

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Blondo

Blondo merupakan salah satu produk sampingan dari proses pembuatan minyak kelapa murni atau sering dikenal sebagai VCO. VCO atau *Virgin coconut oil* merupakan produk utama yang dibuat dari santan segar. Blondo yang dihasilkan dari proses pembuatan VCO memiliki karakteristik berwarna putih, berbentuk *cream*, dan dalam waktu empat hari akan mengeluarkan bau yang tidak sedap dan sangat menyengat (Haerani, 2010).

Dalam pembuatan VCO, teknik yang digunakan untuk mengolah buah kelapa dibagi menjadi dua kelompok yaitu teknik kering dan teknik basah. Yang dimaksud dengan teknik basah yaitu buah kelapa diekstraksi langsung menjadi santan dengan penambahan atau tanpa penambahan air. Teknik ini lebih sering digunakan di masyarakat, dimana terdapat tiga metode dalam teknik ini yaitu metode *modified kitchen*, metode fermentasi alami yang dimodifikasi dan metode mekanik (Bawalan, 2011).

Proses pembuatan VCO diawali dengan ekstraksi buah kelapa menjadi santan. Untuk memperoleh minyak dari santan yang merupakan suatu emulsi minyak dalam air dan protein (lipoprotein) maka perlu dilakukan pemisahan dengan cara pengadukan, pemanasan atau aktivitas mikroba. Proses pengadukan dengan alat sederhana tanpa penambahan zat lain atau disebut dengan metode mekanik, menyebabkan protein terdenaturasi sehingga kelarutannya berkurang, terjadi koagulasi dan akhirnya akan mengalami pengendapan (Bawalan dan Chapman, 2006). Proses pengendapan menimbulkan terbentuknya tiga lapisan yakni minyak

(VCO), blondo dan air (Martini dkk, 2009). Selain itu dalam proses pembuatan tidak jarang ditemukan juga lima lapisan (blondo, minyak, blondo, air, dan *gummy* sedimen) yang disebabkan oleh kontaminasi, baik melalui residu sabun pada wadah atau adanya mikroorganisme. Oleh karena itu, sanitasi sangatlah penting dan harus diperhatikan dalam proses pembuatan (Bawalan dan Chapman, 2006).

Meskipun merupakan produk sampingan, namun blondo dari VCO ini masih mengandung nutrisi yang cukup tinggi. Menurut Haerani (2010), kandungan nutrisi dari blondo yaitu:

Tabel 1.
Kandungan Nutrisi Blondo VCO Per 100 gram

Unsur Gizi	Jumlah
Kalori	243,6792
Karbohidrat	13,9793
Lemak	17,17
Protein	8,308
Kalsium	0,11
Fosfor	0,19
Fe	0,054
Abu	0,6537
Zn	0,223
Yodium	2,4
Kalium	3,11
Vitamin A	0,002
Natrium	3,2
Air	49,80

Sumber : Haerani, Pemanfaatan Limbah *Virgin Coconut Oil* (Blondo), 2010

Kandungan nutrisi yang tinggi tersebut, tidak diikuti dengan pemanfaatannya dalam masyarakat. Blondo biasanya dibuang, dijadikan pakan ternak atau minyak goreng dengan kelas B. Namun ada juga yang menggunakan

blondo sebagai pelengkap panganan yakni dicampurkan dengan sambal pada sambal *kethak* atau campuran bumbu gudeg jogja (Marwah (2005) dalam Haerani (2010)).

Selain mengandung nutrisi yang telah disebut di atas, blondo ini juga mengandung bakteri yang menguntungkan yakni bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat yang dominan ditemukan pada blondo yaitu dari genus *Lactobacillus sp.* dan *Streptococcus sp* (Murtius, 2008). Menurut Bawalan dan Chapman (2006), bakteri asam laktat di udara juga berdampak langsung selama proses pembuatan VCO yaitu membantu dalam memecah ikatan protein pada santan yang menyebabkan pemisahan VCO.

Selain itu bakteri asam laktat hasil isolasi dari blondo juga memiliki manfaat di bidang kesehatan yaitu berpotensi sebagai antimikroba. Bakteri asam laktat dari spesies *Lactobacillus plantarum* yang merupakan hasil isolasi dari blondo telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri dengan karakteristik yang berbeda yaitu bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram negatif (*Escherichia coli*). Dimana dalam pengujiannya, bakteri asam laktat ini diaplikasikan sebagai zat tambahan dalam VCO (Rahmadi dkk, 2013).

B. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat dapat hidup diberbagai habitat di alam seperti pada tanaman, saluran pencernaan baik hewan maupun manusia, serta pada berbagai produk fermentasi makanan. Umumnya bakteri asam laktat dianggap sebagai mikroorganisme yang menguntungkan seperti beberapa strain bakteri asam laktat dapat digunakan sebagai minuman probiotik. Namun beberapa genus seperti

Streptococcus, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, juga mengandung spesies atau strain yang dikenal sebagai patogen bagi manusia atau hewan (Lahtinen *et al.*, 2012).

1. Morfologi bakteri asam laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif, umumnya tidak berspora, non-motil, katalase negatif, bersifat anaerob fakultatif berbentuk batang atau kokus yang tidak respiratif yang dikaitkan oleh karakteristik metabolik dan fisiologisnya (Kapoor, 2010). Bakteri asam laktat termasuk organisme *fastidious* yang membutuhkan nutrisi yang kaya dan kompleks untuk pertumbuhannya, misalnya karbohidrat, asam amino, vitamin, dan mineral. Dikatakan bakteri asam laktat karena bakteri ini menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolisme utama dari fermentasi karbohidrat. Fermentasi yang dilakukan oleh bakteri asam laktat dapat berupa homofermentatif atau heterofermentatif. Fermentasi tipe homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir. Sedangkan tipe heterofermentatif menghasilkan senyawa lainnya selain asam laktat, biasanya etanol (Maczulak, 2011).

2. Klasifikasi bakteri asam laktat

Berdasarkan klasifikasi taksonomi menurut Holzapfel and Wood (2014), bakteri asam laktat termasuk dalam filum *Firmicutes*, kelas *Bacilli*, dan ordo *Lactobacillales* dengan famili yang berbeda diantaranya *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, dan *Streptococcaceae*.

a. Famili *Aerococcaceae*

Famili ini terdiri dari enam genus salah satu yang dikenal yaitu *Aerococcus*. Famili *Aerococcaceae* merupakan bakteri Gram positif, non-motil, berbentuk *oval* dengan diameter 1-2 μ m, sel tersusun *tetrad* atau bergerombol, dan tidak membentuk spora. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, katalase negatif, tidak membentuk gas pada media MRS broth serta dapat tumbuh di media yang mengandung NaCl 6,5% (De Vos *et al.*, 2009).

b. Famili *Carnobacteriaceae*

Famili *Carnobacteriaceae* terdiri dari 16 genus salah satu genusnya yaitu *Carnobacterium*. Anggota *Carnobacteriaceae* merupakan bakteri Gram positif, tidak membentuk spora serta berbentuk batang atau kokus. Secara umum *Carnobacteriaceae* bersifat anaerob fakultatif, namun beberapa spesies tumbuh secara aerob atau dalam kondisi mikroaerofilik. Mayoritas katalase negatif dengan metabolisme bersifat homofermentatif atau heterofermentatif (Holzapfel and Wood, 2014).

c. Famili *Enterococcaceae*

Famili *Enterococcaceae* terdiri atas empat genus dengan genus yang paling besar yaitu *Enterococcus*. Karakteristik dari kelompok *Enterococcaceae* adalah Gram positif berbentuk kokus yang tersusun berpasangan atau rantai pendek, katalase negatif, anaerob fakultatif, dan homofermentatif dengan asam laktat sebagai produk akhir utama dari proses fermentasi (Leboffe and Pierce, 2011).

d. Famili *Lactobacillaceae*

Lactobacillus terdiri dari tiga genus dan yang umum dijumpai yaitu *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. *Lactobacillaceae* adalah bakteri Gram positif,

anaerob fakultatif, katalase negatif, tidak membentuk spora, umumnya homofermentatif dan heterofermentatif untuk beberapa spesies *Lactobacillus*. Pertumbuhan yang optimum berada pada kisaran pH 4-8, dan suhu 2°C sampai 53°C (De Vos *et al.*, 2009; Holzapfel and Wood, 2014; Lahtinen *et al.*, 2012)

e. Famili *Leuconostocaceae*

Leuconostocaceae terdiri dari empat genus yaitu *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* dan *Weissella*. Karakteristik dari famili *Leuconostocaceae* menunjukkan kesamaan dengan genus *Lactobacillus*. Bentuk dari genus *Leuconostoc* dan *Oenococcus* menunjukkan morfologi berbentuk oval, genus *Fructobacillus* berbentuk batang, sedangkan genus *Weissella* memiliki kedua bentuk tersebut. Karakteristik lainnya adalah bakteri Gram positif, katalase negatif, anaerob fakultatif, dan tipe fermentasi yaitu heterofermentatif (Kot *et al.*, 2014).

f. Famili *Streptococcaceae*

Streptococcaceae terdiri dari tiga genus yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus* dan *Lactovum*. Bentuk sel dari famili *Streptococcaceae* yaitu bulat sampai oval dan tersusun berpasangan atau rantai. Termasuk dalam bakteri Gram positif, katalase negatif, dan tidak membentuk spora (Leboffe and Pierce, 2011).

3. Faktor-faktor pertumbuhan bakteri asam laktat

Selama proses pengendapan yang dapat terjadi selama 24 jam, dalam proses tersebut terjadi proses fermentasi spontan yang disebabkan oleh mikroorganisme baik salah satunya bakteri asam laktat yang terdapat melimpah di alam. Proses fermentasi berhubungan dengan proses pertumbuhan serta produksi zat antimikroba oleh bakteri asam laktat (Khumalawati dan Ulfa, 2009). Kondisi lingkungan yang

ideal berkontribusi dalam pertumbuhan bakteri asam laktat. Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri asam laktat pada blondo diantaranya:

a. Karbohidrat

Bakteri asam laktat memerlukan media dalam pertumbuhannya. Media yang sesuai akan membuat bakteri asam laktat akan terus-menerus tumbuh dan menghasilkan asam. Blondo diketahui mengandung karbohidrat yang cukup banyak. Karbohidrat ini sangat penting bagi bakteri asam laktat sebagai energi dalam masa pertumbuhannya. Karbohidrat tersebut selama proses fermentasi akan diuraikan menjadi senyawa-senyawa yang sederhana seperti asam laktat ataupun etanol (Maczulak, 2011).

b. Suhu

Suhu adalah salah satu faktor lingkungan yang berperan dalam kecepatan pertumbuhan mikroba. Pengaruh suhu mengakibatkan enzim mampu mengkatalis proses metabolisme di dalam sel mikroba (Fardiaz, 1992 dalam Chandra, 2006). Kesesuaian suhu dengan sifat dari bakteri asam laktat, dapat membuat pertumbuhan menjadi optimal. Menurut Brooks *et al* (2010), bakteri psikofilik tumbuh pada suhu rendah yaitu pada suhu -5 sampai 15°C dengan suhu optimum antara 20°C dan 30°C tetapi tumbuh dengan baik pada suhu yang lebih rendah. Bakteri termofilik tumbuh paling baik pada $50-60^{\circ}\text{C}$. Sebagian besar bakteri asam laktat termasuk dalam bakteri mesofilik, yang tumbuh paling baik pada suhu $30-37^{\circ}\text{C}$ dengan suhu optimum yaitu 40°C (Januarsyah, 2007).

c. Derajat keasaman (pH)

Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri berhubungan dengan aktivitas enzim untuk mengkatalisis reaksi-reaksi yang dilakukan selama pertumbuhan

bakteri. Jika pH pertumbuhan bakteri tidak optimum akan mengakibatkan terganggunya pertumbuhan bakteri (Respati, Yulianti, dan Rakhmawati, 2017). pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 6,5-7,5. Umumnya pH untuk pertumbuhan bakteri adalah 4 dan 9 (Yelti, Zul dan Fibriarti, 2014). Akibat produksi asam laktat yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan pH, namun bakteri asam laktat tetap mampu mengalami peningkatan pertumbuhan secara spesifik pada pH media yakni 5 (Subagiyo, dkk, 2015).

4. Zat antimikroba bakteri asam laktat

Kemampuan bakteri asam laktat dalam menghambat bakteri lain yang bersifat patogen disebabkan oleh zat antimikroba. Zat antimikroba tersebut merupakan metabolit sekunder yang tidak digunakan untuk proses pertumbuhan, tetapi digunakan untuk pertahanan diri. Produksi zat antimikroba ini berkaitan dengan pertumbuhan dari bakteri asam laktat selama proses fermentasi pada kondisi lingkungan yang mendukung. Zat antimikroba yang dihasilkan dapat berupa asam organik, bakteriosin, hidrogen peroksida, karbondioksida, dan alkohol (Lahtinen et al, 2012; Widowati dkk, 2014).

Menurut Noordiana, Fatimah dan Mun (2013), zat antimikroba seperti asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang diisolasi dari ikan dan udang dapat menghambat pertumbuhan empat mikroorganisme yaitu *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*.

5. Manfaat bakteri asam laktat

Bakteri asam laktat sangat penting bagi industri makanan yakni digunakan sebagai starter bakteri, preservasi (pengawetan) makanan atau sebagai kultur

tambahan untuk memproduksi makanan berfermentasi (Holzapfel and Wood, 2014). Manfaat bakteri asam laktat ini telah banyak diteliti salah satunya yaitu hasil penelitian Nursyam (2011). Dalam penelitiannya bakteri asam laktat yang digunakan sebagai biopreservatif pada sosis fermentasi ikan lele dumbo, mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yakni *Listeria monocytogenes*. Efek tersebut disebabkan oleh produksi zat antimikroba seperti asam organik, karbondioksida etanol, hidrogen peroksida dan diasetil, dan senyawa antijamur seperti asam lemak, bakteriosin dan senyawa protein terkait (Holzapfel and Wood, 2014).

Selain itu bakteri asam laktat mulai banyak digunakan sebagai minuman probiotik yakni suplemen dalam bentuk mikroba hidup yang menguntungkan bagi inang dengan meningkatkan keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan (Yuniastuti, 2014). Berdasarkan penelitian Yanuar dan Sutrisno 2015), bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* berhasil digunakan sebagai starter bakteri dalam pembentukan minuman probiotik dari air kelapa.

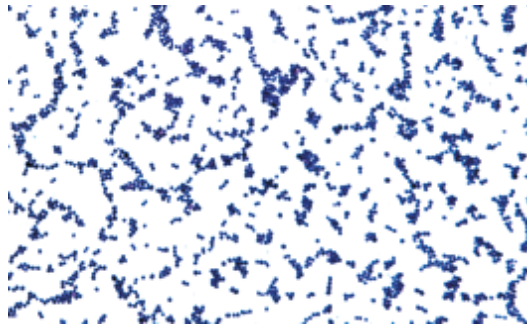
C. *Staphylococcus aureus*

1. Klasifikasi

Berdasarkan Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria
Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli

Order : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Species : *Staphylococcus aureus* (De Vos *et al.*, 2009)



Gambar 1. *Staphylococcus aureus*, Sumber : Leboffe and Pierce, (2011)

2. Definisi

Staphylococcus aureus berasal dari bahasa Yunani, *Staphyle* berarti anggur dan *coccus* yang artinya bulat atau bola. Sedangkan *aureus* diartikan sebagai emas atau seperti matahari. Secara harfiah *Staphylococcus aureus* dapat diartikan sebagai bakteri dengan bentuk coccus yang dapat menghasilkan pigmen kuning emas (Radji, 2010). *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang umumnya ditemukan pada hidung namun dapat juga hidup pada kulit dan vagina. Dapat bersifat patogen apabila berada di luar lokasi normal tempatnya berada yang mampu menyebabkan infeksi nosokomial (Leboffe and Pierce, 2011).

3. Morfologi dan fisiologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat tersusun dalam kelompok menyerupai buah anggur yang tidak teratur dengan diameter berkisar 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, dan tidak berspora. Sifatnya yang anaerob fakultatif membuat bakteri ini mampu hidup dengan baik pada lingkungan

yang terdapat oksigen atau tanpa oksigen. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim koagulase dan enzim katalase serta dapat tumbuh pada media yang mengandung NaCl sampai dengan konsentrasi 10% (Leboffe and Pierce, 2011). *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada media pembedahan bakteri dalam kondisi aerob atau mikroaerob. Tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C) (Brooks *et al.*, 2010). Koloni yang tumbuh pada lempeng agar berbentuk bulat, halus, menonjol dan berkilau, membentuk koloni berwarna putih sampai kuning emas tua. Sedangkan pada lempeng agar darah umumnya bentuk koloni lebih besar dan terbentuk zona hemolisis (β -hemolisis) (Radji, 2010).

D. Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi merupakan semua aktivitas yang dilakukan dalam mikrobiologi untuk menentukan famili, genus atau spesies dari mikroorganisme yang tidak diketahui. Metode identifikasi yang digunakan dapat berupa fisik dan biokimia (Maczulak, 2011). Metode fisik dilihat dari morfologi mikroorganisme dengan menggunakan teknik pewarnaan sel diamati di bawah mikroskop. Pewarnaan sel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pewarnaan Gram. Uji biokimia digunakan untuk mencari ada tidaknya sistem enzim pada bakteri untuk mengubah satu zat ke substansi lainnya. Adapun uji biokimia yang dilakukan yaitu uji katalase dan produksi gas dari glukosa.

1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dikembangkan oleh ahli histolog Hans Christian Gram, yang mengelompokkan bakteri menjadi dua yakni bakteri Gram positif dan Gram

negatif. Pengelompokan ini didasari oleh kemampuan bakteri dalam mempertahankan kompleks kristal violet atau safranin setelah dicuci dengan alkohol. Bakteri Gram positif akan tetap mempertahankan warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol. Sedangkan bakteri Gram negatif tidak mempertahankan kompleks kristal violet tetapi mempertahankan warna safranin. Sehingga bakteri Gram positif akan tampak berwarna ungu di bawah mikroskop, dan bakteri Gram negatif berwarna merah (Brooks *et al.*, 2010).

2. Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengidentifikasi organisme yang menghasilkan enzim katalase. Uji ini sering digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dari Gram positif lainnya. Bakteri yang menghasilkan enzim katalase dapat dideteksi dengan mudah menggunakan hidrogen peroksida. Enzim katalase akan mengubah hidrogen peroksida yang ditambahkan menjadi air dan oksigen. Hasil positif, jika hidrogen peroksida yang ditambahkan ke koloni kultur menghasilkan gelembung gas yang artinya koloni bakteri tersebut menghasilkan enzim katalase. Sebaliknya jika tidak ada gelembung, maka disebut dengan katalase-negatif (Leboffe and Pierce, 2011).

3. Uji produksi gas dari glukosa

Kemampuan bakteri asam laktat dalam memproduksi gas dari glukosa digunakan untuk membedakan tipe fermentasi yakni homofermentatif dan heterofermentatif. Homofermentatif didasarkan pada jalur glikolisis dan hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk akhirnya. Fermentasi heterofermentatif didasarkan dari jalur 6-fosfoglukonat dengan menghasilkan zat lain selain asam laktat seperti CO₂ (karbondioksida) dan etanol atau asetat. Karbondioksida yang

diproduksi, dikatalisis oleh 6-fosfoglukonat dehidrogenase yaitu enzim yang ada dalam jalur 6-fosfoglukonat. Bakteri asam laktat dengan tipe fermentasi homofermentatif diantaranya *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus*. Sedangkan tipe fermentasi heterofermentatif yakni *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus* (Lahtinen *et al.*, 2012; Holzapfel and Wood, 2014; Aritonang *et al.*, 2017).

E. Aktivitas Antimikroba

Mikroba adalah organisme yang berukuran sangat kecil (mikroskopis), dapat berupa bakteri, fungi dan virus. Interaksi antara bakteri, fungi serta virus dengan manusia dapat bersifat menguntungkan atau merugikan. Keberadaannya di sekitar manusia dapat menimbulkan suatu penyakit atau infeksi yang serius, misalnya infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.

Salah satu upaya untuk melawan mikroba tersebut adalah dengan menggunakan mikroba lain yang mempunyai sifat antagonis (antimikroba) sebagai pengganggu atau penghambat metabolisme mikroba lainnya. Antimikroba merupakan bahan kimia yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba. Zat antimikroba yang digunakan dalam pengobatan bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme patogen atau mencegah terjadinya infeksi. Untuk tujuan terapi suatu zat antimikroba harus menunjukkan toksisitas selektif yang artinya zat antimikroba tersebut dapat menghambat mikroorganisme patogen dan bersifat toksik hanya terhadap bakteri patogen, tetapi tidak terhadap inangnya (Harmita dan Radji, 2008).

Menurut Rahardjo (2008), mekanisme kerja antimikroba yaitu sebagai berikut:

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Antimikroba bekerja dengan cara memblokir tahap metabolisme spesifik mikroba. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamid dan trimetoprim. Sulfonamid menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri. Sulfonamid bebas secara struktur mirip dengan asam folat, para-amino asam benzoat (PABA) dan bekerja sebagai penghambat kompetitif untuk enzim-enzim yang langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidropteroat. Trimetoprim secara struktur analog pteridin yang dibagi oleh enzim dihidrofolat reduktase dan bekerja sebagai penghambat kompetitif enzim tersebut yang dapat mengurangi dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat.

2. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel

Bakteri memiliki dinding sel yang kaku terdiri atas peptidoglikan dan berfungsi untuk mempertahankan bentuk mikroorganisme dan menahan sel bakteri yang memiliki tekanan osmotik yang tinggi di dalam selnya. Antimikroba menghambat sintesis dinding sel bakteri atau mengaktifkan enzim yang dapat merusak dinding sel bakteri sehingga akan menyebabkan lisis pada sel. Antimikroba yang termasuk golongan ini yaitu penisilin, sefalosporin, vankomisin, ristosisin, basitrasin dan sikloserin.

3. Antimikroba yang menghambat fungsi membran sel

Antimikroba ini dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba dengan cara mengubah tegangan permukaan (*surface-active agent*).

Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain. Dalam hal ini antimikroba dapat berinteraksi dengan sterol membran sel pada jamur misalnya amfoterisin B dan nistatin, merusak membran sel bakteri Gram negatif misal polimiksin dan kolistin.

4. Antimikroba yang menghambat sintesis protein

Salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom, sehingga pada akhirnya dapat mengganggu proses translasi dan transkripsi bahan genetik. Antimikroba yang termasuk ke dalam golongan ini adalah aminoglikosid, makrolid, linkomisin, tertrasiklin, dan kloramfenikol.

5. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba ini berikatan dengan enzim RNA polimerase (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini ialah rifampisin dan golongan kuinolon.

F. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba secara *in vitro* dilakukan dengan cara mengukur kemampuan zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan tersebut dapat dilakukan dengan metode dilusi dan difusi.

1. Dilusi

Dilusi disebut juga dengan uji pengenceran merupakan pengukuran aktivitas antimikroba secara kuantitatif. Metode ini dapat dilakukan dengan cara menggabungkan pengenceran zat antimikroba ke dalam kaldu atau media agar yang

kemudian diinokulasikan dengan mikroorganisme yang akan diuji. Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah diinkubasi selama 24 jam disebut dengan konsentrasi hambatan minimum/KHM (Vandepitte, dkk., 2011).

2. Difusi

Metode difusi adalah salah satu metode lain untuk menguji aktivitas antimikroba. Metode difusi yang sering digunakan yaitu metode *disk* dan sumuran. Prinsip dari metode difusi ini yaitu zat antimikroba yang ditambahkan akan berdifusi pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Zat antimikroba terdifusi sampai pada titik zat tersebut tidak lagi menghambat pertumbuhan mikroba. Efektivitas zat antimikroba ditunjukkan oleh zona hambat yang terbentuk. Zona hambatan tampak sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Metode sumuran memiliki kelebihan yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrisi agar tetapi juga sampai ke bawah, selain itu diameter zona hambat yang dihasilkan juga lebih besar. Hal tersebut diakibatkan karena pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas zat antimikroba terjadi secara menyeluruh dan homogen (Harmita dan Radji, 2008; Listari, 2009; Haryati, Darmawati, Wilson, 2017).