

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Rusip**

Rusip merupakan produk makanan tradisional khas dari daerah Bangka-Belitung berupa awetan ikan laut yang berukuran kecil terutama berbahan baku ikan teri (*Stolephorus sp.*). Ikan teri mengandung BAL yang menempel pada dinding ususnya (Nursyirwani *et al.* 2011). Rusip diolah melalui fermentasi dengan penambahan garam dan gula aren dalam jumlah tertentu. Masyarakat Belitung menyebut ikan teri adalah bilis (Susilowati *et al.* 2014). Rusip biasanya dikonsumsi sebagai campuran untuk sambal, baik dengan cara dimasak terlebih dahulu atau langsung dikonsumsi sebagai lauk dalam keadaan tanpa pemasakan (mentah). Rusip dibuat dari ikan yang diberi garam antara 10-25% dan beras atau gula aren sekitar 10%, yang kemudian difermentasi selama kurang lebih dua minggu secara anaerob. Fungsi gula aren adalah sebagai sumber energi dan nutrisi. Penambahan garam lebih dari 13% pada substrat kaya protein seperti ikan menghasilkan hidrolisis protein yang terkontrol sehingga mencegah pembusukan (Steinkraus 2002).

Rusip merupakan bahan makanan bernilai gizi tinggi. Komponen yang penting di dalam rusip adalah lemak, protein, asam amino dan asam lemak. Proses pengawetan ikan secara fermentasi akan melibatkan proses enzimatis kimiawi dan mikrobial selama proses fermentasi yang akhirnya menentukan karakteristik mikrobiologi dan kimia ikan fermentasi (Susilowati *et al.* 2014). BAL asal rusip yang diperoleh dari daerah Bangka telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi sebagai *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Enterococcus* (Sakti 2009). Strain BAL penghasil bakteriosin yang telah teridentifikasi dari Rusip adalah *Lactococcus lactis* dan *Pediococcus pentosaceus* (Kusmarwati *et al.* 2014). Bakteri-bakteri asam laktat dari rusip tersebut mampu menghasilkan bakteriosin (Sakti 2009). Rusip juga dilaporkan mengandung senyawa etil asetat, ber-pH rendah dan kadar air tinggi (Dessi 1999).

Makanan dan minuman merupakan medium pertumbuhan yang baik bagi bermacam-macam mikroorganisme. Pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme di dalam bahan pangan mengakibatkan kualitas makanan menjadi rusak dan terjadi pembentukan toksin. Mikroorganisme ada yang merugikan dan ada yang menguntungkan (Pelczar dan Chan 1988). Keuntungan mikroorganisme pada bahan makanan dan minuman yaitu dengan menghasilkan produk pangan khusus berupa pangan fermentasi seperti keju, tempe, tape, bir, yoghurt, acar buah, bekasam dan lain-lain yang dapat meningkatkan nilai gizi (Tarigan 1988).

Fermentasi ikan merupakan salah satu metode penerapan proses fermentasi pada produk perikanan. Fermentasi adalah proses yang melibatkan mikroorganisme seperti bakteri untuk mengubah substansi di dalam ikan, seperti gula menjadi alkohol dan asam (contohnya asam laktat) dan memproduksi substansi rasa seperti ester atau keton. Normalnya, fermentasi terjadi tanpa keberadaan oksigen. Tujuan fermentasi ikan itu sendiri adalah untuk mengawetkan ikan, membuat substansi rasa baru, atau mengubah tekstur (Sulistyaningrum 2008).

Fermentasi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu, spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan adalah jika proses pembuatan tidak dengan penambahan mikroorganisme dalam bentuk *starter* atau ragi, sedangkan fermentasi tidak spontan adalah proses pembuatan dengan penambahan *starter* atau ragi. Proses fermentasi yang optimal tergantung pada jenis organismenya. Faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah suhu, pH, substrat dan kandungan nutrisi medium (Sulistyaningrum 2008).

## B. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri Asam laktat (BAL) yaitu kelompok bakteri Gram positif, katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat, selnya berbentuk kokus, tersusun berpasangan atau berbentuk rantai, tidak bergerak, tidak berspora, anaerob fakultatif, bersifat non motil dan mesofil. BAL yang menghasilkan dua molekul asam laktat dari fermentasi glukosa merupakan kelompok bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif,

sedangkan BAL yang menghasilkan satu molekul asam laktat, satu molekul etanol dan satu molekul karbon dioksida adalah kelompok BAL yang bersifat heterofermentatif (Reddy *et al.* 2008).

BAL erat kaitannya dengan proses fermentasi pangan, dan telah berkembang dalam fermentasi pangan. BAL sering ditemukan secara alamiah dalam bahan pangan. Bakteri ini secara luas terdistribusi pada susu, daging segar, sayuran, serta produk-produk lainnya. Bakteri ini termasuk mikroorganisme GRAS (*Generally Recognized as Safe*) atau golongan mikroorganisme yang aman ditambahkan dalam makanan karena sifatnya yang tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, yang dikenal dengan sebutan “*food grade microorganism*”, yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan (Alakomi *et al.* 2000).

BAL dapat menghasilkan molekul antagonis pada media pertumbuhannya yang dapat dipakai sebagai antimikroba dan pengawet. Sifat antagonis BAL yang aman dalam produk fermentasi makanan tradisional yang menyebabkannya sangat bermanfaat sebagai biopreservatif untuk menggantikan atau mengurangi bahan kimia aditif. BAL secara alami dapat ditambahkan sebagai starter untuk memperpanjang umur simpan fermentasi produk. Daya awet produk dapat terjadi karena penghambatan pertumbuhan bakteri pembusukan dari bakteri patogen makanan. Hal tersebut terjadi karena adanya persaingan nutrisi dan senyawa antagonis yang dihasilkan oleh BAL (Noordiana *et al.* 2013). Molekul antagonis yang diproduksi BAL adalah asam laktat, asam asetat, bakteriosin, metabolit primer, hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, asetaldehid. Bakteri asam laktat mampu menurunkan pH lingkungannya, penurunan pH tersebut juga dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri patogen terhambat (Usmiati 2012).

Salah satu molekul antagonis yang diproduksi oleh BAL adalah bakteriosin. Bakteriosin merupakan antimikroba atau protein yang diproduksi oleh strain beragam spesies bakteri. Target kerja dari bakteriosin adalah dinding sel bakteri. Hal tersebut berakibat fatal bagi kelangsungan hidup sel tersebut, karena semua sel hidup dibatasi oleh dinding sel yang bersifat selektif permeabel, melakukan pengangkutan aktif, sehingga berperan dalam mengendalikan

komponen dalam sel. Apabila integritas fungsi sel sitoplasma terganggu maka substansi yang terdapat di dalam sel akan lolos sehingga menimbulkan kerusakan hingga kematian sel (Drider *et al.* 2006). Beberapa genera yang dapat memproduksi bakteriosin dan mempunyai aktivitas hambat besar terhadap pertumbuhan beberapa bakteri patogen adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* dan *Propionibacterium* yang terdapat di dalam saluran pencernaan (Usmiati 2012).

Penelitian mengenai peran BAL sebagai antibakteri telah banyak dilakukan. Penelitian-penelitian tersebut diantaranya yaitu isolat BAL dari produk kimchi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* (Yolanda dan Meitiniarti 2017). Hasil penelitian Papuangan dan Nurhasanah (2014) menunjukkan bakasam yang terbuat dari fermentasi hasil perikanan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli*. Penelitian dari Indriati *et al.* (2006) juga menunjukkan BAL yang diisolasi dari produk peda, jambal roti dan bekasam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.

## C. Media

Media adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi atau zat-zat hara (nutrien) yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Selain itu, medium juga dipergunakan untuk isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Untuk menetapkan suatu jenis mikroba sebagai penyebab penyakit harus terlebih dahulu mendapatkan mikroba dalam keadaan murni untuk diselidiki sifat-sifatnya. Untuk tujuan tersebut sangat diperlukan suatu medium sebagai tempat tumbuh dan isolasi mikroorganisme. Pembiakan mikroba dalam laboratorium memerlukan media yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai dengan mikroorganisme (Waluyo 2008).

### 1. Klasifikasi Media

Media untuk tumbuh bakteri dapat dibedakan berdasarkan sifatnya yaitu, media umum, media pengaya, media selektif, media differensial dan media

penguji. Media umum dapat digunakan untuk menumbuhkan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum, seperti Nutrien Agar. Media pengaya digunakan untuk memberi kesempatan terhadap satu jenis atau kelompok mikroba untuk tumbuh dan berkembang lebih cepat dari lainnya yang bersama-sama dalam satu sampel. Media selektif adalah media yang hanya dapat ditumbuhkan oleh satu atau lebih mikroorganisme tertentu, tetapi akan menghambat atau mematikan jenis lainnya. Media differensial yaitu media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroba tertentu serta penentuan sifat-sifatnya. Media penguji digunakan untuk penguji senyawa atau benda-benda tertentu dengan bantuan mikroba (Radji 2011).

## 2. Macam-macam Media

Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematat seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya. Ada tiga jenis bentuk media yaitu media padat, media cair dan media semi padat atau semi cair. Media padat pada umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikroalga. Bahan media padat ditambahkan antara 12-15 g tepung agar-agar per 1000 mL media. Media cair tidak hanya digunakan untuk pembiakan mikroalga tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi. Pada media cair ini tidak ditambahkan media pematat. Kemudian yang terakhir adalah media semi padat, penambahan zat pematat dalam media ini hanya 50% atau kurang dari seharusnya. Media ini umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerob atau fakultatif (Radji 2011).

## D. Sterilisasi

Sterilitas adalah suatu tindakan untuk membebaskan alat serta media dari kontaminasi mikroba. Alat atau bahan dikatakan steril apabila bahan atau alat tersebut bebas dari mikroba, baik dalam bentuk vegetatif maupun bentuk spora. Tindakan yang dilakukan untuk membebaskan alat atau media dari jasad renik disebut dengan sterilisasi. Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan proses penghilangan semua jenis organisme hidup, dalam hal ini adalah mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma, virus) yang terdapat pada suatu benda.

Proses ini melibatkan proses fisik dengan tujuan untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme (Suriawiria 2005).

Cara sterilisasi yang umum digunakan yaitu sterilisasi secara fisik, sterilisasi secara mekanik misalnya dengan pemanasan, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar X, sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia, misalnya dengan penggunaan disinfektan, larutan alkoohol dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik, misal dengan penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008). Bahan dan peralatan yang digunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Suriawiria 2005).

Media yang akan dipakai disterilisasi terlebih dahulu dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan *beaker glass* disterilkan dengan oven pada suhu 170°C - 180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Radji 2011).

## E. Infeksi Nosokomial

Infeksi nosokomial atau infeksi yang diperoleh dari rumah sakit adalah infeksi yang tidak diderita pasien saat masuk ke rumah sakit melainkan setelah ± 72 jam berada di tempat tersebut. Infeksi ini terjadi bila toksin atau agen penginfeksi menyebabkan infeksi lokal atau sistemik. Contoh penyebab terjadinya infeksi nosokomial adalah apabila dokter atau suster merawat seorang pasien yang menderita infeksi karena mikroorganisme patogen tertentu kemudian mikroorganisme dapat ditularkan ketika terjadi kontak. Apabila suster atau dokter yang sama merawat pasien lainnya, maka ada kemungkinan pasien lain dapat tertular infeksi dari pasien sebelumnya. Semua mikroorganisme termasuk bakteri, virus, jamur dan parasit dapat menyebabkan infeksi nosokomial. Infeksi ini dapat disebabkan oleh mikroorganisme yang didapat dari orang lain (*cross infection*)

atau disebabkan oleh flora normal dari pasien itu sendiri (*endogenous infection*). Kebanyakan infeksi yang terjadi di rumah sakit lebih disebabkan karena faktor eksternal, yaitu penyakit yang penyebarannya melalui makanan dan udara dan benda atau bahan-bahan yang tidak steril (Baharutan *et al.* 2015). Penyakit yang didapat dari rumah sakit saat ini kebanyakan disebabkan oleh mikroorganisme yang umumnya selalu ada pada manusia yang sebelumnya tidak atau jarang menyebabkan penyakit pada orang normal. Mikroorganisme penyebab infeksi nosokomial yaitu *S. aureus*, *Staphylococci* koagulase negatif, *Enterobacteriaceae* *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, Fungi (kebanyakan *Candida albicans*), bakteri Gram negatif lain (*Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Haemophilus*) (Siti 2011).

#### **F. Infeksi Saluran Kemih (ISK)**

ISK merupakan suatu infeksi baik pada saluran kemih atas dan atau bawah, dimana jumlah bakteri  $>10^5$  koloni perunit bakteri permililiter (CFU/ml) dalam satu spesimen urin (Bradley dan Colgan *et al* 2005). ISK secara umum diklasifikasikan sebagai infeksi yang melibatkan saluran kemih bagian atas atau bawah. ISK bawah termasuk sistitis, prostatitis dan uretritis. ISK atas termasuk pielonefritis, nefritis interstisial dan abses renal (3). *E. coli* merupakan agen penyebab  $>95\%$  dari kasus ISK (5). Di laboratorium klinik Mikrobiologi Universitas Indonesia pada tahun 2002 jenis bakteri penyebab ISK terbanyak ialah *E. coli*, kedua ialah *Klebsiella pneumoniae* (4). Beberapa penelitian menunjukkan adanya faktor-faktor yang dapat menyebabkan terjadinya ISK seperti umur, jenis kelamin, berbaring lama, penggunaan obat immuno-supresan dan steroid, pemasangan katerisasi, kebiasaan menahan kemih dan kebersihan genitalia (Sholihah 2017). Angka kejadian ISK meningkat pada pasien berumur 40 tahun ke atas dengan puncak tertinggi yaitu pada kelompok umur 50-59 tahun. Sebagian besar pasien ISK berjenis kelamin perempuan (Shirby & Soeliongan, 2013).

#### **G. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri osmotoleran, yaitu bakteri yang dapat hidup di lingkungan dengan rentang konsentrasi zat terlarut

(contohnya garam) yang tinggi, dan dapat hidup pada konsentrasi NaCl sekitar 3 Molar. *S. aureus* tumbuh dengan optimum pada suhu 37°C dengan waktu pembelahan 0,47 jam. Bakteri ini biasanya terdapat pada saluran pernafasan atas dan kulit, keberadaan *S. aureus* pada saluran pernafasan atas dan kulit pada individu jarang menyebabkan penyakit, individu sehat biasanya hanya berperan sebagai karier (Radji 2011).

### **1. Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus***

Sistematika bakteri *S. aureus* menurut Radji (2011) adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	Bacteria
Divisi	:	Firmicutes
Kelas	:	Bacilli
Ordo	:	Bacillales
Famili	:	Staphylococcaceae
Genus	:	Staphylococcus
Spesies	:	<i>Staphylococcus aureus</i>

### **2. Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif anaerobik fakultatif berbentuk coccus (bulat) yang memiliki ukuran 0,7-1,2 µm. Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 15-40°C dan tumbuh pada suhu optimum 35°C. *S. aureus* memiliki bentuk tidak beraturan yang bergerombol seperti buah anggur. Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau serta membentuk pigmen berwarna kuning emas. Bakteri *S. aureus* kebanyakan berkoloni di saluran hidung dan di bagian tubuh yang lain (Radji 2011).

### **3. Patofisiologi bakteri *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* terdapat pada lubang hidung, tenggorokan, dan sebagian besar juga terdapat pada rambut dan kulit. *S. aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi yang bersifat pyogenes (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini dapat masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat atau luka-luka kecil. Mekanisme infeksi bakteri *S. aureus* yaitu dengan cara melakukan pelekatan pada protein sel inang, invasi, perlawanan terhadap sistem pertahanan inang, dan

pelepasan beberapa jenis toksin. Struktur sel *S. aureus* memiliki protein permukaan untuk membantu penempelan bakteri pada sel inang. Protein yang dimaksud adalah laminin dan fibronektin yang mampu meningkatkan penempelan bakteri pada darah dan jaringan (Radji 2011).

#### **4. Pengobatan bakteri *Staphylococcus aureus***

Pengobatan penyakit akibat bakteri *S. aureus* untuk kasus ringan di luar Rumah Sakit dapat di berikan penisilin G. Apabila infeksi yang di derita pasien termasuk infeksi yang berat atau bakteri *S. aureus* resisten terhadap penisilin, maka dapat di berikan metisilin atau derivat penisilin lain yang resisten penisilin. Pasien yang terkena abses peka terhadap penisilin maka pemilihan terapi pertama menggunakan antibiotik nafsilin atau oksasilin dan pemulihian terapi kedua menggunakan antibiotik golongan sefalosporin generasi pertama, kedua, secara berurutan. Sedangkan terapi pilihan ketiga menggunakan antibiotik klindamisin (Radji 2011).

#### **H. *Escherichia coli***

*Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang hingga berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam air dan dalam tanah. Mekanisme kerja *E. coli* untuk dapat menyebabkan diare yaitu dengan memproduksi enterotoksin yang secara tidak langsung menyebabkan kehilangan cairan dan dengan invasi yang sebenarnya pada lapisan epitelium dinding usus, yang menyebabkan peradangan dan kehilangan cairan (Jawetz *et al.* 2012).

#### **1. Sistematika bakteri *Escherichia coli***

Menurut Jawetz *et al.* (2012) *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Fillum	: Proteobakteria
Class	: Gamma Proteobakteria
Ordo	: Enterobakteriales
Famili	: Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia  
 Species : *Escherichia coli*

## **2. Morfologi bakteri *Escherichia coli***

*E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, dapat memfermentasikan glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *E. coli* dapat tumbuh baik pada media Mc Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. Dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas hidrogen dan karbondioksida (Pelczar dan Chan 1998). *E. coli* berbentuk batang pendek (cocobasil) dengan ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ . Sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa strain memiliki kapsul (Jawetz *et al.* 2012).

## **3. Patogenesis bakteri *Escherichia coli***

*E. coli* banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, maka bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* pada umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada salura kencing, paru-paru, saluran empedu dan saluran otak. Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Jawetz *et al.* 2012).

## **I. Antibakteri**

Antibakteri merupakan substansi yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme (bakteri), yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan ataupun membunuh mikroorganisme lain. Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam larutan, konsentrasi dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kerentanan mikroorganisme terhadap obat dengan konsentrasi tertentu. Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba *in vitro* yaitu pH lingkungan, komponen medium, stabilitas

obat, ukuran inokulum, lama inkubasi, dan aktivitas metabolismik mikroorganisme (Andries *et al.* 2014).

### **J. Metode Pengujian Antibakteri**

Pengujian antibakteri diperlukan untuk memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Uji aktivitas suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Jawetz *et al.* (2007) uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan adalah metode difusi dan dilusi.

#### **1. Metode Difusi**

Metode difusi merupakan metode yang sering digunakan. Metode ini biasanya digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diperiksa. Metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode sumuran dan metode cakram kertas/*disc diffusion*. Metode sumur yaitu membuat sumuran pada agar padat yang telah diinokulasi mikroba. Sumuran pada media yang telah dibuat diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji selanjutnya diinkubasi dan dilakukan pengamatan pertumbuhan mikroba untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling sumuran. *Disc diffusion* dapat dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba (Jawetz *et al.* 2007).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi metode difusi agar yaitu ketebalan medium agar, jumlah inokulum, kompsisi media agar, suhu inkubasi, waktu inkubasi dan pH. Keuntungan metode difusi adalah cepat, lebih mudah, tidak membutuhkan alat dan bahan yang banyak, sehingga efektif sebagai pembanding. Kelemahan dari metode difusi adalah tidak dapat menentukan apakah suatu obat (agen kemoterapi) sebagai bakterisidal dan bukan hanya bakteriostatik (Jawetz *et al.* 2007).

#### **2. Metode Dilusi**

Metode dilusi digunakan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat

terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan. Prinsip metode dilusi adalah senyawa antimikroba yang diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi mikroba uji dalam media cair yang kemudian diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM, selanjutnya KHM tersebut dikultur ulang pada media agar tanpa penambahan mikroba uji ataupun senyawa antimikroba, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Jawetz *et al.* 2007).

Keuntungan dari metode dilusi adalah dapat mengetahui KHM dan KBM. Bahan uji pada metode dilusi cair lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar hingga metode ini lebih peka. Kekurangan metode ini adalah memerlukan waktu yang relatif lebih lama, tidak praktis, dan sampel yang digunakan ini harus jernih, karena bila keruh dapat mempersulit pengamatan (Jawetz *et al.* 1986). Prinsip dari metode dilusi adalah penghambatan pertumbuhan mikroba dalam pemberian cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam pemberian yang dapat membunuh mikroba secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Jawetz *et al.* 2007).

## K. Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik berspektrum luas, menghambat bakteri Gram positif dan negatif aerob dan anaerob, Klamidia, Rickettsia, dan Mikoplasma. Kloramfenikol berbentuk hablur halus, jarum atau lempeng memanjang, putih sampai putih kelabu atau putih kekuningan, tidak berbau dan rasa sangat pahit. Larut dalam lebih kurang 400 bagian air, dalam 2,5 bagian etanol 95% dan dalam 7 bagian propilenglikol P, sukar larut dalam kloroform P dan dalam eter. Kloramfenikol dapat menyerap sinar Ultraviolet di dalam air pada panjang gelombang 278 nm. Berkhasiat sebagai antibiotikum. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri. Obat ini terikat pada ribosom

subunit 50s dan menghambat enzim peptidil tansferase sehingga ikatan peptida tidak terbentuk pada proses sintesis protein kuman. Senyawa ini termasuk antibiotika yang paling stabil. Larut dalam air pada pH 6 menunjukkan kecenderungan terurai yang paling rendah. Dalam basa akan terjadi penyabunan ikatan amida dengan cepat (Setiabudy dan Rianto 2007).

## L. Landasan Teori

Makanan atau minuman merupakan medium pertumbuhan yang baik bagi bermacam-macam mikroorganisme. Pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme di dalam bahan pangan mengakibatkan kualitas pangan menjadi rusak dan terjadi pembentukan toksin. Terdapat mikroorganisme yang merugikan dan ada mikroorganisme yang bersifat menguntungkan (Pelczar dan Chan 1988). Keuntungannya yaitu dengan menghasilkan produk pangan khusus berupa pangan fermentasi seperti keju, tempe, tape, bir, yoghurt, acar buah, bekasam dan lain-lain yang dapat meningkatkan nilai gizi (Tarigan 1988).

Rusip merupakan bahan makanan bernilai gizi tinggi. Komponen yang penting di dalam rusip adalah lemak, protein, asam amino dan asam lemak. Penelitian yang telah dilakukan pada rusip dari daerah Bangka menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang terkandung dalam rusip adalah genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* dan *Enterococcus*. Seluruh bakteri asam laktat dari rusip tersebut mampu menghasilkan bakteriosin (Sakti 2009). Strain BAL penghasil bakteriosin yang telah teridentifikasi dari Rusip adalah *Lactococcus lactis* dan *Pediococcus pentosaceus* (Kusmarwati *et al.* 2014). Rusip juga dilaporkan mengandung senyawa etil asetat, ber-pH rendah dan kadar air tinggi (Dessi 1999).

BAL yaitu kelompok bakteri Gram positif, katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat, selnya berbentuk kokus, tersusun berpasangan atau berbentuk rantai, tidak bergerak, tidak berspora, anaerob fakultatif, bersifat non motil dan mesofil (Reddy *et al.* 2008). Bakteri asam laktat secara alami dapat ditambahkan sebagai starter untuk memperpanjang umur simpan fermentasi produk. Daya awet produk dapat terjadi

karena penghambatan pertumbuhan bakteri pembusuk dan bakteri patogen makanan. Hal tersebut terjadi karena adanya persaingan nutrisi dan adanya senyawa antagonis yang dihasilkan oleh BAL (Noordiana *et al.* 2013).

BAL dapat menghasilkan molekul antagonis pada media pertumbuhannya yang dapat dipakai sebagai antimikroba dan pengawet. Molekul antagonis yang diproduksi BAL adalah asam laktat, asam asetat, bakteriosin, metabolit primer, hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, asetaldehid. Bakteri asam laktat mampu menurunkan pH lingkungannya dengan mengeksresikan senyawa yang dapat menghambat bakteri patogen (Usmiati 2012). Salah satu molekul antagonis yang diproduksi oleh BAL adalah bakteriosin. Target kerja dari bakteriosin adalah membran sitoplasma sel bakteri. Semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang bersifat selektif permeabel, melakukan pengangkutan aktif, sehingga berperan dalam mengendalikan komponen didalam sel. Apabila integritas fungsi sel sitoplasma terganggu maka substansi yang terdapat di dalam sel akan lolos dari sel sehingga menimbulkan kerusakan hingga kematian sel (Drider *et al.* 2006).

Hasil penelitian Desniar *et al.* (2011) menunjukkan isolasi BAL dari produk fermentasi ikan “bekasam” dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *L. monocytogenes*. Isolat BAL dari produk fermentasi udang rebon “terasi” juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif seperti *Eschericia coli*, *Vibrio parahaemolitycus* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian Delves-Broughton (1993) menunjukkan bahwa bakteriosin yang diproduksi dari strains BAL *Lactococcus lactis* dengan konsentrasi 75 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

Infeksi nosokomial atau infeksi yang diperoleh dari rumah sakit adalah infeksi yang tidak diderita pasien saat masuk ke rumah sakit melainkan setelah ±72 jam berada di tempat tersebut. Infeksi ini terjadi bila toksin atau agen penginfeksi menyebabkan infeksi lokal atau sistemik (Baharutan *et al.* 2015). Mikroorganisme penyebab infeksi nosokomial yaitu *S. aureus*, *Staphylococci* koagulase negatif, *Enterobacteriaceae* *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, Fungi

(kebanyakan *Candida albicans*), bakteri Gram negatif lain (*Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Haemophilus*) (Siti 2011). ISK merupakan suatu infeksi baik pada saluran kemih atas dan atau bawah, dimana jumlah bakteri  $>10^5$  koloni perunit bakteri permililiter (CFU/ml) dalam satu spesimen urin (Bradley dan Colgan *et al* 2005). ISK adalah infeksi yang paling sering dialami oleh masyarakat dunia, bakteri patogen yang menjadi penyebab adalah *E. coli* (Klapaczyńska 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang dihasilkan BAL dari produk Rusip terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode difusi dan dilusi.

### **M. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori diatas, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu :

Pertama, didalam produk rusip terdapat BAL.

Kedua, supernatan BAL produk rusip memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, konsentrasi 200 ppm, 400 ppm dan 800 ppm dari supernatan BAL produk rusip memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keempat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari supernatan BAL produk rusip 200 ppm dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari BAL produk rusip 200 ppm terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

