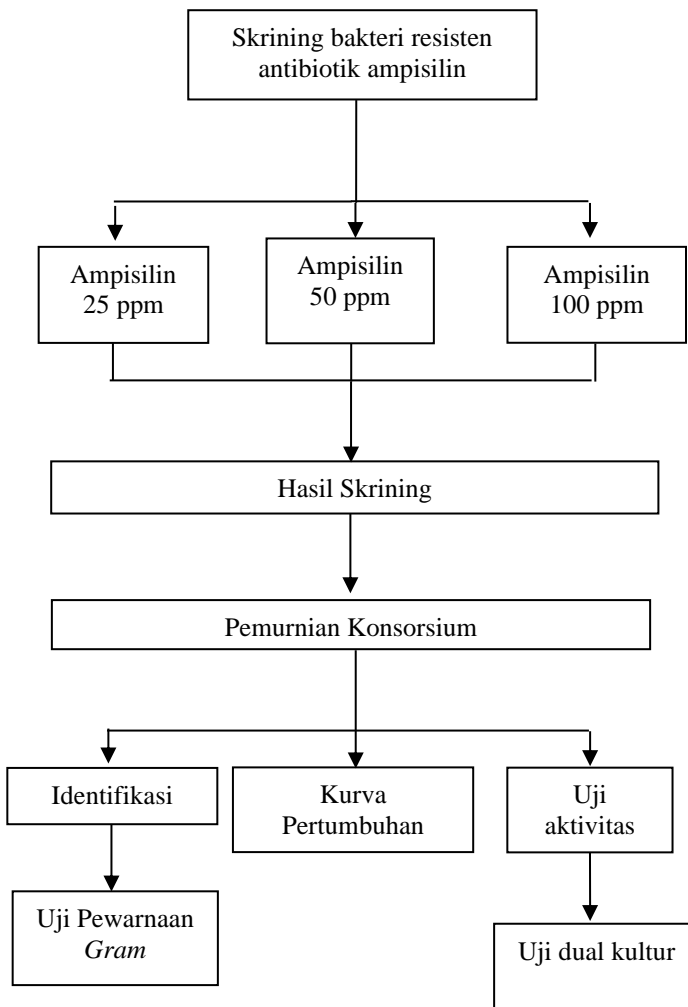


**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



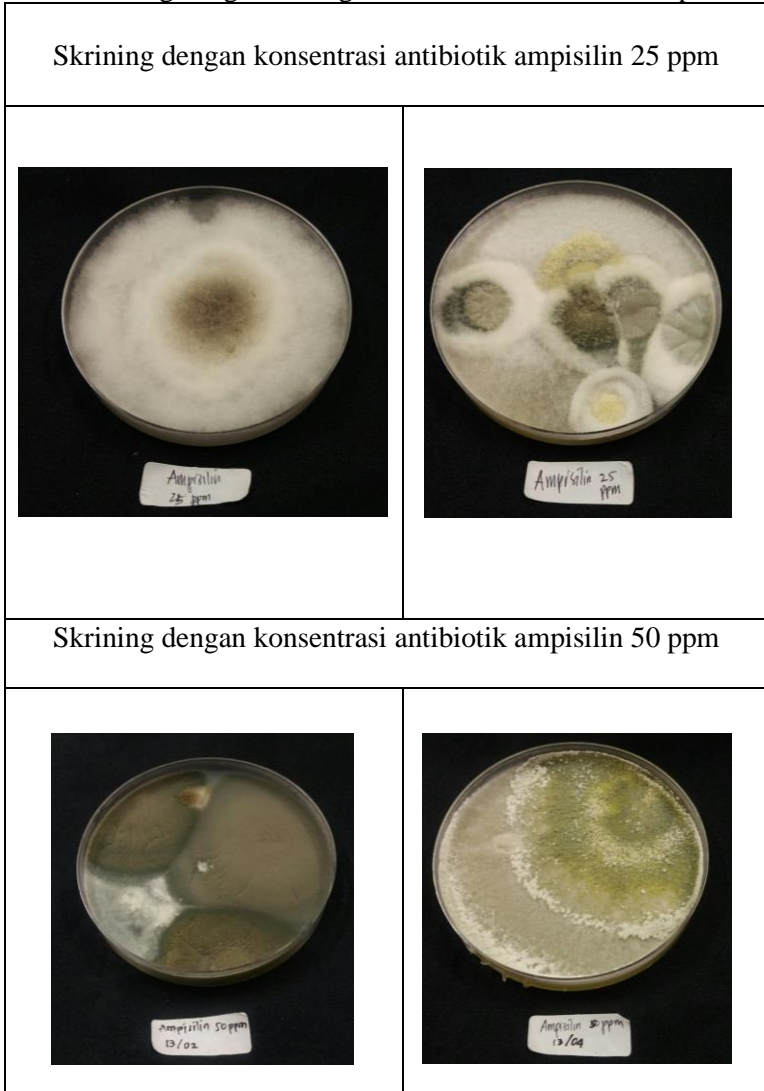
## LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir



## Lampiran 2. Gambar

Hasil Skrining dengan berbagai konsentrasi antibiotik ampisilin



Skrining dengan konsentrasi antibiotik ampisilin 100 ppm



## Lampiran 3. Perhitungan

**1. Pembuatan media agar ISP-2**

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

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

$$\text{Malt extract} = \frac{100 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 1 \text{ g}$$

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

$$\text{Yeast extract} = \frac{100 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,4 \text{ g}$$

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

$$\text{Dextrose} = \frac{100 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,4 \text{ g}$$

- Agar (Komposisi pelarutan = 20 g/L)

$$\text{Agar} = \frac{100 \text{ ml} \times 20 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 2 \text{ g}$$

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

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

$$\text{Malt extract} = \frac{50 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,5 \text{ g}$$

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

$$\text{Yeast extract} = \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

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

$$\text{Dextrose} = \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

- Agar (Komposisi pelarutan = 20 g/L)

$$\text{Agar} = \frac{50 \text{ ml} \times 20 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 1 \text{ g}$$

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

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

$$\text{Malt extract} = \frac{50 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,5 \text{ g}$$

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

$$\text{Yeast extract} = \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

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

$$\text{Dextrose} = \frac{50 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

- Agar (Komposisi pelarutan = 20 g/L)

$$\text{Agar} = \frac{50 \text{ ml} \times 20 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 1 \text{ g}$$

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

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

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

$$\textit{Malt extract} = \frac{10 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,1 \text{ g}$$

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

$$\textit{Yeast extract} = \frac{10 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,04 \text{ g}$$

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

$$\textit{Dextrose} = \frac{10 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,04 \text{ g}$$

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

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

$$\textit{Malt extract} = \frac{400 \text{ ml} \times 10 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 4 \text{ g}$$

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

$$\textit{Yeast extract} = \frac{400 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 1,6 \text{ g}$$

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

$$\textit{Dextrose} = \frac{400 \text{ ml} \times 4 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 1,6 \text{ g}$$



### 3. Pembuatan larutan stok Antibiotik Ampisilin

$$\begin{array}{r}
 \text{a) Pembuatan larutan stok antibiotik ampisilin 1000 ppm} \\
 \text{Hasil timbangan} \qquad \qquad \qquad = 690,9 \text{ mg} \\
 \text{Satu tablet ampilislin tertulis} \qquad = 500,0 \text{ mg} \quad - \\
 \hline
 \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad 190,9 \text{ mg}
 \end{array}$$

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

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 =  $100 \text{ mg} + 38,18 \text{ mg} = 138,18 \text{ mg}$ .

$$\text{b) Pengenceran larutan stok antibiotik ampisilin 100 ppm}$$

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

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

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

$$\text{c) Pengenceran larutan stok antibiotik ampisilin 10 ppm}$$

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

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

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

### 4. Pembuatan larutan stok Aantijamur Nystatin

Pembuatan larutan stok antijamur nystatin 1000 ppm

Konsentrasi nystatin dalam botol 12 mL =  $100.000 \text{ IU/ml} \approx 20.000 \text{ } \mu\text{g/ml} \approx 20.000 \text{ mg/L}$

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

$$20.000 \text{ } \mu\text{g/ml} \times V_1 = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

(berlaku untuk pengenceran dengan konsentrasi nystatin lebih rendah = 100 ppm)

## 5. Preparasi skrining sampel dengan variasi konsentrasi

- a) Pengenceran antijamur nystatin 5 ppm dalam media ISP-agar

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

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml (volume Erlenmeyer)}$$

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

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

- Konsentrasi Ampisilin 100 ppm dalam media

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

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL (volume Erlenmeyer)}$$

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

- Konsentrasi Ampisilin 50 ppm dalam media

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

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml (volume Erlenmeyer)}$$

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

- Konsentrasi Ampisilin 25 ppm dalam media

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

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml (volume Erlenmeyer)}$$

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

## BIODATA



Penulis bernama Tsabita Ariba Firyaaal Afaanin. Penulis dilahirkan di Bandung, 13 April 1997. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di SDN Dukuh Menanggal II Surabaya dan SDN Bringinbendo I Sidoarjo (2003-2009), SMPN 1 Taman (2009-2012), dan SMA Negeri 2 Sidoarjo (2012-2015). Penulis melanjutkan jenjang pendidikan S1 di Departemen Kimia dengan Nomor Registrasi Pokok (NRP) 01211540000100. Pada tahun kedua penulis pernah menjadi staff Himpunan Mahasiswa Kimia pada Departemen Hubungan Luar 2016/2017. Pada tahun ketiga penulis pernah menjadi pengurus inti sebagai Wakil Ketua Departemen Hubungan Luar Himpunan Mahasiswa Kimia 2018/2019, serta menjadi Ketua event *National Chemistry Challenge* 2018/2019. Penulis pernah menjalani kerja praktik di Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Teknologi Sistem (*Geosystem Technology Geotech*), Tangerang Selatan. Penulis menyelesaikan program Sarjana dengan mengambil tugas akhir di bidang Biokimia dibawah bimbingan Bapak Herdayanto Sulistyopo, S.Si.,M.Si. dan Bapak Hamdan Dwi Rizqi, S.Si.,M.Si. Penulis dapat dihubungi melalui alamat email berikut [tsabita.firyaaal15@gmail.com](mailto:tsabita.firyaaal15@gmail.com)