

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tahu

Tahu merupakan produk pangan tradisional asal Tiongkok dan pertama kali dikenal pada masa Dinasti Han, sekitar 2200 tahun yang lalu. Seiring berjalannya waktu, kini tahu sudah menyebar ke negara-negara kawasan Asia seperti Korea, Jepang, dan termasuk Indonesia. Sebagai makanan tradisional, tahu disukai masyarakat berkat rasa khasnya yang nikmat dengan kandungan gizi yang tinggi dan memiliki harga yang murah (Saleh, Alwi dan Herdhiansyah, 2021). Pada 100 gram tahu terkandung energi yang mencapai 68 kkal, 7,8 gram protein, 63 mg fosfor, dan 4,6 gram lemak. Tahu memiliki mutu protein terbaik yaitu asam amino dengan komposisi kompleks sehingga mampu menjadi makanan andalan dalam perbaikan gizi. Kandungan gizi dalam tahu meliputi nutrient makro, yaitu protein, karbohidrat, dan lemak, serta nutrient mikro yakni kalium, fosfor, kalsium, vitamin B12, vitamin B kompleks, dan vitamin E. Tahu juga mengandung isoflavon yang dihasilkan oleh kedelai. Kandungan isoflavon ini memiliki peran penting dalam pencegahan kanker payudara dan bertindak sebagai antioksidan yang mampu memperlambat proses penuaan pada wanita (Seftiono, 2017).

Bahan dasar utama tahu yaitu kacang kedelai yang mengandung sumber protein non hewani (Herdhiansyah dkk., 2022). Proses pembuatan tahu meliputi beberapa tahapan, yang dimulai dari sortasi, perendaman, penggilingan dan pengenceran, perebusan, penyaringan, penggumpalan, pencetakan, pengirisan, serta pengemasan. Sortasi merupakan tahap awal dalam pembuatan tahu untuk

mendapatkan kedelai berkualitas baik dan terbebas dari kotoran. Perendaman memiliki tujuan untuk melunakkan struktur seluler dari biji kedelai sehingga mempermudah proses penggilingan. Lama perendaman kedelai dapat memengaruhi penurunan kadar protein dan pH, namun akan meningkatkan kadar air. Proses pencucian merupakan proses yang dilakukan setelah proses perendaman dan dilanjutkan dengan penggilingan menggunakan mesin. Kedelai yang sudah digiling akan direbus dengan suhu 100°C sekitar 10-15 menit untuk menonaktifkan *trypsin inhibitor* dan meningkatkan nilai gizi yang terkandung. Proses pembuatan dilanjutkan dengan penyaringan dan ditambahkan cairan cuka tahu (CaSO_4). Penambahan cuka berfungsi untuk mengendapkan tahu dan menggumpalkan protein di dalamnya yang menyebabkan terjadinya pemisahan antara cairan (*whey*) dan endapan tahu. Pembentukan endapan tersebut sebagai hasil reaksi antara senyawa protein dengan zat asam yang ditambahkan. Proses dilanjutkan dengan pencetakan, pengirisan, dan pengemasan (Saleh, Alwi and Herdhiansyah, 2021).

Proses pembuatan tahu tidak hanya menghasilkan produk akhir yang bernilai gizi, namun juga menimbulkan limbah berbentuk padat dan cair. Pada buangan industri tahu dalam bentuk limbah cair terkandung bahan organik yang sangat tinggi. Kandungan organik ini mencakup karbohidrat, protein, minyak, dan lemak (Pagoray, Sulistyawati dan Fitriyani, 2020).

B. Limbah Tahu

Limbah tahu merupakan sisa hasil produksi tahu dalam bentuk padat dan cair. Kegiatan produksi tahu menimbulkan limbah dalam bentuk padat yang terdiri

dari ampas hasil penyaringan bubur kedelai serta kotoran yang muncul saat proses pembersihan tahu. Limbah cair mencakup air bekas perendaman kedelai, cairan dari tahu yang gagal menggumpal, beserta air limbah berwarna kuning muda hingga keabu-abuan yang tampak keruh (Yudhistira, Andriani dan Utami, 2018). Limbah cair ini akan mengalami penguraian secara alami oleh mikroorganisme setelah dibuang ke lingkungan selama pembuangan. Proses ini akan dimulai dari tahap hidrolisis yaitu penguraian zat organik pada limbah cair tahu seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Tahap berikutnya yaitu tahap asidifikasi atau dikenal dengan pengasaman yang merupakan tahap senyawa organik hasil dari proses hidrolisis diubah menjadi asam organik. Tahapan akhir melibatkan konversi biologis asam organik menjadi biogas (Prihartantyo, 2020).

Umumnya limbah padat hasil produksi tahu digunakan sebagai bahan baku pakan ternak, kerupuk yang berbahan ampas tahu, serta pembuatan tempe gembus, sedangkan limbah cair tahu langsung dibuang ke sungai (Cahyani dkk., 2021). Hal ini dapat berdampak buruk terhadap kualitas air, seperti menimbulkan aroma tidak sedap di sungai atau wilayah sekitar lokasi pembuangan limbah tersebut. Limbah cair tahu memang mampu menimbulkan dampak negatif pada kegiatan industri, meski demikian jika limbah cair tahu dikelola dengan baik dan dimanfaatkan potensinya, maka limbah cair tahu akan berdampak positif. Dampak positif dapat tercapai melalui penerapan teknologi dengan pengolahan yang tepat sehingga tidak hanya menurunkan efek buruk pada lingkungan, tetapi mampu menambah nilai ekonomis terhadap limbah tersebut. Pendekatan pengelolaan limbah yang bisa diterapkan dalam industri tahu yaitu konsep *waste to product* dengan memanfaatkan kembali limbah dari proses produksi tahu sebagai

komponen dasar untuk menciptakan inovasi produk bernilai lebih (Yudhistira, Andriani dan Utami, 2018).

Bahan organik yang terkandung dalam limbah cair tahu yakni protein yang memiliki persentase yang mencapai 40-60%, karbohidrat sejumlah 25-50%, serta lemak sejumlah 10% (Khuriyah dkk., 2023). Kandungan bahan organik tersebut memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikroba, salah satunya yaitu bakteri asam laktat. Kandungan nutrisi yang lengkap dalam limbah tahu, khususnya kandungan protein diharapkan dapat memenuhi kebutuhan nitrogen dan mineral yang diperlukan sebagai sumber bagi media strater bakteri asam laktat (Yeni, Meryandini dan Sunarti, 2016).

C. Bakteri Asam Laktat

1. Morfologi dan fisiologi

Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme dengan kemampuan memfermentasikan karbohidrat guna membentuk produk utamanya berupa asam laktat. Bakteri ini tergolong bakteri Gram positif bercirikan bentuk batang (*bacillus*) atau bulat (*coccus*), non spora, serta katalase negatif (Siska, 2023). Bakteri asam laktat memiliki sifat mesofilik dan termofilik, sejumlah spesies mampu tumbuh di suhu 5°C hingga 45°C. Bakteri ini dapat bertahan dalam rentang pH yang luas yaitu dari pH 1,2 hingga 9,6, meskipun sejumlah spesies hanya mampu tumbuh dalam rentang pH yang lebih terbatas, yakni antara pH 4,0 hingga 4,5. Bakteri asam laktat juga mampu memproduksi asam laktat dengan cepat sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba lainnya (Finanda, Mukarlina dan Rahmawati, 2021).



Gambar 1. Morfologi Bakteri Asam Laktat

(Sumber Putri dan Kusdiyantini, 2018)

Prinsip kerja bakteri asam laktat dalam memfermentasi makanan yaitu tidak menyebabkan pembusukan, melainkan melalui dua mekanisme fermentasi yakni homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat dengan sifat homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi gula, namun pada heterofermentatif akan menghasilkan sejumlah produk yakni asam laktat, CO₂, asam asetat, serta etanol (Rahmiati dan Simanjuntak, 2019). Sumber-sumber alami menyediakan tempat untuk memperoleh bakteri asam laktat terutama pada bahan makanan dan minuman fermentasi, seperti produk susu fermentasi (dadih yogurt), sayuran acar, serta daging (Okfrianti, Darwis dan Pravita, 2018). Keberadaan bakteri ini juga dapat ditemui pada air susu ibu, saluran pencernaan hewan seperti unggas, dan fermentasi ikan (Rahmiati dan Simanjuntak, 2019). Secara alami, bakteri ini mampu tumbuh pada lingkungan kaya karbohidrat yang mendukung fermentasi serta memerlukan protein dan mineral sebagai nutrisi pertumbuhan.

2. Klasifikasi bakteri asam laktat

Sudiarta dan Semariyani (2023) menyebutkan bahwa bakteri asam laktat dapat diklasifikasikan berdasarkan tingkat taksonominya yang meliputi kingdom

Bacteria, filum *Firmicutes*, kelas *Bacilli*, dan ordo *Lactobacillales*, yang terdiri dari famili yang berbeda yaitu *Streptococcaceae* dan *Lactobacillaceae*. *Streptococcaceae* terdiri dari bakteri berbentuk kokus dari genus *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus*, sedangkan *Lactobacillaceae* terdiri dari bakteri berbentuk batang dengan genus *Lactobacillus*. Setiap genus memiliki kriteria yang berbeda, hal ini mengacu pada karakteristik morfologi, jenis fermentasi, daya tumbuh pada suhu yang bervariasi, sifat stereospesifik, dan daya tahan terhadap asam dan basa.

a. Genus *Streptococcus*

Bakteri pada genus ini memiliki bentuk kokus yang berpasangan atau berantai dengan ukuran 0,7-0,9 μm , Gram positif, non-motil, tidak membentuk spora, bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif serta memiliki tipe fermentasi homofermentatif. Suhu optimum pertumbuhan bakteri pada genus ini yaitu 37°C hingga 40°C. Dalam media glukosa, bakteri pada genus ini mampu menurunkan pH hingga 4,0 dan mampu memfermentasikan fruktosa dan manosa serta memproduksi asam laktat dengan konfigurasi L(+) asam laktat. Terdapat 4 spesies pada genus ini yaitu *S. latic*, *S. latic sub Sp. diacetylatics*, *S. cremonis*, dan *S. thermophilus*. Umumnya *S. latic* dan *S. latic sub Sp. diacetylatics* dapat ditemukan pada bahan nabati seperti jagung, biji-bijian, buah mentimun, kentang, rumput, kubis, dan daun cengkeh, sedangkan *S. cremonis*, dan *S. thermophilus* dapat ditemukan pada susu, keju, dan susu terfermentasi lainnya.

b. Genus *Leuconostoc*

Bakteri yang terdapat pada genus tersebut tergolong bakteri Gram positif berbentuk kokus, tersusun berpasangan atau berantai, non motil, non spora,

katalase negatif, bersifat anaerob fakultatif dengan tipe fermentasi heterofermentatif. Umumnya genus ini dapat dijumpai pada permukaan tumbuhan, bahan pangan hewani seperti daging dan olahannya, serta berbagai jenis produk susu. Bakteri pada genus ini mampu memfermentasikan beberapa sayur seperti acar dan sauerkraut. Terdapat 5 spesies dari Genus *Leuconostoc* yakni *Leu. mesenteroides*, *Leu. paramesenteroides*, *Leu. lactis*, *Leu. carnosum* dan *Leu. gelidum*. *Leuconostoc mesenteroides* mempunyai tiga subspecies yaitu *Leu. mesenteroides subsp. mesenteroides*, *Leu. mesenteroides subsp. dextranicum* dan *Leu. mesenteroides subsp. Cremoris*.

c. Genus *Pediococcus*

Anggota genus *Pediococcus* merupakan bakteri dengan bentuk kokus berpasangan atau tetrad maupun bergerombol, kelompok bakteri Gram positif, hasil negatif pada uji katalase, memiliki sifat mikroaerofilik, serta memiliki tipe fermentasi homofermentatif. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk memfermentasi gula, memproduksi asam sebanyak 0,5-0,9% sebagian besar asam laktat, mampu berkembang dalam larutan garam 5,5%, memiliki suhu pertumbuhan dalam rentang suhu 7°C hingga 45°C dan suhu idealnya berada di kisaran 25°C hingga 32°C. Genus *Pediococcus* memiliki beberapa spesies seperti *P. cerevisiae*, *P. halophilus*, *P. pentosaceus* beserta *P. acidilactici*. Umumnya spesies dari genus tersebut dijumpai dalam berbagai makanan hasil fermentasi kecap, miso, serta olahan daging dan ikan terfermentasi.

d. Genus *Lactobacillus*

Bakteri genus *Lactobacillus* memiliki bentuk batang dan termasuk kelompok bakteri Gram positif dengan katalase negatif, bersifat mikroaerofilik, serta

memiliki tipe fermentasi yaitu homofermentatif atau heterofermentatif. Jika bersifat homofermentatif maka mampu mengubah gula menjadi asam laktat, sementara itu heterofermentatif mampu memproduksi berbagai produk lain, seperti alkohol yang merupakan hasil volatil dari fermentasi tersebut. Pertumbuhan optimal *Lactobacillus* homofermentatif terjadi pada suhu 37°C atau dibawahnya dengan spesiesnya yaitu *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. acidophilus* beserta *L. thermophilus*, sementara itu pertumbuhan optimal *Lactobacillus* heterofermentatif yakni pada temperatur tinggi dengan spesiesnya yaitu *L. delbrueckii* dan *L. fermentum*. Umumnya bakteri dari genus ini dapat dijumpai pada berbagai sumber alami seperti tanaman, biji-bijian, sayuran, susu segar beserta produk olahannya, sayuran yang telah difermentasi, daging dan olahan daging yang terfermentasi, serta saluran pencernaan manusia ataupun hewan.

3. Faktor pertumbuhan bakteri asam laktat

Proses fermentasi memainkan peran penting dalam pertumbuhan bakteri asam laktat. Adapun faktor-faktor lingkungan yang dapat memengaruhi pertumbuhan bakteri ini meliputi kadar garam, pH, suhu, serta ketersediaan karbohidrat sebagai sumber nutrisi (Mardalena, 2016).

a. Kadar garam

Peningkatan kadar garam akan menurunkan laju pertumbuhan serta aktivitas bakteri asam laktat yang mengakibatkan produksi asam laktat tidak mampu berjalan secara optimal. Kadar garam yang optimal untuk menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat yaitu sebesar 2,5%. Konsentrasi ini merupakan

yang tertinggi karena mampu menghasilkan jumlah koloni bakteri asam laktat yang paling banyak (Wulan, 2023).

b. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) memiliki dampak signifikan terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat. pH yang tepat sangat penting bagi aktivitas enzim yang mengkatalisis berbagai reaksi yang mendukung pertumbuhan bakteri. Ketika pH tidak berada pada tingkat optimal maka proses pertumbuhan bakteri akan terganggu sehingga menyebabkan penurunan efisiensi metabolisme dan produksi bakteri asam laktat. Derajat keasamaan (pH) yang dapat ditoleransi oleh bakteri ini cukup luas yakni dari pH 1,2 hingga 9,6, namun terdapat beberapa spesies hanya mampu tumbuh dalam kisaran pH yang lebih sempit, yakni antara pH 4,0 hingga 4,5 (Finanda, Mukarlina dan Rahmawati, 2021).

c. Suhu

Suhu memiliki peran yang penting dalam menentukan laju pertumbuhan bakteri asam laktat didasarkan pada pengaruhnya meliputi perubahan pada reaksi kimia dan kestabilan struktur molekul protein (Okfrianti, Darwis dan Pravita, 2018). Bakteri asam laktat termasuk dalam kelompok mesofilik dan termofilik, sejumlah spesies mampu tumbuh pada kisaran suhu 5°C hingga 45°C (Finanda, Mukarlina dan Rahmawati, 2021).

d. Karbohidrat

Komponen utama sebagai sumber energi dari bakteri asam laktat adalah karbohidrat yang berperan penting pada proses fermentasi. Fermentasi karbohidrat akan menghasilkan asam laktat yang berkontribusi pada penurunan derajat keasaman (pH) (Pratangga, D, Susilowati dan Puspitarini, O, 2019).

4. Manfaat bakteri asam laktat

Bakteri asam laktat disebut bakteri baik dikarenakan memberikan sejumlah manfaat bagi manusia. Mikroorganisme ini tidak menghasilkan bahan berbahaya atau racun dan aman digunakan dalam makanan, sehingga disebut *food grade microorganism* karena tidak berisiko terhadap kesehatan (Finanda, Mukarlina dan Rahmawati, 2021). Bakteri ini juga tergolong kategori GRAS (*Generally Recognized as Safe*), mencerminkan bahwa keberadaannya dinilai tidak membahayakan dan tetap aman apabila dikonsumsi oleh manusia.

Bakteri asam laktat berfungsi sebagai probiotik, membantu dalam pengawetan makanan, fermentasi makanan, meningkatkan nilai gizi pangan, memproduksi senyawa antibakteri. Sebagai probiotik, bakteri asam laktat juga berperan dalam memperkuat sistem kekebalan tubuh manusia (Karyawati dkk., 2024). Probiotik berperan dalam merangsang daya tahan tubuh, baik pada imunitas seluler maupun humoral, sehingga dapat memberikan perlindungan kepada tubuh dari berbagai jenis penyakit. Saat ini telah banyak dikembangkan pemanfaatan bakteri asam laktat sebagai agen pengawet alami menggunakan pendekatan biopreservasi yang memanfaatkan bakteri tersebut secara langsung atau hasil metaboliknya untuk efek antibakteri (Ibrahim, Fridayanti dan Delvia, 2017).

Zat metabolit yang terbentuk melalui aktivitas bakteri asam laktat meliputi bakteriosin, asam laktat, karbon dioksida, hidrogen peroksida, asam asetat, diasetil, dan reuterin yang merupakan agen pembunuh bakteri. Bakteriosin merupakan senyawa peptida yang memiliki manfaat sebagai antimikroba sehingga mampu mengatasi infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme. Asam

laktat memiliki manfaat untuk mengurangi tingkat pH pada lingkungan sekitar. Kondisi lingkungan yang asam mampu mencegah pertumbuhan mikroorganisme perusak serta menekan keberadaan patogen dalam tubuh (Ibrahim, Fridayanti dan Delvia, 2017).

5. Mekanisme antibakteri bakteri asam laktat

Bakteri asam laktat dengan peranannya sebagai mikroflora dominan berkontribusi dalam penghambatan bakteri patogen serta pembusuk (Hamidah, Rianingsih dan Romadhon, 2019). Mekanisme antibakteri dari bakteri asam laktat yang efektif dalam melawan bakteri patogen, yaitu :

a. Produksi asam laktat

Asam laktat berperan dalam menurunkan pH di lingkungan sekitar sehingga menciptakan kondisi yang tidak ideal bagi pertumbuhan bakteri patogen (Ibrahim, Fridayanti dan Delvia, 2017).

b. Produksi bakteriosin

Senyawa protein atau peptide yang dikenal sebagai bakteriosin disekresikan oleh bakteri asam laktat ke lingkungan sekitarnya dan memiliki kemampuan membunuh bakteri yang berbahaya. Bakteriosin memiliki efek bakterisidal akan bekerja dengan cara membuat pori-pori di membran sel bakteri patogen yang mengakibatkan gangguan pada permeabilitas membran dan berujung pada kematian sel (Sudiarta dan Semariyani, 2023).

c. Produksi hidrogen peroksida

Hidrogen peroksida memiliki sifat antimikroba serta mampu merusak sel bakteri patogen. Bakteri ini memproduksi hidrogen peroksida saat tumbuh dalam kondisi aerob yang disebabkan karena rendahnya aktivitas katalase,

pseudokatalase, atau peroksidase di dalam sel. Hidrogen peroksida yang dikeluarkan memiliki peran sebagai mekanisme perlindungan diri dan dapat bertindak sebagai agen bakteriostatik maupun bakterisidal. Kemampuan oksidasinya menyebabkan perubahan permanen pada enzim mikroba, menjadikannya efektif sebagai antimikroba (Riadi, Situmeang dan Musthari, 2017).

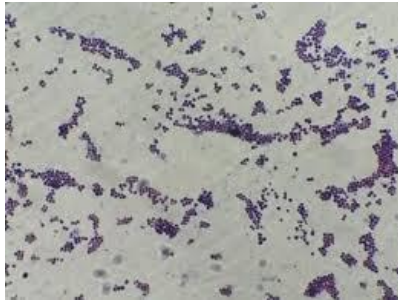
d. Produksi senyawa antimikroba lain

Senyawa lain juga dapat dihasilkan oleh bakteri asam laktat yakni karbondioksida, asam asetat, diasetil, serta reuterin yang menghasilkan aktivitas antimikroba (Riadi, Situmeang dan Musthari, 2017).

D. *Staphylococcus aureus*

1. Morfologi dan fisiologi

Staphylococcus aureus tergolong bakteri Gram positif berbentuk bulat atau kokus, diameter sekitar 0,8 -1,0 μm serta dinding sel yang tebal mencapai 20-40 nm (Khairunnisa dkk., 2018). Bakteri ini memiliki susunan yang tidak teratur mirip buah anggur atau tersusun dalam kelompok empat (tetrad), membentuk rantai dengan tiga hingga empat sel, berpasangan atau tunggal. *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif, non motil, tidak membentuk spora, katalase positif, koagulase positif, dan oksidase negatif. Pertumbuhan bakteri ini terjadi pada suhu 6,5 °C hingga 46°C, dengan suhu optimal sekitar 37° C dan rentang pH yaitu 4,2 hingga 9,3 (Rahayu dkk., 2023).



Gambar 2. Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Sumber Hayati dkk., 2019)

Berdasarkan tingkat taksonomi, klasifikasi *Staphylococcus aureus* yakni sebagai berikut (Sari dan Al Basyarahil, 2021):

Domain : *Bacteria*
 Kingdom : *Eubacteria*
 Filum : *Firmicutes*
 Kelas : *Bacilli*
 Ordo : *Bacillales*
 Famili : *Staphylococcaceae*
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus ditemukan sekitar 30-50% di hidung orang dewasa sehat, 20% pada tinja, serta 5-10% pada kulit. Koloni *Staphylococcus aureus* mampu berkembang dengan diameter hingga 4 mm dalam waktu inkubasi selama 24 jam. Pada media padat, koloni bakteri ini akan berbentuk bulat, bertekstur halus, berkilau, dan menonjol dengan warna abu-abu hingga kuning emas tua. Pembentukan pigmen lipochrome oleh *Staphylococcus aureus* menimbulkan koloni berwarna kuning. Karakteristik ini membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis*, yang diketahui menghasilkan pigmen putih (Sari dan Al Basyarahil,

2021). Isolat klinis *Staphylococcus aureus* yang terdeteksi mencapai lebih dari 90% menghasilkan polisakarida (lapisan tipis) yang berperan secara signifikan pada sifat virulensi dari bakteri tersebut (Khairunnisa dkk., 2018).

2. Patogenitas dan penyakit akibat *Staphylococcus aureus*

Patogenitas *Staphylococcus aureus* mengekspresikan sejumlah faktor virulensi potensial sehingga bakteri ini mampu mengakibatkan infeksi baik pada manusia ataupun hewan. Menurut Umarudin dkk. (2023), terdapat sejumlah faktor virulensi dari *Staphylococcus aureus*, yaitu :

a. Protein A

Staphylococcus aureus menghasilkan molekul yang berfungsi berikatan dengan immunoglobulin, sehingga menghalangi fagositosis yang dilakukan sel imun tubuh.

b. Toksigenisitas

Sejumlah strain *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan untuk memproduksi enterotoksin dan toksin sindrom syok toksik (TSST-1) berisiko menimbulkan keracunan makanan serta sindrom syok toksik.

c. Faktor kolonisasi

Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk menempel pada jaringan manusia dan hewan yang memungkinkannya untuk menjajah tubuh inang.

d. Enzim lisis

Bakteri ini menghasilkan enzim lisis seperti koagulase yang membantu proses pembentukan bekuan darah dan memungkinkannya untuk menghindari sistem imun.

e. Faktor resistensi terhadap antibiotik

Beberapa strain dari *Staphylococcus aureus*, termasuk *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), mampu bertahan terhadap antibiotik sehingga menyebabkan pengobatan sulit dilakukan.

f. Biosurfaktan

Staphylococcus aureus memproduksi senyawa biosurfaktan yang membantu bakteri ini menempel pada permukaan inang serta membentuk biofilm.

g. Enzim hyaluronidase dan lipase

Produksi enzim-enzim tersebut membantu *Staphylococcus aureus* untuk menyebar di jaringan inang dengan memecah materi antarsel, sehingga membuka jalan untuk penyebaran bakteri.

Staphylococcus aureus termasuk dalam kelompok mikroorganisme penyebab infeksi yang terdapat sebagai flora normal pada manusia, khususnya di kulit serta selaput lendir bagian depan rongga hidung (*nares anterior*). Jika sistem kekebalan tubuh seseorang melemah, maka *Staphylococcus aureus* dapat menjadi patogen yang berbahaya (Suyasa dan Mastra, 2020). Menurut Umarudin dkk (2023) *Staphylococcus aureus* dapat mengakibatkan infeksi kulit beserta jaringan lunak yakni selulitis, impetigo, bisul, folikulitis pada orang yang memiliki sistem imun lemah.

3. Resistensi antibiotik *Staphylococcus aureus*

Penanganan infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* menjadi tantangan karena munculnya resistensi terhadap antibiotik. Resistensi mengacu pada kemampuan bakteri dalam menetralkan dan melemahkan efektivitas antibiotik untuk melawan bakteri tersebut. Resistensi antibiotik pada *Staphylococcus aureus*

muncul melalui beberapa mekanisme seperti transfer gen horizontal yang melibatkan elemen genetik seperti plasmid dan transposon, mutasi pada gen kromosom yang mengubah target antibiotik sehingga antibiotik kurang efektif, modifikasi dan inaktivasi obat, pompa efluks, serta pembentukan biofilm yang dapat menghambat penetrasi antibiotik dan melindungi bakteri dari sistem kekebalan tubuh (Vestergaard, Frees dan Ingmer, 2019).

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan salah satu strain *Staphylococcus aureus* yang resistensi terhadap antibiotik β -laktam, termasuk metisilin serta penisilin. MRSA memiliki gen *mecA* yang mengkode protein PBP2a sehingga mengurangi afinitas antibiotik beta-laktam (Vestergaard, Frees dan Ingmer, 2019). Resistensi yang juga disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu *Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus* (VISA) serta *Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA). Resistensi parsial terhadap vankomisin ditunjukkan oleh VISA, sedangkan VRSA sepenuhnya resisten. Resistensi ini melibatkan penebalan dinding sel bakteri dan perubahan target antibiotik. Infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri yang menunjukkan resistensi terhadap antibiotik sering gagal dalam pengobatan standar sehingga menyebabkan perpanjangan masa perawatan, peningkatan biaya medis, dan potensi fatalitas (Donaliazarti, 2022).

E. Pengukuran Aktivitas Antibakteri

Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan dua metode utama yang meliputi uji dilusi dan difusi (Rollando, 2019). Penggunaan organisme uji standar yang sesuai serta contoh obat sebagai perbandingan maka uji ini dapat

memperkirakan potensi antibakteri pada sampel (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

1. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode pengujian aktivitas antibakteri dengan cara menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam media cair setelah penambahan zat antimikroba atau pada media padat yang dicairkan setelah tercampur dengan zat antimikroba. Pengamatan dilakukan pada metode dilusi cair yaitu dengan melihat kekeruhannya sedangkan pada metode dilusi padat pengamatan dilakukan pada konsentrasi terendah yang menghalangi pertumbuhan mikroorganisme. Tingkat konsentrasi terendah yang dapat menghalangi pertumbuhan mikroorganisme setelah proses inkubasi dikenal dengan konsentrasi hambatan minimum atau KHM (*minimum inhibitory concentration or MIC*) dari zat tersebut. Umumnya penggunaan metode dilusi dilakukan pada agen antimikroba yang mampu terlarut secara sempurna (Rollando, 2019).

Metode dilusi memiliki kelebihan yaitu memberikan hasil kuantitatif sehingga menunjukkan jumlah zat antimikroba yang dibutuhkan dalam proses menghambat atau membunuh mikroorganisme uji. Kelemahan dari metode ini yaitu membutuhkan durasi waktu yang relatif panjang, tenaga dan sumber ekonomi yang besar, serta penggunaannya terbatas pada keadaan khusus, selain itu metode dilusi juga kurang praktis karena harus melakukan pengenceran pada tabung reaksi walaupun pengenceran zat uji yang digunakan hanya sedikit (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

2. Metode difusi

Metode difusi merupakan metode uji antibakteri yang didasarkan dengan berdifusinya zat antimikroba dalam media padat yang selanjutnya diamati melalui area pertumbuhan mikroorganisme. Umumnya metode ini diterapkan pada zat antimikroba yang larut dan tidak larut. Prinsip kerja metode ini yaitu terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat yang sudah diinokulasikan mikroba uji. Metode difusi dibagi menjadi metode difusi sumuran, cakram, dan parit (Rollando, 2019).

Difusi sumuran merupakan uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan membuat lubang secara tegak lurus pada agar padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Jumlah dan letak dari lubang akan disesuaikan berdasarkan tujuan penelitian, selanjutnya lubang diisi dengan sampel yang akan diuji. Setelah proses inkubasi, pengamatan zona hambat dilakukan di sekeliling lubang yang memperlihatkan aktivitas antibakteri. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan hasil yang dinyatakan dalam milimeter (mm) kemudian dikategorikan berdasarkan kekuatan daya antibakteri sesuai dengan penggolongan (Nurhamidin, Fatimawali dan Antasionasti, 2021). Kelebihan dari metode ini yaitu sederhana, ekonomis, lebih sensitive, dan mudah dalam mengukur luas dari zona hambat yang terbentuk karena aktivitas bakteri yang tidak terbatas pada permukaan atas media agar dan berlangsung hingga ke lapisan bagian bawah media agar. Metode ini dianggap lebih efektif dibandingkan metode difusi cakram karena sampel yang ditambahkan ke dalam sumuran akan mengalami proses osmosis sehingga lebih efektif menghambat bakteri. Pembuatan sumuran memiliki beberapa kesulitan seperti adanya sisa agar pada suatu media yang

diaplikasikan pada pembuatan sumuran, metode ini juga memungkinkan media agar pecah atau retak di sekitar sumuran sehingga mampu menghambat proses penyerapan antibiotik atau zat antimikroba ke dalam media yang akan memengaruhi pembentukan diameter zona hambat ketika uji sensitivitas dilakukan (Nurhayati, Yahdiyani dan Hidayatulloh, 2020).

Difusi cakram atau *Disk diffusion* (Kirby-Bauer *test*) merupakan uji aktivitas antibakteri dengan cara meletakkan kertas cakram yang mengandung senyawa antimikroba di permukaan media yang telah terinokulasikan mikroba uji. Selama proses inkubasi, senyawa antimikroba akan mengalami proses difusi pada media agar. Laju difusi berlangsung secara lebih lambat dibandingkan dengan kecepatan ekstraksi senyawa antimikroba dari kertas cakram. Hal ini mengakibatkan konsentrasi tertinggi senyawa antimikroba terdapat pada area terdekat dari cakram dan akan menurun secara logaritmik seiring bertambahnya jarak dari kertas cakram. Zona penghambatan yang muncul di sekitar kertas cakram mengindikasikan adanya aktivitas senyawa antimikroba yang mana semakin luas zona hambatnya maka senyawa tersebut akan semakin sensitive (Rollando, 2019). Metode ini memiliki kelebihan yaitu tidak memerlukan banyak tenaga dan dalam satu kali kegiatan dapat dilakukan pengujian secara lebih banyak. Metode ini memiliki kekurangan yaitu tingkat larutan yang diuji memiliki osmolaritas rendah dan ekstrak yang digunakan dalam jumlah yang lebih sedikit.

Difusi parit merupakan metode pengujian aktivitas antibakteri dengan membuat parit di sepanjang diameter media padat. Zat uji kemudian diletakkan pada parit tersebut dan diinokulasikan dengan bakteri uji pada sisi kanan dan kiri

parit. Umumnya penggunaan metode difusi parit dilakukan pada sediaan uji berupa krim atau salep (Rollando, 2019).

Adanya aktivitas penghambatan antibakteri ditunjukkan dengan zona hambat. Menurut Amelia Santosa dan Retnaningrum (2021), diameter zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut :

Tabel 1
Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat	Responsi hambat bakteri
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

F. Mekanisme Kerja Zat Antibakteri

Antibakteri adalah zat dengan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dan mengobati infeksi (Fardani dan Apriliani, 2023). Ditinjau dari cara kerjanya, senyawa antibakteri dikelompokkan menjadi dua jenis yaitu bakteristatik dan bakterisidal. Antibakteri bakteristatik berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri, sementara antibakteri bakterisidal bertindak dengan membunuh bakteri secara langsung.

Suatu agen antibakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif yang berarti harus bersifat toksik terhadap mikroba, namun relatif aman dan tidak toksik terhadap hospes atau inang. Toksisitas selektif memiliki sifat yang relatif bukan absolut. Hal ini berarti zat antimikroba dalam konsentrasi yang masih mampu ditoleransi oleh inang, namun dapat merusak mikroba penyebab infeksi. Toksisitas

selektif berkaitan dengan keberadaan reseptor khusus yang berfungsi mengikat obat atau mungkin bergantung dengan penghambatan proses biokimia yang diperlukan oleh patogen, namun tidak memengaruhi inang. Terdapat lima cara dari mekanisme kerja antibakteri, yaitu : (Fifendy, 2017)

1. Hambatan sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri merupakan lapisan luar yang kaku serta memiliki fungsi untuk menjaga bentuk serta ukuran mikroorganisme, terutama dalam menghadapi tingginya tekanan osmotik di dalam sel (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013). Struktur dinding sel bakteri Gram positif berbeda dari bakteri Gram negatif. Pada dinding sel bakteri Gram positif memiliki kandungan peptidoglikan, teikoat atau asam teikuronat, *envelope* yang tersusun oleh protein serta polisakarida, sementara itu pada struktur dinding sel bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan, lipoprotein, lipopolisakarida, protein, dan fosfolipid (Sudigdoadi, 2015). Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan dinding sel yang lebih tebal dibanding Gram negatif. Lapisan ini sangat vital untuk menjaga kelangsungan hidup bakteri di lingkungan hipotonik dan jika lapisan ini mengalami kerusakan atau kehilangan dapat mengakibatkan hilangnya kekuatan dinding sel dan akhirnya berujung dengan kematian bakteri (Sudigdoadi, 2015).

Kerusakan dinding sel bakteri, seperti yang disebabkan oleh lisozim maupun karena terhambatnya proses pembentukannya dapat berakibat pada lisis sel. Pada kondisi lingkungan yang hipertonik seperti pada kadar sukrosa 20%, kerusakan dinding sel akan mengarah pada pembentukan "protoplas" pada bakteri Gram positif dengan morfologi berbentuk bulat atau "spheroplast" pada bakteri Gram negatif. Bentuk-bentuk tersebut dikelilingi oleh membrane sitoplasma yang

memiliki sifat rapuh. Apabila protoplas atau spheroplast diletakkan pada lingkungan yang memiliki tonisitas normal, mereka dengan cepat menyerap cairan, membengkak, serta bisa pecah. Kerusakan pada dinding sel akibat lisis akan merusak bentuk serta struktur sel sehingga mengakibatkan kematian pada sel bakteri (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

2. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma yang membatasi sitoplasma pada semua sel hidup berfungsi sebagai penghalang permeabilitas selektif dan terlibat dalam proses transportasi aktif yang membantu mengatur susunan bagian dalam sel (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013). Gangguan kekuatan pada membran sel menyebabkan ion beserta makromolekul akan terlepas dari sel sehingga berujung pada kerusakan dan kematian sel (Sudigdoadi, 2015).

3. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Keberlangsungan hidup sel secara alami akan sangat bergantung terhadap kelangsungan molekul protein dan asam nukleat. Kondisi atau zat tertentu dapat menyebabkan denaturasi dari protein dan asam nukleat yang berpotensi merusak struktur sel dan bersifat *irreversible*. Kepekatan konsentrasi dan suhu yang tinggi dari beberapa zat kimia menyebabkan koagulasi atau denaturasi yang tidak dapat diperbaiki pada struktur seluler yang penting (Fifendy, 2017).

4. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Dalam keberlangsungan proses kehidupan sel yang normal, DNA, RNA, dan protein memiliki tugas yang vital. Hal tersebut memiliki arti bahwa gangguan dalam penyusunan atau peran zat-zat tersebut mampu berdampak pada kerusakan sel secara keseluruhan (Fifendy, 2017). Zat antibakteri yang bekerja dengan

menghambat bakteri, salah satunya dengan cara mengikat kuat ke DNA-*dependent RNA polymerase* bakteri, yang berujung pada penghambatan sintesis RNA pada bakteri (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

5. Penghambatan kerja enzim

Enzim yang terdapat di dalam sel dengan jumlahnya yang bervariasi, dapat menjadi sasaran yang potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Berbagai senyawa kimia yang diketahui dapat mengganggu proses biokimiawi. Penghambatan ini dapat memicu gangguan dalam proses metabolisme atau bahkan menyebabkan kematian sel (Fifendy, 2017).

G. Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Antibakteri

Pengukuran aktivitas antibakteri secara *in vitro* bertujuan untuk mengukur potensi agen antimikroba dalam larutan serta mengukur sensitivitas mikroorganisme pada suatu obat dalam konsentrasi tertentu (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013). Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh sejumlah faktor, yaitu :

1. pH lingkungan

Mikroba yang berada dalam lingkungan dengan pH asam dapat dibunuh lebih cepat daripada dalam kondisi basa, meskipun spesies yang diuji sama (Fifendy, 2017).

2. Komponen medium

Komponen medium dapat memengaruhi ukuran zona dengan cara memengaruhi laju pertumbuhan organisme, kecepatan difusi obat antimikroba, dan aktivitas obat (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

3. Umur mikroba

Umur mikroba akan berpengaruh terhadap kecepatan kematian populasi mikroba. Kultur mikroba yang sedang tumbuh aktif atau dalam tahap pertumbuhan muda lebih mudah terpengaruh oleh bahan pensteril dibandingkan dengan kultur yang sudah lebih tua atau berada dalam fase stasioner (Kustyawati, 2020).

4. Ukuran dari inokulum

Peningkatan jumlah inokulum bakteri cenderung menurunkan sensitivitas organisme terhadap agen antimikroba. Jumlah bakteri yang semakin banyak harus diberikan perlakuan yang semakin banyak pula. Populasi bakteri yang besar akan lebih sulit untuk dihambat secara cepat dan lengkap dibandingkan dengan populasi kecil. Pada populasi yang besar akan memungkinkan munculnya mutan resisten yang lebih tinggi (Fifendy, 2017) dan (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

5. Lama inkubasi

Pada sejumlah kondisi, paparan singkat terhadap agen antimikroba tidak menyebabkan kematian mikroorganisme, melainkan hanya menghambat aktivitas atau pertumbuhannya secara sementara. Semakin panjang durasi inkubasi, maka semakin besar peluang munculnya mutan yang resisten atau anggota populasi antimikroba yang paling tidak rentan untuk mulai berkembang biak saat zat antimikroba tersebut mulai berkurang (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

6. Suhu

Peningkatan suhu dapat meningkatkan efektivitas dari suatu desinfektan atau zat antimikroba. Suhu juga mampu memengaruhi produksi zat antibakteri oleh

mikroorganisme serta kerentanan bakteri target terhadap zat antibakteri (Fifendy, 2017).

7. Spesies mikroba

Spesies dari mikroba menunjukkan perbedaan dalam kerentanan terhadap pengaruh pembunuhan. Sel vegetative yang aktif tumbuh pada spesies pembentuk spora akan lebih mudah terpengaruh dan dibunuh daripada sporanya (Fifendy, 2017).

8. Aktivitas metabolisme mikroorganisme

Mikroorganisme yang mengalami pertumbuhan dengan cepat dan aktif lebih rentan terpengaruh oleh aksi obat daripada mikroorganisme dalam fase istirahat. Secara metabolik, mikroorganisme yang tidak aktif dan mampu bertahan hidup dalam paparan obat dalam jangka panjang memiliki kemungkinan menghasilkan turunan yang tetap rentan terhadap obat (Jawetz, Melnick dan Adelberg's, 2013).

9. Keberadaan bahan organik

Keberadaan kontaminan organik mampu mengurangi efektivitas dari zat antimikroba melalui proses inaktivasi senyawa tersebut atau memberikan perlindungan pada organisme dari pengaruhnya. Kehadiran bahan organik dalam campuran desinfektan dan mikroorganisme mampu memicu: (Fifendy, 2017).

- a. Desinfektan mengikat bahan organik dan menghasilkan produk yang tidak memiliki aktivitas antimikroba.
- b. Endapan terbentuk akibat reaksi desinfektan dengan bahan organik yang menyebabkan desinfektan tidak dapat berikatan dengan mikroorganisme.
- c. Bahan organik yang terakumulasi pada sel mikroba bertindak sebagai penjaga untuk menghalangi kontak antara desinfektan dan sel mikroba.