



**PENELUSURAN DAN ISOLASI FUNGI TANAH KABUPATEN
SITUBONDO SERTA SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:

Retno Ayu Nitasari

NIM 152210101043

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**PENELUSURAN DAN ISOLASI FUNGI TANAH KABUPATEN
SITUBONDO SERTA SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Retno Ayu Nitasari

NIM 152210101043

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan rahmat dan karunia sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Ayah dan Ibu yang telah memberikan semangat, kekuatan, kasih sayang dan doa yang tidak pernah putus.
3. Kakakku tersayang Emi Antika yang menjadi kakak sekaligus teman yang tidak pernah lelah dan selalu tegar sehingga membuatku semangat untuk mengerjakan skripsi ini.
4. Bapak Ibu Guru SDN 1 Sumberkedawung, SMPN 1 Leces, SMA Taruna Dra. Zulaeha dan seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi begitu banyak ilmu dan membimbing saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Teman-teman seperjuangan yang selalu membantu dan mendoakan.
6. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“Dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik kepadamu”

(Terjemahan Surah Al-Qasas ayat 77)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Retno Ayu Nitasari

NIM : 152210101043

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penelusuran dan Isolasi Fungi Tanah Kabupaten Situbondo serta Skrining Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,
Yang menyatakan,

Retno Ayu Nitasari
152210101043

SKRIPSI

**PENELUSURAN DAN ISOLASI FUNGI TANAH KABUPATEN
SITUBONDO SERTA SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Oleh:

Retno Ayu Nitasari

NIM 152210101043

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Bawon Triatmoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Ari Satia N, S.F., GDipSc., MSc-res.,PhD.,Apt

PENGESAHAN



RINGKASAN

Penelusuran dan Isolasi Fungi Tanah Kabupaten Situbondo serta Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*; Retno Ayu Nitasari, 152210101043; 2019: 70 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Penyakit infeksi masih menduduki urutan tertinggi penyebab penyakit dan kematian di Negara berkembang seperti Indonesia (Wahjono, 2007). Penyakit infeksi merupakan kontributor penyebab morbiditas dan mortalitas yang cukup besar hingga saat ini (Suwanto, 2019). Data statistik WHO menunjukkan bahwa infeksi termasuk dalam sepuluh besar penyakit yang menjadi penyebab kematian di Indonesia dengan persentase 9,5% (WHO, 2015). Pemberian agen antibakteri untuk pengobatan infeksi merupakan terapi utama yang digunakan hingga saat ini. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Kuswandi, 2011), timbulnya efek samping seperti hipersensitivitas, penekanan sistem imun, dan reaksi alergi (Bibi dkk., 2011). Periode ini penggunaan antibakteri mengalami masalah dengan peningkatan resistensi beberapa jenis antibakteri (*Multi Drug Resistance*) (Utami, 2017). Salah satu contoh bakteri yang mengalami peningkatan resistensi adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Oliveira dkk., 2002). Penelusuran agen antibakteri harus terus dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibiotik baru yang memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme patogen (Zulkifli dkk., 2016). Salah satu cara mendapatkan agen antibiotik yang baru yaitu dengan memanfaatkan agen antibakteri yang bersumber dari bahan alam. Menurut sejarah, penemuan agen antibakteri banyak berasal dari fungi (Zhu dkk., 2011), salah satunya yaitu *Penicillin* (Drews, 2009). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menelusuri dan mengisolasi fungi tanah dari Kabupaten Situbondo serta melakukan skrining potensi fungi tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi fungi tanah dari tanah rawa dan dilanjutkan dengan skrining aktivitas dari ekstrak fungi tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Dari tahap isolasi didapatkan 5 jenis fungi dengan kode IS-STB-III-1, IS-STB-III-2, IS-STB-III-3, IS-STB-III-4, IS-STB-III-5. Ekstrak etil asetat fungi IS-STB-III-5 memberikan hambatan pada pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hasil diameter zona hambat menunjukkan perbedaan bermakna antara konsentrasi 1000 µg/mL dan 8000 µg/mL berdasarkan analisis data melalui *One Way ANOVA*. Identifikasi golongan senyawa dalam ekstrak dilakukan untuk memberikan informasi untuk dapat mengisolasi senyawa murni dalam ekstrak yang bertanggung jawab dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penelusuran dan Isolasi Fungi Tanah Kabupaten Situbondo serta Skrining Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*” Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Allah SWT atas izin dan pertolongan-Nya, sehingga bisa menyelesaikan skripsi dan mendapatkan gelar sarjana;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Bawon Triatmoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ari Satia N, S.F., GDipSc., MSc-res.,PhD.,Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran, perhatian, dan dengan sabar membimbing penulis untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
4. Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,MSc.,Apt selaku Dosen Penguji Utama dan Ibu Nia Kristiningrum S.Farm, M.Sc.,Apt selaku Dosen Penguji Anggota atas saran yang membangun untuk perbaikan dalam penulisan skripsi ini.
5. Ari Satia N, S.F., GDipSc., MSc-res.,PhD.,Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberi dukungan dan semangat penulis selama masa perkuliahan;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan pada penulis;
7. Ibu Wayan, Ibu Widi, Mbak Hani, Bu Itus dan Mbak Parka selaku asisten laboratorium yang telah banyak membantu dan memudahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;

8. Ayah Slamet dan Ibu Hariatik tercinta serta Kakak Saya Emi Antika untuk pengorbanan, kasih sayang, kekuatan, semangat dan doa yang tidak pernah putus bagi penulis;
9. Sahabat sekaligus saudara Qorny Faren A dan Dzatinnuha yang selalu menemani dan mensupportku dalam banyak hal hingga saat ini.
10. Pramudia Wardani dan Septi Orbita, sahabatku yang selalu ada dan selalu menemani ketika suka maupun duka, terimakasih telah memberikan pelajaran hidup yang berbeda hingga menjadi seperti saat ini.
11. Fachrizal Novan Ariefilisyam, yang selalu menemani, menyemangati, dan selalu sabar. Terimakasih telah memilih mendukung dan menemani hingga saat ini. Semoga selalu diridhoi dan selalu dalam lindungan-Nya.
12. Dewi Enggar Fitriani dan Eka Ayu Amaliyah teman seataap yang selalu siaga, teman mager, teman tidur, teman makan, terimakasih selalu menerima aku dalam tangis dan tawa. Aku cinta kamu 2999.
13. Sahabatku “CCC” yang terdiri dari Enggar, Mita, Kartini, dan Yemima. Terima kasih telah menjadi teman main dan belajar semasa kuliah di Jember.
14. Sahabatku Mita Swardini, Navisa Noor, Fitri Nurussani, yang menjadi orang positif selama ini (meskipun kadang negatif). Terima kasih telah mendirikan Majelis bersama para anggota Ulfi, Yesika, Dian, Dindha P. Semoga kita selalu diberi kebahagiaan. Aamiin
15. Partner “SOIL FUNGI” satu-satunya, Fawwas Ba'tio P.P yang selalu sabar pakek banget menghadapi saya serta terimakasih kepada adek-adek yang telah membantu berjalannya penelitian ini.
16. Aissa Dinar Yanuariski, terimakasih telah menemani masa-masa yang tidak mudah di Jember.
17. Gayuh, Oby, Iwan, Juju, Alwi, Fantoni dan teman-teman Farmasi kelas A semua yang selalu membantu dan menyemangati.
18. Keluarga baruku KKN 156 Desa Guyangan, Krucil-Probolinggo, Kukuk introvert, Umik Dini, Leni Snow-white, Fafa Bos, dan Budi Kordes. Terimakasih untuk kebersamaannya selama 45 hari yang memberikan banyak pengalaman sekaligus pelajaran berharga.

19. Teman kosku semua yang ada di “KOS MEIKARTA”, Nanda, Enggar, Ipin, Teta, Leni, Nawang, Zulfa, Mbak Disty, Mbak fia. Terima kasih menjadi keluarga pertama di Jember waktu MABA dan terimakasih selalu menyemangati sampai saat ini.
20. Teman-teman LIBITUM (Farmasi UNEJ 2015), yang selalu saling memberi semangat dan dukungan;
21. Serta untuk semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dan untuk seluruh doa yang terucap tanpa sepengetahuan penulis.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada skripsi ini, sehingga penulis menerima saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca semua.

Jember, Juli 2019

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Penyakit Infeksi	5
2.2 Tinjauan Umum Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.3 Antibiotik	7
2.3.1. Antibiotik.....	7
2.3.2. Uji aktivitas antibakteri	8
2.4 Fungi Tanah.....	9
2.5 Tinjauan Isolasi dan Fermentasi.....	10
2.5.1. Isolasi Fungi Tanah	10
2.5.2. Fermentasi Fungi Tanah	10
2.6 Ekstraksi	12
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	13
3.1 Jenis Penelitian	13
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	13

3.3 Variabel Penelitian	13
3.3.1 Variabel Bebas	13
3.3.2 Variabel Terikat	13
3.3.3 Variabel Terkendali.....	13
3.4 Rancangan Penelitian	14
3.4.1 Rancangan Percobaan	14
3.4.2 Skema Penelitian.....	15
3.5 Alat dan Bahan	16
3.5.1 Alat.....	16
3.5.2 Bahan.....	16
3.6 Prosedur Kerja	16
3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	16
3.6.2 Pembuatan Media PDA	16
3.6.3 Pembuatan Media PDB	17
3.6.4 Pembuatan Media MHA.....	17
3.6.5 Persiapan Sampel Tanah	17
3.6.6 Pemurnian Fungi Tanah	18
3.6.7 Skrining Awal Aktivitas Antibakteri	18
3.6.8 Fermentasi	18
3.6.9 Ekstraksi	19
3.6.10 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah .	19
3.6.11 Analisis Data.....	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Isolasi Fungi Tanah.....	23
4.1.1 Pengumpulan Sampel Tanah	23
4.1.2 Isolasi Fungi Tanah	23
4.2 Skrining Fungi Tanah Potensial.....	26
4.3 Fermentasi dan Ekstraksi Fungi Tanah Potensial.....	27
4.4 Skrining Kandungan Senyawa Fungi Tanah.....	29
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri	33
4.6 Analisis Data	35
BAB 5. PENUTUP.....	39

5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN	43



DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Komposisi Media dalam optimasi pertumbuhan fungi tanah	14
Tabel 3. 2 Penambahan NaCl pada media Potato Dextrose Agar	17
Tabel 4. 1 Hasil Skrining Fungi Tanah Potensial	26
Tabel 4. 2 Hasil Ekstraksi Fungi Tanah IS-STB-III-5	28
Tabel 4. 3 Hasil Skrining Kandungan Senyawa Fungi Tanah IS-STB-III-5	29
Tabel 4. 4 Diameter Zona Hambat Fungi Tanah terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	34
Tabel 4. 5 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	35
Tabel 4. 6 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene Test</i>	36
Tabel 4. 7 Hasil Uji Beda <i>One-Way Anova</i>	36
Tabel 4. 8 Hasil Uji <i>Least Significant Difference</i>	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	7
Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian	15
Gambar 3.2 Desain Uji Antibakteri	21
Gambar 4. 1 Lokasi Pengumpulan Tanah	23
Gambar 4. 2 Hasil Isolasi dan Pemurnian Fungi Tanah	25
Gambar 4. 3 Skrining Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah ..	30
Gambar 4. 4 Skrining Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah	31
Gambar 4. 5 Skrining Senyawa Terpenoid/Steroid dari Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah.....	32
Gambar 4. 6 Skrining Senyawa Polifenol dari Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah..	33
Gambar 4. 7 Grafik Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fungi Tanah terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	34

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menduduki urutan tertinggi penyebab penyakit dan kematian di Negara berkembang seperti Indonesia (Wahjono, 2007). Penyakit infeksi merupakan kontributor penyebab morbiditas dan mortalitas yang cukup besar hingga saat ini (Suwanto, 2019). Penyebab penyakit infeksi yaitu adanya invasi mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, jamur maupun parasit kedalam tubuh dan dapat menyebar ke orang lain baik secara langsung maupun tidak langsung (WHO, 2016). Data statistik WHO menunjukkan bahwa infeksi termasuk dalam sepuluh besar penyakit yang menjadi penyebab kematian di Indonesia dengan persentase 9,5% (WHO, 2015).

Pemberian agen antibakteri untuk pengobatan infeksi merupakan terapi utama yang digunakan hingga saat ini. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Kuswandi, 2011), timbulnya efek samping seperti hipersensitivitas, penekanan sistem imun, dan reaksi alergi (Bibi dkk., 2011). Periode ini penggunaan antibakteri mengalami masalah dengan peningkatan resistensi beberapa jenis antibakteri (*Multi Drug Resistance*) (Utami, 2017). Salah satu contoh bakteri yang mengalami peningkatan resistensi adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Oliveira dkk., 2002).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan patogen paling berbahaya pada marga *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit atau luka pada organ tubuh lain apabila bakteri ini bisa melawan pertahanan tubuh. Ketika bakteri ini masuk dalam peredaran darah, bakteri ini dapat menyebar pada organ tubuh lainnya dan dapat menyebabkan infeksi (Anwar dkk., 2009). Tidak jarang terjadi resistensi antibiotik pada bakteri ini (Lisa, 2006). Contoh kasus resistensi terhadap *S. aureus* yang pertama kali pada tahun 1960 yaitu resistensi *S. aureus* terhadap *Penicillin* yang kemudian disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA),

dimana MRSA adalah *strain* dari *S. aureus* yang resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik golongan β -laktam termasuk *penicillin*, *cephalosporine*, dan *carbapenem* (Oliveira dkk., 2002).

Penelusuran agen antibakteri harus terus dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibiotik baru yang memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme patogen (Zulkifli dkk., 2016). Salah satu cara mendapatkan agen antibiotik yang baru yaitu dengan memanfaatkan agen antibakteri yang bersumber dari bahan alam. Bahan alam yang digunakan sebagai obat-obatan umumnya adalah tanaman. Tanaman yang digunakan sebagai obat-obatan biasanya digunakan dengan cara ditumbuk, direbus atau bahkan dibuat ekstrak. Jumlah tanaman yang dibutuhkan dalam praktek untuk membuat ekstrak umumnya tidak sedikit. Hal ini yang menyebabkan ketersediaan tanaman yang memiliki potensi sebagai obat menjadi langka tanpa adanya pelestarian. Tindakan ini akan menyebabkan tanaman menjadi punah dan kesempatan dalam penemuan obat baru menjadi lebih kecil. Dibutuhkan alternatif lain dalam pengembangan agen antibakteri agar tanaman tidak habis jika digunakan terus-menerus.

Menurut sejarah, penemuan agen antibakteri banyak berasal dari fungi (Zhu dkk., 2011), salah satunya yaitu *Penicillin* (Drews, 2009). Pengembangan agen antibakteri yang baru juga diperlukan strategi yang tidak menyebabkan dampak besar bagi lingkungan, contohnya yaitu dengan menggunakan fungi dari tanah rawa. Penemuan produk alami terbaru dengan aktivitas farmakologis yang tinggi akhir-akhir ini sering dihasilkan dari isolasi sampel tanah, termasuk fungi tanah yang diidentifikasi Alkhulafhi (2019) yaitu *Aspergillus thecius*, *A. terreus* var. *africans*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. foetidus* *Fusarium chlamydosporum* and *F. nygamai*.

Fungi merupakan salah satu mikroba eukariot yang umumnya berukuran $>10 \mu\text{m}$. Fungi secara struktural lebih kompleks dan bervariasi dalam segi morfologi (Stephen P. Denyer, Norman Hodges, Sean P. Gorman, 2011). Banyak fungi akan tumbuh pada media bakteriologis umum yang digunakan di laboratorium, seperti *Nutrient Agar*, *Trypticase Soy Agar*, *Blood Agar*, dan *Brain-heart Infusion Agar* (Nanjwade dkk., 2010). Umumnya fungi dapat diisolasi

dengan menambahkan sampel (seperti, tanah, bahan organik, cairan) pada cawan petri dengan medium yang kaya seperti agar ekstrak malt dan *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk pertumbuhan berbagai fungi (Drews, 2009).

Fungi tanah tumbuh dengan sifat patogen atau simbiotik (Pradesh, 2010). Penelitian tentang fungi tanah sebagai agen antibakteri sudah banyak yang berhasil ditemukan. Menurut penelitian Alkhulaifi (2019) yang menyatakan adanya aktivitas antibakteri dari fungi tanah yang mereka isolasi dari University of Sultan Qaboos, Muscat, Sultanate of Oman. Fungi tanah yang diisolasi menunjukkan aktivitas terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif seperti *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian dari Raja (2017) juga menyatakan bahwa fungi tanah yang diisolasi dari Loyola College Campus, Chennai, India memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian terkait fungi tanah di Indonesia sendiri masih sangat sedikit.

Berdasarkan penjelasan di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi fungi tanah rawa di Kabupaten Situbondo dalam menghambat aktivitas bakteri. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode uji difusi cakram. Metode ini digunakan untuk mengetahui diameter hambat pada pertumbuhan bakteri dari masing-masing dengan melihat zona bening yang terbentuk disekitar fungi tersebut (Bonev dan Hooper, 2008).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, masalah yang dapat dirumuskan pada penelitian ini antara lain:

1. Apakah fungi tanah hasil isolasi dari tanah rawa Kabupaten Situbondo memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Berapa nilai diameter hambat ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi dari tanah rawa Kabupaten Situbondo terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri fungi tanah hasil isolasi tanah rawa Kabupaten Situbondo dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui nilai diameter hambat ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi tanah dari tanah rawa Kabupaten Situbondo terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin didapatkan dari penelitian ini antara lain:

1. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi tentang aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat fungi tanah dari tanah rawa Kabupaten Situbondo terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* serta menambah pengetahuan bagi kemajuan di bidang kesehatan dan pengetahuan alam.
2. Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk mengisolasi senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Penyakit Infeksi

Penyakit infeksi merupakan suatu keadaan dimana terdapat invasi *host* oleh suatu mikroorganisme patogen. Virus, jamur dan bakteri merupakan beberapa contoh dari mikroorganisme tersebut. Patogen adalah mikroba yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan penyakit (Irving dkk, 2006). Penyakit infeksi sendiri dapat menular baik secara langsung maupun tidak langsung. Menurut (RISKESDAS, 2013), penyakit infeksi yang menular dapat diklasifikasikan dari cara penularannya, yaitu melalui: (1) udara, contohnya tuberkulosis, pneumonia, dan penyakit saluran pernafasan akut (ISPA); (2) makanan, minuman atau air, contohnya diare dan hepatitis; (3) vektor, contohnya malaria. Berdasarkan dari data estimasi penyebab kematian di dunia oleh WHO pada tahun 2015, sebesar 15,78% kematian disebabkan oleh penyakit infeksi (World Health Organisation, 2016).

Bakteri patogen termasuk salah satu mikroorganisme penyebab infeksi. Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler yang dibagi menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif seperti contoh *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Bacillus cereus* (Irving dkk, 2006). Contoh infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif adalah infeksi kulit dan jaringan lunak, osteomyelitis, meningitis, saluran cerna, dan infeksi saluran kemih serta pneumonia (Taylor dan Unakal, 2018).

2.2 Tinjauan Umum Bakteri *Staphylococcus aureus*

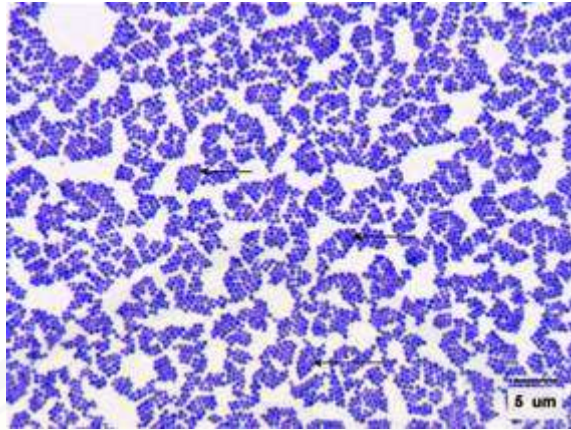
Berikut adalah klasifikasi dari *Staphylococcus aureus*:

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

(ITIS, 2017)

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif berdiameter 0,7-1,2 μm , berbentuk bulat (*coccus*) membentuk koloni seperti buah anggur, tidak berspora, tidak bergerak dan dapat tumbuh pada suhu 37 °C sebagai suhu optimum. *S. aureus* mampu menghasilkan isolat lebih dari 90% yang diketahui mempunyai kapsul polisakarida yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz dkk, 2004).

S. aureus merupakan patogen oportunistik yang mampu menghindari sistem kekebalan dan menyebabkan berbagai macam infeksi mulai dari lesi kulit superfisial, sampai sepsis yang mengancam kehidupan. Masuknya *S. aureus* dalam pembuluh darah dapat menyebabkan beberapa infeksi yang serius (Taylor dan Unakal, 2018). *S. aureus* adalah patogen pada manusia yang tergolong berat dan tangguh, sebagaimana dibuktikan dari kenaikannya pada beberapa tahun terakhir (Anwar dkk., 2009). Selain itu *S.aureus* juga menjadi bakteri patogen yang sering mengkontaminasi beberapa jenis bahan pangan seperti susu serta karkas ayam yang kurang baik saat penanganan pasca panen (Oktaviantris, 2007).



Gambar 2. 1 Morfologi *Staphylococcus aureus* (Sumber: Scott Jones, MD StatPearls Publishing; 2019)

2.3 Antibiotik

2.3.1. Antibiotik

Tahun 1928, Paul Ehrlich diikuti seorang ahli mikrobiologi Inggris Alexander Fleming menemukan antibiotik yaitu *Penicillin*. *Penicillin* mulai diresepkan pada tahun 1930-an untuk mengobati infeksi. Banyak infeksi yang menyebabkan kematian dan tidak bisa disembuhkan sebelum ditemukannya antibiotik. Setelah *Penicilin*, mulai banyaknya antibiotik yang ditemukan seperti kloramfenikol dan kelompok sefalosporin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida, polipeptida, linkomisin dan rifampisin. Dewasa ini banyak obat antimikroba baru yang telah dikembangkan yang mampu menyembuhkan hampir semua infeksi antimikroba (Zhang dkk., 1943).

Antimikroba adalah obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia. Sedang antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme (khususnya dihasilkan oleh fungi) atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain. Secara garis besar antimikroba dibagi menjadi dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakterisid) dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik). Antibiotik yang termasuk golongan bakterisid antara lain penisilin, sefalosporin, aminoglikosida (dosis besar), kotrimoksazol, rifampisin,

isoniazid dan lain-lain. Sedangkan antibiotik yang memiliki sifat bakteriostatik, dimana penggunaannya tergantung status imunologi pasien, antara lain sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetropim, linkomisin, klindamisin, asam paraaminosalisilat, dan lain-lain (Utami, 2002).

2.3.2. Uji aktivitas antibakteri

Metode uji antibakteri terdiri dari beberapa macam yaitu metode difusi, KLT bioautografi, dilusi, waktu pembunuhan, ATP bioluminescence, dan *Flow cytofluorometric*. Pada penelitian kali ini dilakukan metode pengujian menggunakan metode difusi cakram.

Metode uji difusi cakram merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui sensitivitas antimikroba terhadap bakteri. Metode ini sering digunakan untuk mengetahui diameter hambat yang terbentuk dalam media padat yang dilakukan dengan menggunakan cakram yang telah direndam dalam larutan uji dalam konsentrasi tertentu dan diletakkan pada media agar. Jika antibakteri tersebut mampu menghentikan pertumbuhan bakteri maka akan terlihat zona bening disekitar cakram yang dapat diartikan sebagai zona penghambatan (Bonev dan Hooper, 2008). Ukuran zona bening yang dihasilkan dapat digunakan untuk melihat seberapa efektif antibakteri tersebut.

Metode difusi cakram memiliki beberapa kelebihan antara lain mudah dilakukan, sederhana dan tidak memakan banyak biaya, namun metode ini juga beberapa memiliki kerugian yaitu pengukuran zona hambat yang dilakukan secara manual dan pengamatan secara visual pada hasil yang didapatkan (Luc, 2015). Pada prakteknya metode difusi banyak digunakan karena peralatan dan bahan yang digunakan mudah didapatkan. Difusi cakram memiliki keutamaan diantaranya metode ini merupakan metode yang efisien dengan sensitivitas yang tinggi (Assay, 1971).

2.4 Fungi Tanah

Fungi tanah adalah sel mirip tumbuhan mikroskopis yang tumbuh dalam struktur panjang seperti benang atau hifa yang menghasilkan massa yang disebut miselium. Miselium menyerap nutrisi dari akar yang telah dijajahnya, bahan organik permukaan atau tanah. Fungi tanah menghasilkan hifa khusus yang menciptakan spora reproduksi. Karakteristik fungi tanah yang paling umum diukur adalah biomassa, stoikiometri unsur, laju pertumbuhan dan efisiensi, dan aktivitas enzim ekstraseluler mereka (Lee Taylor dan Sinsabaugh, 2014). Pertumbuhan fungi sangat bervariasi pada tanah dengan kondisi lembab, aerob, dan kaya senyawa organik (Paul, 2015). Pertumbuhan fungi dalam tanah lebih tinggi dibandingkan bakteri ketika tanah dalam kondisi asam, kaya karbon dan nitrogen (Fierer dkk., 2009).

Fungi tanah memegang peran penting dalam kehidupan sehari-hari manusia selain pemanfaatannya dalam industri, pertanian, kedokteran, industri makanan, tekstil, bioremediasi, siklus alami, sebagai pupuk hayati dan banyak cara lainnya. Bioteknologi fungi telah menjadi bagian integral dari kesejahteraan manusia (Raja dkk., 2017). Seratus empat puluh delapan spesies fungi telah diisolasi dari tanah dengan metode soil-plate. Generasi yang paling umum adalah *Penicillium* dan *Mortierella*, diikuti oleh *Absidia*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Gliomastix*, *Mucor*, *Thielavia*, *Trichoderma* and *Zygorrhynchus* (Johnston, 2010). Sejumlah spesies fungi tanah termasuk *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium* mampu menghasilkan enzim dan metabolit sekunder termasuk antibakteri (Lee Taylor dan Sinsabaugh, 2014). Sekitar 20% antibakteri (fumigasin, chetomin, javanisin, gliotoxin, dll) telah diperoleh dari fungi yang diisolasi dari tanah (Heyd dkk., 2007).

2.5 Tinjauan Isolasi dan Fermentasi

2.5.1. Isolasi Fungi Tanah

Isolasi merupakan suatu proses yang digunakan untuk memisahkan senyawa yang dimaksud dari senyawa lainnya. Isolasi fungi tanah merupakan proses pengambilan dan memisahkan fungi dari kandungan senyawa tanah yang lainnya. Isolasi fungi tanah ini memerlukan media yang sesuai dengan sifat fungi tersebut dan umumnya digunakan PDA (*Potato Dextrose Agar*) sebagai media untuk menumbuhkan fungi. PDA mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup yaitu terdiri dari 20% ekstrak kentang dan 2% glukosa (*dextrose*) sehingga baik untuk pertumbuhan kapang dan khamir tetapi kurang baik untuk pertumbuhan bakteri (Davis dkk, 1971). Ekstrak *potato* (kentang) dan *dextrose* merupakan sumber makanan bagi kapang dan khamir sedangkan agar merupakan bahan media tumbuh yang baik bagi biakan, karena mengandung cukup air.

2.5.2. Fermentasi Fungi Tanah

Fermentasi merupakan proses untuk memperoleh suatu senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder dengan memanfaatkan kemampuan suatu mikroba tertentu. Proses fermentasi dilakukan dengan beberapa metode antara lain sistem *batch process*, *continuous batch process* dan *fed-batch process* (Pumphrey dan Julien, 1996).

Batch process atau sistem tertutup adalah fermentasi yang dilakukan dengan cara memasukkan media dan inokulum ke dalam fermentor dalam waktu yang bersamaan dan hasil fermentasi diambil pada akhir proses fermentasi. Sistem ini disebut sebagai sistem tertutup karena selama proses fermentasi tidak dilakukan penambahan media baru, namun hanya ada penambahan oksigen dan aerasi, antifoam dan asam/basa dengan cara kontrol pH. Komposisi media kultur, konsentrasi biomassa, dan konsentrasi metabolit umumnya berubah secara konstan sebagai hasil dari metabolisme sel (Pumphrey dan Julien, 1996).

Continuous batch process atau sistem terbuka adalah fermentasi yang selama prosesnya dilakukan penambahan nutrisi steril secara terus-menerus (kontinyu) ke dalam fermentor dalam waktu dan jumlah yang sama dengan hasil

fermentasi yang dikeluarkan. Kondisi ini menghasilkan keadaan yang “*steady state*”. (Pumphrey dan Julien, 1996). Pada kondisi ini volume, konsentrasi nutrien, konsentrasi sel, laju pertumbuhan dan konsentrasi produk tidak mengalami perubahan meskipun waktu yang digunakan dalam proses fermentasi semakin lama.

Fed-batch process adalah adalah suatu proses fermentasi yang menambahkan media baru secara teratur pada kultur tertutup, tanpa mengeluarkan cairan kultur yang ada di dalam fermentor sehingga volume kultur semakin lama semakin bertambah. Pada proses ini substrat larutan ditambahkan dalam konsentrasi kecil pada awal fermentasi dan terus ditambahkan dalam dosis kecil selama proses fermentasi berlangsung (Pumphrey dan Julien, 1996).

Fermentasi fungi tanah dilakukan untuk menarik semua metabolit yang ada pada fungi tersebut khususnya metabolit sekunder dari fungi yang diperkirakan mempunyai aktivitas dan potensi sebagai penemuan obat baru. Pada fermentasi fungi ini digunakan sistem *batch process* karena prosesnya yang sederhana, tidak memerlukan biaya yang mahal serta tidak ada gangguan reaktan selama proses fermentasi karena adanya penambahan media/nutrisi. Fermentasi fungi tanah pada penelitian ini digunakan PDB (*Potato Dextrose Broth*) sebagai medianya. *Potato Dextrose Broth* adalah media yang umumnya digunakan untuk menumbuhkan jamur (khamir dan kapang) yang mengandung 20% ekstrak kentang dan 2% glukosa (*dextrose*). Ekstrak *potato* (kentang) disini mampu menjadi sumber karbohidrat, vitamin, mineral, protein, asam lemak, dan nutrisi lain dibutuhkan oleh mikroorganisme tersebut, sedangkan *dextrose* (D-glukosa) merupakan karbohidrat sederhana yang dapat memicu pertumbuhannya dengan memberikan nutrisi tambahan yang dibutuhkan, sehingga gabungan komponen ini mampu memberikan suplai makanan untuk khamir dan kapang agar tetap mampu bertahan hidup (Aldrich, 2014).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi ini didasarkan pada perbedaan kelarutan suatu zat dalam suatu pelarut. Semakin besar perbedaan kelarutan suatu zat maka akan semakin sempurna proses pemisahannya. Berdasarkan bentuk campuran yang akan diekstraksi, ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair (corong pisah) merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Ekstraksi cair-cair biasanya dilakukan dengan menggunakan corong pemisah (*separatory funnel*). Corong pisah yang berisi sampel dan pelarut organik dikocok untuk mencampurkan pelarut dengan sampel sehingga terpisah menjadi dua lapisan yaitu fasa organik dan fasa cair. Ekstraksi cair-cair mempunyai tujuan untuk mendapatkan selektivitas yang tinggi pada tiap komponen. Komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Sampurno 2000).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Fungi dari tanah rawa yang dibiakkan dan diisolasi serta melakukan uji aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* yang dilakukan adalah jenis penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium DUDRG, Laboratorium Analisis Instrumen, Laboratorium Kimia, dan Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember yang dimulai bulan September 2018 hingga selesai.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak yang dihasilkan dari fermentasi fungi tanah.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai diameter hambat dalam uji aktivitas antibakteri dari fungi tanah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah :

1. Pembuatan media biakan fungi tanah
2. Pembiakan dan isolasi fungi tanah dari tanah rawa
3. Pembuatan biakan bakteri *Staphylococcus aureus*
4. Suhu inkubasi bakteri 37°C selama 24 jam
5. Metode pengamatan diameter zona hambat
6. Prosedur penelitian

3.4 Rancangan Penelitian

3.4.1 Rancangan Percobaan

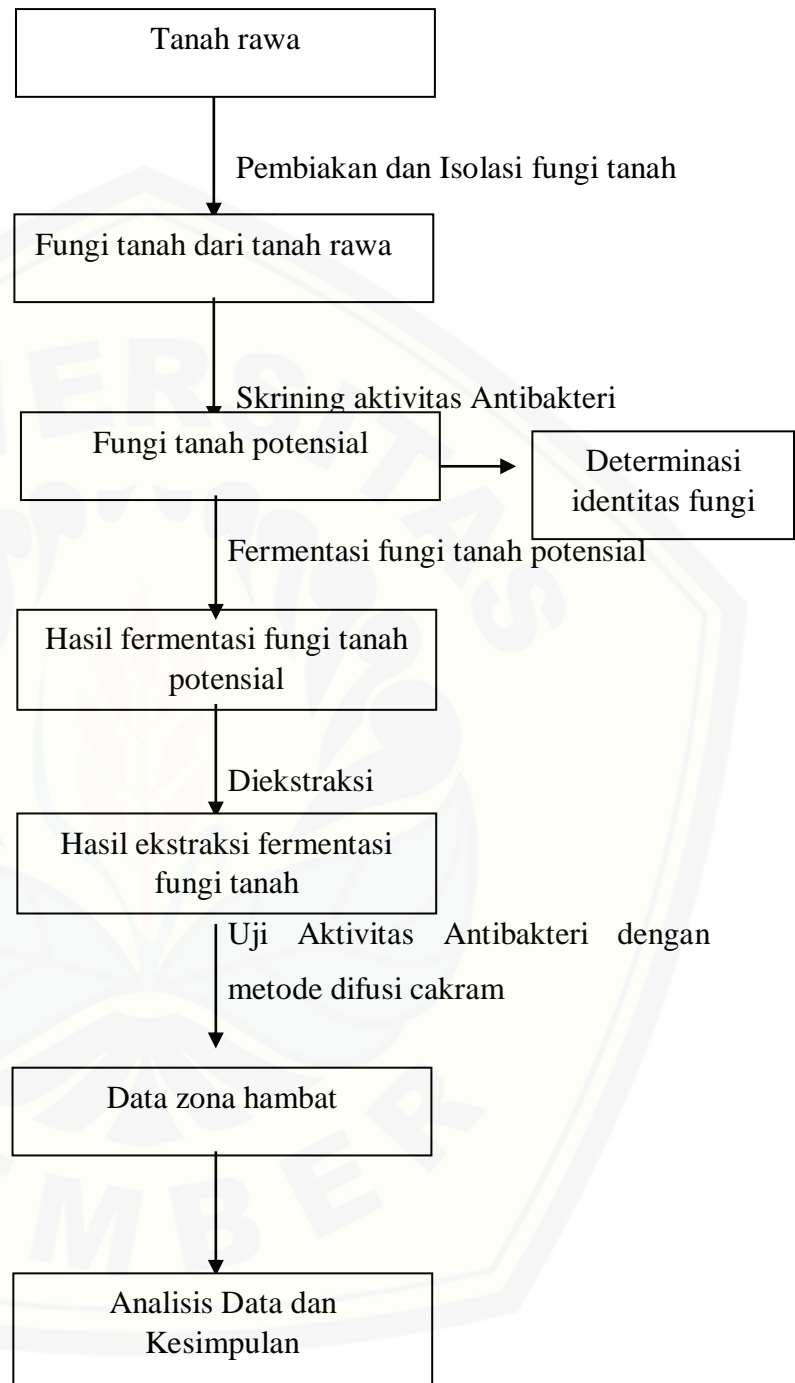
Penelitian ini dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri fungi tanah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rancangan penelitian yang dilakukan adalah *the post test only control group design*. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dua kelompok tersebut akan diukur diameter zona hambat yang dihasilkan.

Langkah awal dalam penelitian ini adalah dengan membiakkan fungi tanah dari tanah rawa dalam media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Kemudian melakukan optimasi terlebih dahulu untuk menentukan media terbaik dalam pertumbuhan fungi tanah. Optimasi dilakukan dalam 5 jenis media yang di sebutkan pada Tabel 3.1. Setelah ditanam, fungi yang tumbuh kemudian diisolasi hingga mendapat senyawa yang murni. Setelah mendapat fungi murni, fungi tersebut kemudian dikontakkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dan diamati zona hambatnya . Fungi yang memiliki zona hambat terbesar kemudian diidentifikasi untuk mengetahui identitas fungi (untuk identifikasi, isolat murni fungi dikirimkan ke *Genetica Science* Jakarta). Sisa fungi yang telah dibiakkan difermentasi kemudian diekstraksi untuk diambil fraksinya dan dengan konsentrasi tertentu diuji zona hambatnya dengan metode difusi cakram.

Tabel 3. 1 Komposisi Media dalam optimasi pertumbuhan fungi tanah

Jenis Media	Komposisi Media
PDA	Potato Dextrose Agar + Aquadest
PDA 1%	Potato Dextrose Agar + Aquadest + NaCl 1 %
PDA 2%	Potato Dextrose Agar + Aquadest + NaCl 2 %
PDA 3%	Potato Dextrose Agar + Aquadest + NaCl 3 %
PDA Air Laut	Potato Dextrose Agar + Air Laut

3.4.2 Skema Penelitian

**Gambar 3.1** Skema Alur Penelitian

Keterangan : Identifikasi dilakukan secara terpisah dan tidak termasuk dalam naskah skripsi

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

LAF (*Laminar Air Flow*), inkubator, *microplate reader* (CORONA SH-1000), Neraca analitik (Ekhous), autoklaf (TOMY ES-315), *hotplate* (UC-152), vortex (GENE-2), mikropipet (SOCOREX). Perlengkapan lain berupa: erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, jarum ose, pinset, *yellow tip*, *blue tip*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vial, spatula logam, *beaker glass*, pipet tetes, jangka sorong (TRICLE BRAND).

3.5.2 Bahan

Tanah rawa yang diperoleh dari Pantai Pasir Putih Kecamatan Bungatan - Kabupaten Situbondo, aquades steril, NaCl, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), bakteri *Staphylococcus*, DMSO, BaCl₂, H₂SO₄, dan gentamisin cakram 10 µg sebagai kontrol positif.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.6.2 Pembuatan Media PDA

Pertama-tama yang dilakukan sebelum pembuatan media adalah dengan mensuspensikan 1,17 gram PDA dalam 30 mL air suling dalam Erlenmeyer (dibuat sebanyak 5 Erlenmeyer). Pada pembuatan media kali ini digunakan air laut sebagai pengganti air suling pada erlenmeyer 5. Selanjutnya ditambahkan NaCl pada Erlenmeyer 1, 2 dan 3 dengan konsentrasi NaCl sesuai tabel 3.2. Pada erlenmeyer 4 tidak dilakukan penambahan apapun. Kemudian dipanaskan hingga mendidih untuk melarutkan media sepenuhnya. Kemudian disterilisasi sesuai prosedur sebelumnya. Tuangkan pada *petri dishes* (ketebalan ± 6 mm). Rekatkan parafilm ukuran 13cm x 2cm dengan cara melingkarkan pada *petri dishes*.

Tabel 3. 2 Penambahan NaCl pada media *Potato Dextrose Agar*

Erlenmeyer	Penambahan NaCl	Konsentrasi Akhir
Erlenmeyer 1	0,3 gram	1%
Erlenmeyer 2	0,6 gram	2%
Erlenmeyer 3	0,9 gram	3%

3.6.3 Pembuatan Media PDB

Sebanyak 1,44 gram *Potato Dextrose Broth* (PDB) dimasukkan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam 60 mL aquades. Campuran diaduk hingga larut dan media tampak jernih. Kemudian media disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, media dituang dalam *petri dishes* dan direkatkan dengan *parafilm* untuk disimpan.

3.6.4 Pembuatan Media MHA

Ditimbang *Mueller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 5,44 gram, dimasukkan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam aquades 250 mL. Campuran diaduk sambil dipanaskan di atas *hotplate* hingga media larut dan jernih. Media MHA yang telah larut disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah media dituang dalam *petri dishes* dan direkatkan dengan *parafilm* untuk disimpan.

3.6.5 Persiapan Sampel Tanah

Sampel tanah yang didapatkan dari rawa Pantai Pasir Putih Situbondo dihomogenkan setelah itu dikeringkan kemudian dimasukkan dalam *tube*. Ditambahkan aquades steril kedalam *tube* dengan spuit injeksi. Kemudian campuran dihomogenkan dengan cara *divortex*. Setelah itu disentrifuge dengan kecepatan 100 µg/mL selama 10 menit. Setelah disentrifuge akan dihasilkan pelet dan supernatan. Diambil supernatan menggunakan mikropipet dan diswap dengan

spreader diatas media PDA hingga merata. Kemudian dilekatkan parafilm dengan cara melingkar dan diinkubasi selama 24 jam.

3.6.6 Pemurnian Fungi Tanah

Dilakukan pemurnian fungi tanah untuk mendapatkan fungi tunggal. Pemurnian ini dilakukan dengan cara mengkultur fungi yang telah tumbuh. Pemurnian fungi tanah diambil berdasarkan perbedaan morfologi yang diamati setelah jamur tumbuh. Fungi diambil menggunakan ose kemudian dipindah ke media yang baru dan dilakukan pengamatan setiap hari dengan mengamati bentuk morfologinya serta mengetahui ada tidaknya kontaminan.

3.6.7 Skrining Awal Aktivitas Antibakteri

Skrining awal aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri dari fungi tanah dengan cara kontak langsung antara fungi dengan bakteri menggunakan bakteri uji *S. aureus*. Biakan bakteri *S. aureus* diinkubasi selama 18-24 jam dalam media MHA, setelah itu disuspensikan kedalam 10 mL NaCl steril dengan mengambil 2x ose bakteri lalu divortex. Kemudian kekeruhan dari suspensi bakteri diukur dengan menentukan absorbansinya dan dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5 menggunakan spektrofotometer UV Vis hingga didapatkan nilai absorbansi antara 0,08 - 0,13. Setelah itu suspensi bakteri dengan nilai absorbansi antara 0,08 – 0,13 dipipet sebanyak 100 μ L dan diratakan pada media MHA menggunakan *spreader*. Fungi yang dibiakkan dalam media PDA diambil dengan jumlah tertentu menggunakan ose dan diletakkan kedalam media MHA yang berisi bakteri uji. Media MHA yang berisi bakteri uji dan fungi hasil skrining diinkubasi pada suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam. Fungi tanah potensial dipilih berdasarkan adanya zona bening yang muncul disekitar fungi yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

3.6.8 Fermentasi

Fungi tanah potensial yang dihasilkan dari skrining difermentasi untuk mendapatkan metabolit sekunder dari fungi. Fermentasi dilakukan dengan memasukkan 3 potong bagian fungi yang diambil dari kultur fungi dan

dimasukkan kedalam 200 mL larutan PDB (*Potato Dextrose Broth*). Kemudian campuran ini diletakkan dalam *shaker* selama 14 hari hingga fungi mencapai fase stationer.

3.6.9 Ekstraksi

Dari hasil fermentasi kemudian diekstraksi untuk mengambil metabolit sekunder yang telah dihasilkan selama fermentasi. Ekstraksi dilakukan dengan penambahan etil asetat. Sebelum ditambah etil asetat, hasil fermentasi dipisahkan terlebih dahulu dengan penyaringan untuk memisahkan fungi dari medianya. Setelah pemisahan, larutan media fermentasi ditambah etil asetat dengan perbandingan 1:1 dan dilakukan 2-3 kali partisi. Ekstrak yang terlarut dalam etil asetat diuapkan dalam lemari asam sampai pelarut menguap. Hasil akhir ekstrak setelah penguapan ditimbang bobotnya kemudian disimpan.

3.6.10 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah

Uji aktivitas antibakteri pada percobaan kali ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Langkah kerja yang akan dilakukan dalam percobaan ini adalah sebagai berikut :

a. Peremajaan biakan bakteri

Biakan murni dari bakteri *S. aureus* diremajakan pada media MHA. Bakteri diambil dengan menggunakan ose dan digores pada media MHA secara aseptis. Kemudian *petri dishes* yang berisi bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Pembuatan Standar Mc Farland 0,5

Mc Farland 0,5 dibuat dengan mencampurkan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL dengan 9,95 mL H₂SO₄. Kemudian campuran divotex sampai homogen. Setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 625 nm hingga tercapai absorbansi dalam rentang 0,08 – 0,13.

c. Pembuatan biakan aktif

Bakteri *S. aureus* hasil dari peremajaan disuspensikan dalam 10 mL NaCl steril dengan mengambil 2x ose bakteri kemudian divortex. Kekeruhan dari suspensi bakteri diukur dengan menentukan absorbansinya dan dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5 yang telah dibuat menggunakan spektrofotometer UV Vis hingga absorbansi mencapai rentang 0,08–0,13. Kekeruhan pada absorbansi ini menunjukkan suspensi mengandung 1×10^8 CFU/mL koloni bakteri. (CLSI, 2012). Suspensi bakteri yang dihasilkan kemudian dipipet sebanyak 100 μ L lalu diratakan pada media MHA dengan menggunakan *spreader*.

d. Pembuatan larutan Kontrol

1) Kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan dalam percobaan kali ini adalah cakram gentamisin dengan konsentrasi kadar 10 μ g.

2) Kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan dalam percobaan kali ini adalah DMSO 10%.

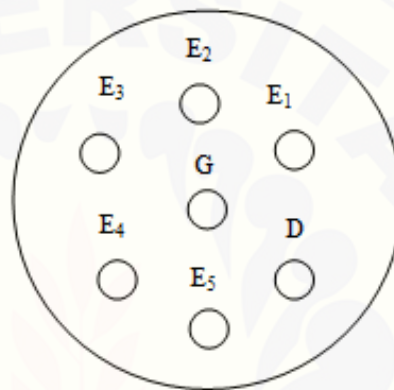
e. Pembuatan larutan uji

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara membuat larutan ekstrak dalam seri konsentrasi ekstrak antara 1000, 2000, 4000, dan 6000 dan 8000 μ g/ml dalam larutan DMSO 10%.

f. Uji Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

Uji antibakteri dengan metode difusi cakram ini dilakukan pada ekstrak dengan seri konsentrasi yang berbeda. Suspensi dari bakteri *S.aureus* dituang dalam media MHA yang padat dan diratakan menggunakan *spreader*. Cakram steril dengan diameter 6 mm direndam dalam 10 μ L larutan ekstrak pada masing-masing

konsentrasi selama 24 jam. Setelah cakram direndam dalam ekstrak serta kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan diatas media MHA yang berisi bakteri dan direplikasi sebanyak 3 kali. Kemudian media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Jika terdapat zona bening ini berarti terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak. Zona bening yang muncul diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Berikut adalah gambaran petri yang digunakan terdapat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Desain Uji Antibakteri

Keterangan :

G : Gentamisin 10 µg

D : DMSO 10%

E 1-5 : Seri konsentrasi larutan ekstrak

3.6.11 Analisis Data

Data hasil percobaan uji aktivitas antibakteri adalah nilai besar diameter zona hambat ekstrak etil asetat fungi tanah terhadap bakteri *S.aureus*. Nilai tersebut dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*. Analisis data menggunakan *ANOVA* ini dapat digunakan apabila data yang didapatkan normal dan homogen. Uji *One Way ANOVA* ini dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Setelah itu dilakukan uji *LSD (Least Significant Difference)* untuk dapat mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna. Hasil analisis dikatakan memiliki perbedaan bermakna jika nilai $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Uji

kruskal Wallis dengan perbedaan signifikan $<0,05$. Uji ini dapat dilakukan ketika data yang didapat tidak dapat dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*. Untuk menentukan fungi dengan potensi terbaik sebagai agen antibakteri didasarkan pada besarnya zona hambat yang muncul pada masing-masing isolat fungi tanah tersebut. Isolat dengan zona hambat terbesar dengan konsentrasi ekstrak paling kecil dapat disimpulkan sebagai agen antibakteri yang paling potensial.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Fungi tanah IS-STB-III-5 memiliki aktivitas antibakteri pada uji kontak terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan pada ekstrak hasil fermentasi fungi tanah juga memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri uji.
2. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh fungi tanah IS-STB-III-5 bervariasi. Zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 1000 µg/mL sebesar 7,55 mm, zona hambat pada konsentrasi 2000 µg/mL sebesar 7,99 mm, zona hambat pada konsentrasi 4000µg/mL 9,11 mm, zona hambat pada konsentrasi 6000 µg/mL sebesar 10,17 mm, dan zona hambat pada konsentrasi 8000 µg/mL sebesar 11,00 mm.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode uji mikodilusi untuk mengetahui MIC dari ekstrak fungi tanah dalam menghambat bakteri *S. aureus*.
2. Perlu dilakukan isolasi untuk memperoleh isolat senyawa murni yang bertanggung jawab dalam aktivitas antibakteri ekstrak fungi tanah IS-STB-III-5.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldrich. 2014. Product information. (C)
- Alkhulaifi, M. M., A. S. Awaad, H. A. AL-Mudhayyif, M. R. Alothman, S. I. Alqasoumi, dan S. M. Zain. 2019. Evaluation of antimicrobial activity of secondary metabolites of fungi isolated from sultanate oman soil. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 27(3):401–405.
- Anwar, S., L. R. Prince, S. J. Foster, M. K. B. Whyte, dan I. Sabroe. 2009. The rise and rise of staphylococcus aureus: laughing in the face of granulocytes. *Clinical and Experimental Immunology*. 157(2):216–224.
- Bibi, Y., S. Nisa, F. M. Chaudhary, dan M. Zia. 2011. Antibacterial activity of some selected medicinal plants of pakistan. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11
- Bonev, B. dan J. Hooper. 2008. Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. (March):1295–1301.
- Davis, W. W. dan T. R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. ii. novel procedure offering improved accuracy. *Applied Microbiology*. 22(4):666–670.
- Drews, J. dan J. Drews. 2009. Drug discovery: a historical perspective. *Science*. 287 (5460):1960–1964.
- Fierer, N., A. S. Grandy, J. Six, dan E. A. Paul. 2009. Soil biology & biochemistry searching for unifying principles in soil ecology. *Soil Biology and Biochemistry*. 41(11):2249–2256.
- Heyd, B., D. Pekthong, H. Martin, C. Abadie, A. Bonet, G. Manton, dan L. Richert. 2007. Differential inhibition of rat and human hepatic cytochrome p450 by andrographis paniculata extract and andrographolide. *Journal of Ethnopharmacology*. 115(3):432–440.
- Irving, W. dan D. Ala'adeen. 2006. *Medical Microbiology*
- ITIS Global dan T. Orrell. 2017. *ITIS Global: The Integrated Taxonomic Information System (Version Apr 2016)*
- Jawetz, Melnick, & A. 2004. *Medical Microbiology*. Edisi 22th. New york: Mc Graw Hill
- Johnston, H. H. 2010. The ecology of soil fungi. *Soil Science Society of America Journal*. 25(1):vi.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpore, J., Traore, A. S. (2005). Antibacterial Activity of Alkaloids From *Sida Acuta*. *African Journal of Biotechnology*, 4(12), 195-200.
- Kuswandi. 2011. Resistensi bakteri terhadap antibiotika kian meningkat.

Universitas Gadjah Mada

- Gonzalez-Lamothe, Rocio, Mitchell Gabriel, Gattuso Mariza. 2009. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *Internasioal Journal of Molecular Sciences*. 10, 3400-3419.
- Lee Taylor, D. dan R. L. Sinsabaugh. 2014. *The Soil Fungi*. Edisi 4. Elsevier Inc. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*.
- Lisa. 2006. Adln perpustakaan universitas airlangga skripsi uji aktivitas in vitro levofloksasin ... lisa nathalie
- Luc, M. 2015. A comparison of disc diffusion and microbroth dilution methods for the detection of antibiotic resistant subpopulations in gram negative bacilli. (March):51.
- Merck. 2006. Potato dextrose agar. 12:1–2.
- Nanjwade, B. K., S. Chandrashekhara, P. S. Goudanavar, A. M. Shamarez, dan F. V. Manvi. 2010. Production of antibiotics from soil-isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 9(4):373–377.
- Oktaviantris, F. . 2007. Deteksi bakteri staphylococcus aureus pada susu bubuk skim (skim milk powder) impor. 2.
- Oliveira, D. C., A. Tomasz, dan H. de Lencastre. 2002. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of meticillin-resistant staphylococcus aureus. *The Lancet Infectious Diseases*. 2(3):180–189.
- Paul, E. A. 2015. *Soil Microbiology , Ecology , and Biochemistry Edited by*
- Pradesh, U. 2010. *Soil Biology Series Editor Ajit Varma , Amity Institute of Microbial Sciences ,*
- Pumphrey, B. dan C. Julien. 1996. Fermentation basics. *An Introduction to Fermentation*. (May):1–24.
- Raja, M., G. Praveena, dan S. J. William. 2017. Isolation and identification of fungi from soil in loyola college campus, chennai, india. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(2):1789–1795.
- RISKESDAS. 2013. Hasil riset kesehatan dasar kementerian ri 2013. *Proceedings, Annual Meeting - Air Pollution Control Association*. 6
- Stephen P. Denyer, Norman Hodges, Sean P. Gorman, B. F. G. 2011. *Pharmaceutical Microbiology*. Edisi 8th. Wiley-Blackwell.
- Taylor, T. A. dan C. G. Unakal. 2018. *Staphylococcus Aureus*. StatPearls Publishing. *StatPearls*.
- Utami, E. R. 2002. 124 antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. 124–138.

- Utami, E. R. 2017. Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Sainstis*. 1(4):191–198.
- Wahjono, H. 2007. Peran mikrobiologi klinik pada penanganan penyakit infeksi. *Badan Penerbit Universitas Diponegoro Semarang*. 24.
- WHO. 2015. World Health Statistic 2015. *World Health Organization*
- World Health Organisation. 2016. Monitoring health for the sdgs. *World Health Statistics*. 1.121.
- Zhang, Y., A. H. Overview, dan T. B. Characteristics. 1943. Mechanisms of antibiotic resistance in the microbial world
- Zhu, F., C. Qin, L. Tao, X. Liu, Z. Shi, X. Ma, J. Jia, Y. Tan, C. Cui, J. Lin, C. Tan, Y. Jiang, dan Y. Chen. 2011. Clustered patterns of species origins of nature-derived drugs and clues for future bioprospecting. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(31):12943–12948.
- Zulkifli, L., D. Soelistya, dan D. Jekti. 2016. Isolasi bakteri endofit dari sea grass yang tumbuh di kawasan pantai pulau lombok dan potensinya sebagai sumber antimokroba terhadap bakteri patogen 1). 16(2):80–93.

LAMPIRAN**Lampiran 4.1 Perhitungan Pembuatan Media****1. Pembuatan Media PDA**

Pembuatan media PDA dibuat dalam 100 mL aquadest. Dalam pembuatan 39 gram media dibutuhkan 1 L aquadest.

$$\frac{39 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$3,9 \text{ gram} = x$$

Berat media yang digunakan untuk 100 mL aquadest adalah 3,9 gram.

Penambahan NaCl dilakukan dengan konsentrasi akhir dalam media 1% , 2% , 3%.

➤ PDA NaCl 1%

$$1\% = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$1 \text{ gram} = x$$

➤ PDA NaCl 2%

$$2\% = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$2 \text{ gram} = x$$

➤ PDA NaCl 3%

$$3\% = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$3 \text{ gram} = x$$

2. Pembuatan Media PDB

Pembuatan media PDB dibuat dalam 150 mL aquadest. Dalam pembuatan 24 gram media dibutuhkan 1 L aquadest.

$$\frac{24 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x}{150 \text{ mL}}$$

$$3,6 \text{ gram} = x$$

Berat media yang digunakan untuk 150 mL aquadest adalah 3,6 gram.

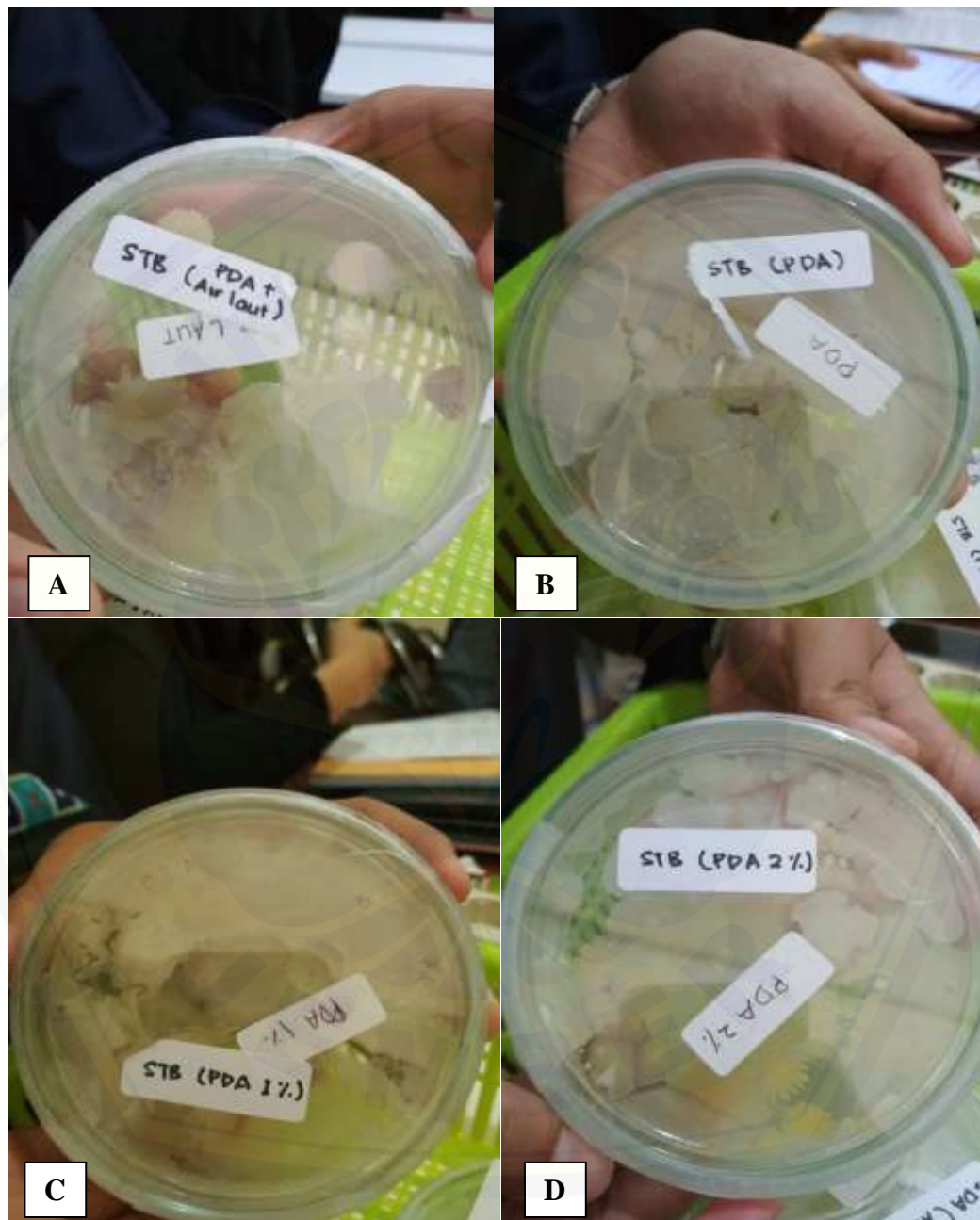
3. Pembuatan Media MHA

Pembuatan media MHA dibuat dalam 100 mL aquadest. Dalam pembuatan 34 gram media dibutuhkan 1 L aquadest.

$$\frac{34 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$3,4 \text{ gram} = x$$

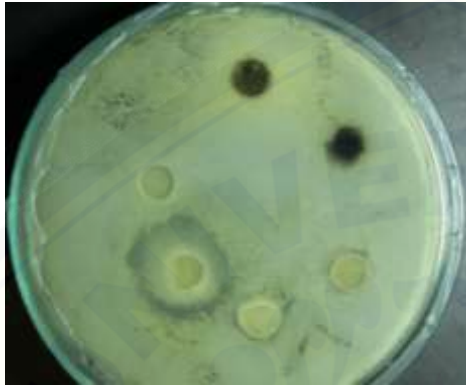
Berat media yang digunakan untuk 100 mL aquadest adalah 3,4 gram.

Lampiran 4.2 Hasil Optimasi Media Pertumbuhan Fungi Tanah

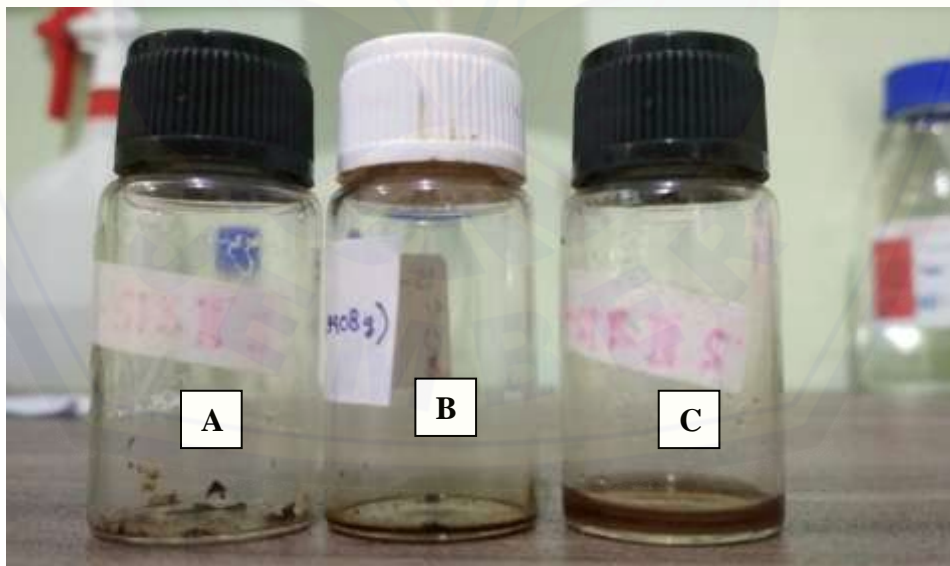
Gambar A) Media PDA Air Laut; Gambar B) Media PDA; Gambar C) Media PDA+ NaCl 1%; Gambar D) Media PDA+ NaCl 2%

Lampiran 4.3 Hasil Skrining Fungi Tanah Potensial

Skrining dengan cara mengontakkan langsung fungi dengan bakteri *S. aureus* dan kemudian dihasilkan zona hambat yang menunjukkan bahwa fungi tersebut memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.



Lampiran 4.4 Perhitungan Berat Ekstrak



Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali dengan hasil berat ekstrak yang berbeda-beda. Hasil berat ekstrak tiap ekstraksi adalah sebagai berikut :

- Ekstrak vial A

Berat botol kosong : 12,458 gram

Berat botol + isi : 13,528 gram

Berat ekstrak : 1,070 gram

- Ekstrak vial B

Berat botol kosong : 12,145 gram

Berat botol + isi : 13,223 gram

Berat ekstrak : 1,078 gram

- Ekstrak vial C

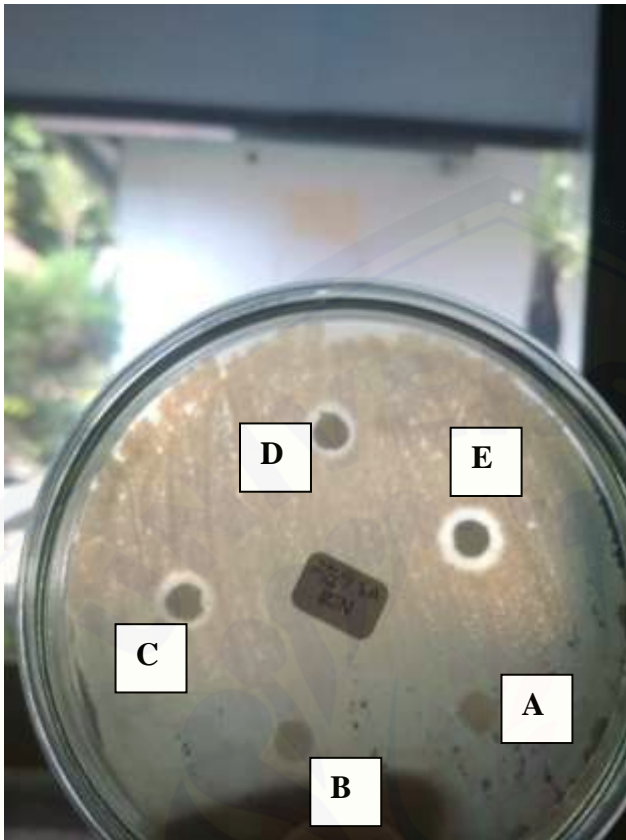
Berat botol kosong : 12,335 gram

Berat botol + isi : 13,628 gram

Berat ekstrak : 1,293 gram

Berat rata rata ekstrak yang dihasilkan setiap ekstraksi adalah 1,147 gram

Lampiran 4.4 Hasil Optimasi Konsentrasi Larutan Uji



Keterangan :

- A) Konsentrasi 250 ppm
- B) Konsentrasi 500 ppm
- C) Konsentrasi 1000 ppm
- D) Konsentrasi 2000 ppm
- E) Konsentrasi 4000 ppm

Dari hasil optimasi didapatkan hasil bahwa dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etil asetat IS-STB-III-5 mulai memberikan hambatan dalam pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Lampiran 4.5 Perhitungan Larutan Konsentrasi Uji

Larutan uji dibuat dalam 5 konsentrasi yaitu 1000 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$, 4000 $\mu\text{g/mL}$, 6000 $\mu\text{g/mL}$, dan 8000 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak ditimbang dengan berat tertentu dan dilarutkan dalam DMSO 10%.

➤ Larutan Uji 8000 $\mu\text{g/mL}$

Menimbang 8 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 1000 mL DMSO 10%.

$$\frac{8 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} \times 1000 = 8000 \mu\text{g/mL} \text{ (Digunakan sebagai larutan induk dan larutan uji)}$$

- Larutan Uji 6000 µg/mL

$$6000 \text{ µg/mL} \cdot 250 \text{ µL} = 8000 \text{ µg/mL} \cdot x$$

$$x = 187,5 \text{ µL}$$

$$\text{Penambahan DMSO 10 \%} = 250 \text{ µL} - 187,5 \text{ µL} = 62,5 \text{ µL}$$

- Larutan Uji 4000 µg/mL

$$4000 \text{ µg/mL} \cdot 250 \text{ µL} = 8000 \text{ µg/mL} \cdot x$$

$$x = 125 \text{ µL}$$

$$\text{Penambahan DMSO 10 \%} = 250 \text{ µL} - 125 \text{ µL} = 125 \text{ µL}$$

- Larutan Uji 2000 µg/mL

$$2000 \text{ µg/mL} \cdot 250 \text{ µL} = 8000 \text{ µg/mL} \cdot x$$

$$x = 62,5 \text{ µL}$$

$$\text{Penambahan DMSO 10 \%} = 250 \text{ µL} - 62,5 \text{ µL} = 187,5 \text{ µL}$$

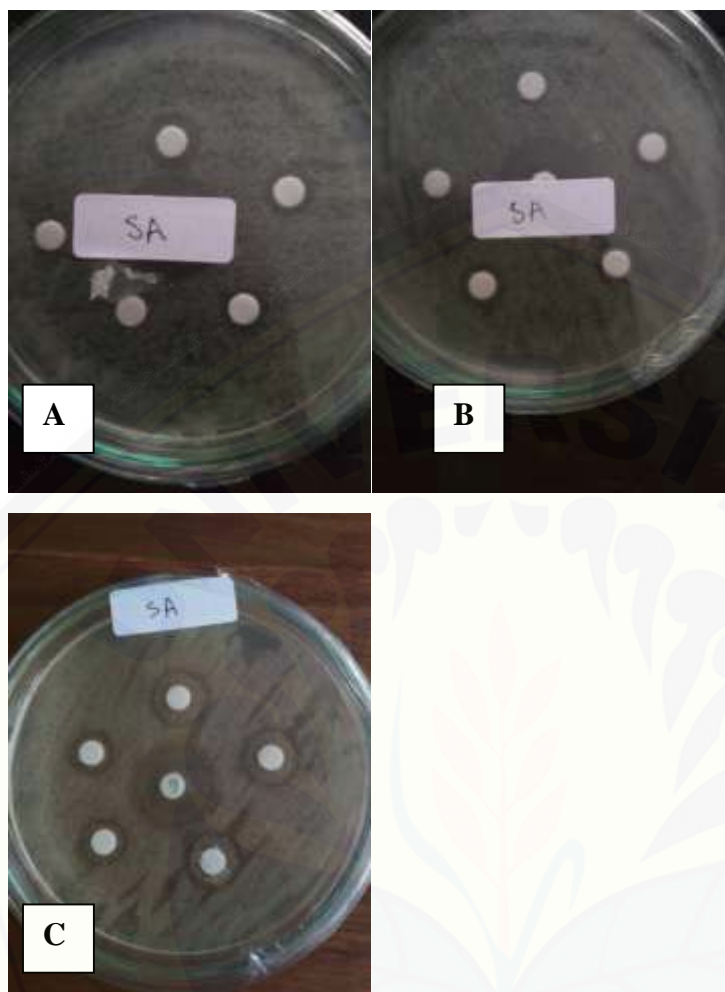
- Larutan Uji 1000 µg/mL

$$1000 \text{ µg/mL} \cdot 250 \text{ µL} = 8000 \text{ µg/mL} \cdot x$$

$$x = 31,25 \text{ µL}$$

$$\text{Penambahan DMSO 10 \%} = 250 \text{ µL} - 31,25 \text{ µL} = 218,75 \text{ µL}$$

Lampiran 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar A) Replikasi 1; Gambar B) Replikasi 2; Gambar C) Replikasi 3
 Hasil Diameter Zona Hambat

- Replikasi 1

	1000 $\mu\text{g/mL}$	2000 $\mu\text{g/mL}$	4000 $\mu\text{g/mL}$	6000 $\mu\text{g/mL}$	8000 $\mu\text{g/mL}$	K+
1	6,50	6,60	7,63	8,90	9,35	20,91
2	6,53	6,58	7,70	8,88	9,28	20,94
3	6,50	6,60	7,85	8,83	9,30	20,92
Rata-rata	6,51	6,59	7,73	8,88	9,31	20,93

- Replikasi 2

	1000	2000	4000	6000	8000	K+
	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	
1	7,20	7,45	8,35	9,30	9,80	20,98
2	7,18	7,50	8,35	9,33	9,95	20,98
3	7,20	7,50	8,28	9,30	11,13	21,00
Rata-rata	7,19	7,48	8,33	9,31	10,29	20,99

- Replikasi 3

	1000	2000	4000	6000	8000	K+
	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	
1	8,95	9,45	11,25	12,30	13,40	20,02
2	8,98	9,75	11,28	12,35	13,43	20,02
3	9,30	11,11	11,31	12,30	13,40	20,01
Rata-rata	8,96	9,89	11,28	12,32	13,41	21,02

Hasil Rata – rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat IS-STB-

III-5

	1000	2000	4000	6000	8000	K+
	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	
R1	6,51	6,59	7,73	8,88	9,31	20,93
R2	7,19	7,48	8,33	9,31	10,29	20,99
R3	8,96	9,89	11,28	12,32	13,41	21,02
Rata-rata	7,55	7,99	9,11	10,17	11	20,96
SD	1,26	1,71	1,9	1,87	2,14	0,05
CV	16,69%	21,40%	20,85%	18,39%	19,45%	0,24%

Perhitungan SD dan CV

- Konsentrasi 1000 µg/mL

$$SD = 1,26$$

$$CV = \frac{1,26}{7,55} \times 100\% \\ = 16,69 \%$$

- Konsentrasi 2000 µg/mL

$$SD = 1,71$$

$$CV = \frac{1,71}{7,99} \times 100\% \\ = 21,4 \%$$

- Konsentrasi 4000 µg/mL

$$SD = 1,9$$

$$CV = \frac{1,9}{9,11} \times 100\% \\ = 20,85 \%$$

- Konsentrasi 6000 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{SD} = 1,87$$

$$\text{CV} = \frac{1,87}{10,17} \times 100\%$$

$$= 18,39 \%$$

- Konsentrasi 8000 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{SD} = 2,14$$

$$\text{CV} = \frac{2,14}{11} \times 100\%$$

$$= 19,45 \%$$

- Kontrol Positif

$$\text{SD} = 0,05$$

$$\text{CV} = \frac{0,05}{20,96} \times 100\%$$

$$= 0,24$$

Lampiran 4.7 Analisis Data Statistik

4.7.1 Uji Normalitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tests of Normality							
	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zonahambat	1000 µg/mL	,280	3	.	,938	3	,520
	2000 µg/mL	,283	3	.	,934	3	,504
	4000 µg/mL	,327	3	.	,873	3	,303
	6000 µg/mL	,343	3	.	,842	3	,220
	8000 µg/mL	,297	3	.	,917	3	,441

a. Lilliefors Significance Correction

4.7.2 Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi Tanah terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Test of Homogeneity of Variances

zonahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,398	4	10	,806

4.7.3 Uji *One-Way Anova*

ANOVA

ZonaHambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	985,918	5	197,184	36933,435	,000
Within Groups	,064	12	,005		
Total	985,982	17			

4.7.4 Uji LSD untuk melihat perbedaan signifikan dari zona hambat ekstrak etil asetat fungi tanah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zonahambat

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1000 µg/mL	2000 µg/mL	-,43333	1,47072	,774	-3,7103	2,8436
	4000 µg/mL	-1,56000	1,47072	,314	-4,8370	1,7170
	6000 µg/mL	-2,61667	1,47072	,106	-5,8936	,6603
	8000 µg/mL	-3,45000*	1,47072	,041	-6,7270	-,1730
2000 µg/mL	1000 µg/mL	,43333	1,47072	,774	-2,8436	3,7103
	4000 µg/mL	-1,12667	1,47072	,461	-4,4036	2,1503
	6000 µg/mL	-2,18333	1,47072	,168	-5,4603	1,0936
	8000 µg/mL	-3,01667	1,47072	,067	-6,2936	,2603
4000 µg/mL	1000 µg/mL	1,56000	1,47072	,314	-1,7170	4,8370
	2000 µg/mL	1,12667	1,47072	,461	-2,1503	4,4036
	6000 µg/mL	-1,05667	1,47072	,489	-4,3336	2,2203
	8000 µg/mL	-1,89000	1,47072	,228	-5,1670	1,3870
6000 µg/mL	1000 µg/mL	2,61667	1,47072	,106	-,6603	5,8936
	2000 µg/mL	2,18333	1,47072	,168	-1,0936	5,4603
	4000 µg/mL	1,05667	1,47072	,489	-2,2203	4,3336
	8000 µg/mL	-,83333	1,47072	,583	-4,1103	2,4436
8000 µg/mL	1000 µg/mL	3,45000*	1,47072	,041	,1730	6,7270
	2000 µg/mL	3,01667	1,47072	,067	-,2603	6,2936
	4000 µg/mL	1,89000	1,47072	,228	-1,3870	5,1670
	6000 µg/mL	,83333	1,47072	,583	-2,4436	4,1103

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.