

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

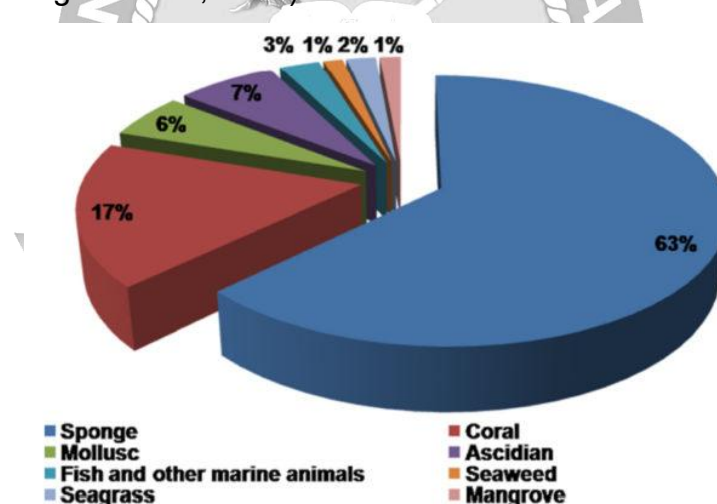
2.1 Landasan Teori

2.1.1 Actinomycetes

Actinomycetes umumnya dikenal sebagai bakteri Gram positif berfilamen dalam ordo Actinomycetales (Barka et al., 2016). Actinomycetes memiliki karakteristik seperti tepung (*powdery*) yang mengandung filamen miselium seperti fungi (Wati et al., 2023). Bakteri ini bersifat aerob dengan kandungan guanin dan sitosin yang tinggi dalam DNA (Rajivgandhi et al., 2024). Anggota Actinomycetes memiliki morfologi, fisiologi, dan kemampuan metabolisme yang beragam. Actinomycetes bersifat saprofit di alam yang memainkan peran penting dalam degradasi organik (Jose & Jebakumar, 2013; Meenakshi et al., 2024). Actinomycetes memiliki kemampuan untuk mentoleransi kondisi nutrisi rendah dan membentuk spora sehingga bakteri ini dapat bertahan di ekosistem yang ekstrim (Jagannathan et al., 2021). Actinomycetes dapat tumbuh optimal di suhu rentang 28-37 °C, tetapi beberapa dapat tumbuh pada suhu yang lebih tinggi hingga 40 °C (Mondal & Thomas, 2022). Actinomycetes memiliki habitat yang luas termasuk di tanah, pupuk, ladang rumput, tumbuhan serangga, dan lingkungan perairan seperti laut. Anggota Actinomycetes termasuk penghuni tanah atau lingkungan perairan (misalnya spesies *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Rhodococcus*, dan *Salinispora*); simbiosis tumbuhan (misalnya *Frankia* spp.); dan patogen serangga, tumbuhan, atau hewan (misalnya, spesies *Corynebacterium*, *Mycobacterium* atau *Nocardia*) (Kumar et al., 2021)

Habitat laut yang berupa air asin dengan kandungan garam rendah hingga tinggi bisa menjadi tempat untuk Actinomycetes hidup. Actinomycetes laut sering hidup berasosiasi dengan berbagai macam organisme akuatik, seperti spons, karang, enchinodermata, serta vertebrata (Gambar 2.1). Actinomycetes laut yang dapat berkembang biak di

ekosistem laut sebelumnya sudah mengalami evolusi dan mampu beradaptasi dalam keadaan lingkungan dengan pH yang berbeda, tekanan tinggi, kondisi asam tinggi, serta variasi suhu hingga 8-100°C (Meenakshi et al., 2024). Anggota actinomycetes seperti *Dietzia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Salinispora*, *Marinophilus*, *Solwaraspora*, *Salinibakterium*, *Aeromicrobium marinum*, *Williamsiamaris*, dan *Verrucosispora* menjadi yang paling umum untuk dieksplorasi (Ranjani et al., 2016). Actinomycetes laut menghasilkan metabolit sekunder yang dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya seperti, alkaloid, *peptides*, *polyketides*, *caprolactones*, *butanolides*, *polycyclic xanthenes*, *trioxacarcins*, dan lainnya (Ngamcharungchit et al., 2023).



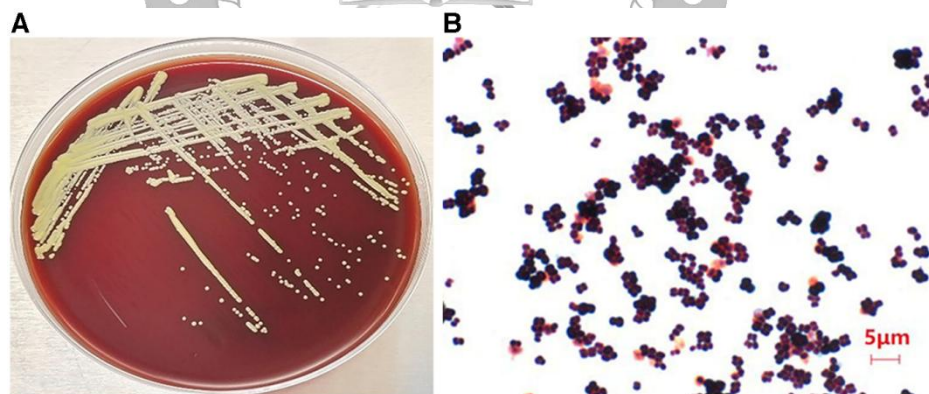
Gambar 2.1 Persentase Distribusi Inang dari Actinomycetes Laut Berdasarkan Rangkaian Gen 16s rRNA

Sumber: Meenakshi et al. (2024), Poli et al. (2017)

2.1.2 *Micrococcus*

Micrococcus merupakan genus dari Actinomycetes yang tidak membentuk spora. Bakteri dari famili *Micrococcaceae* ini dapat ditemukan di berbagai lingkungan, seperti lingkungan terestrial, perairan, dan lingkungan laut (Tizabi & Hill, 2023). *Micrococcus* spp. umumnya berasosiasi dengan mikrobiota di kulit manusia, serta dapat diisolasi dari

invertebrata laut, termasuk spons dan karang (Wang et al., 2021). *Micrococcus* spp. memiliki kemampuan metabolisme yang beragam dan dikenal sebagai produsen prospektif dari enzim dan metabolit untuk kepentingan industri dan bioteknologi (Bagewadi et al., 2023; Gupta et al., 2023; Sumarsih et al., 2019). *Micrococcus* bersifat aerob, yang artinya mikroorganisme ini membutuhkan oksigen untuk tumbuh. Bakteri ini melakukan respirasi aerobik untuk mengoksidasi karbohidrat, menghasilkan karbon dioksida, dan air tanpa produksi asam dari glukosa (Purmal et al., 2010). Bakteri genus *Micrococcus* bersifat Gram positif, sel berbentuk kokus tersusun tidak beraturan dalam rantai, dan bersifat non motil (Silalahi et al., 2020). Koloni *Micrococcus* yang ditumbuhkan di media agar terlihat bewarna kekuningan (Majeed, 2017). *Micrococcus* sp. mempunyai susunan klasifikasi sebagai berikut (Schoch et al., 2020).



Gambar 2.2 *Micrococcus* sp. A) di Media *Blood Agar* dan
B) Hasil Pewarnaan *Gram* Perbesaran x100

Sumber: Shi et al. (2023)

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Actinomycetota
Kelas	: Actinomycetes
Ordo	: Micrococcales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Micrococcus</i>
Spesies	: <i>Micrococcus</i> sp.

2.1.3 Aktivitas Antibakteri pada *Micrococcus*

Micrococcus dikenal mampu menghasilkan berbagai senyawa bioaktif, termasuk pigmen yang memiliki sifat antibakteri. *Micrococcus* menghasilkan pigmen utama berupa karotenoid seperti sarcinaxanthin, yang memberikan karakteristik warna kuning pada bakteri sekaligus menunjukkan sifat antibakteri. (Mohana et al., 2013; Ram et al., 2020). *Micrococcus* dapat memproduksi pigmen ini bergantung pada beberapa faktor seperti, paparan cahaya dan ketersediaan nutrisi, yang dapat meningkatkan biosintesis serta aktivitas antibakteri (Mohana et al., 2013).

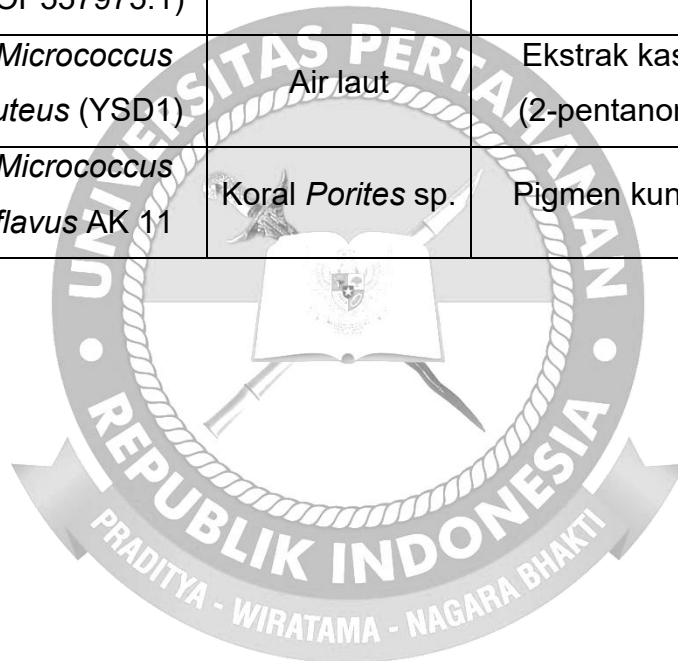
Micrococcus spp. terutama yang berasal dari laut menunjukkan potensi sebagai sumber penghasil senyawa antibakteri (Tabel 2.1). *Micrococcus* dapat menghasilkan metabolit sekunder yang tidak hanya bermanfaat untuk antibakteri tetapi juga antijamur dan sitotoksik (Tizabi & Hill, 2023). *Micrococcus* menghasilkan senyawa antibakteri yang dapat mengganggu permeabilitas membran sel target dan menyebabkan kebocoran intraseluler sehingga mengakibatkan kematian sel, mekanisme ini membuat *Micrococcus* efektif melawan sejumlah bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Mohana et al., 2013).

Tabel 2.1 *Micrococcus* spp. Penghasil Senyawa Antibakteri

No	Strain	Lokasi Pengambilan Sampel	Sumber Aktivitas Antibakteri	Referensi
1	<i>Micrococcus luteus</i>	Spons laut	2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenylether	Bultel-Poncé et al., 1998
2	<i>Micrococcus</i> sp. SB58 (AF218240.1)	Spons laut <i>Aplysina aerophoba</i>	Koloni bakteri	Hentschel et al., 2001
3	<i>Micrococcus luteus</i> Otnes7	Air laut	Sarcinaxanthin	Netzer et al., 2010
4	<i>Micrococcus luteus</i> KF532949	Air laut	Ekstrak pigmen	Umadevi & Krishnaveni, 2013
5	<i>Micrococcus yunnanensis</i> F-256 446	Spons laut	Kocurin	Palomo et al., 2013
6	<i>Micrococcus</i> sp. EG45	Spons laut <i>Spheciospongia vagabunda</i>	Mikrolusida A [4 (19-para-hydroxy benzoyloxy-O- β -d-cellobiosyl), 5 (30-para-hydroxy benzoyloxy-O- β -d-glucopyranosyl] (xanthone)	Eltamany et al., 2014
7	<i>Micrococcus luteus</i> MB-26	Spons laut <i>Xestospongia testudinaria</i>	Alkaloid dan steroid/triterpenoid	Cita et al., 2017
8	<i>Micrococcus luteus</i> MRN01	Lambung kapal	Ekstrak polisakarida	Nisha et al., 2020

No	Strain	Lokasi Pengambilan Sampel	Sumber Aktivitas Antibakteri	Referensi
9	<i>Micrococcus</i> strain Berg02_11	Spons laut <i>Erylus discophorus</i>	Ekstrak bakteri	Santos et al., 2019
10	<i>Micrococcus</i> sp. MP76 (KT804695.1)	Air laut	Ekstrak pigmen (spekulasi aminoglikosida)	Karbalaei-Heidari et al., 2020
11	<i>Micrococcus</i> sp. Strain RBYA34	Spons laut	Koloni bakteri dan ekstrak kasar	Anteneh et al., 2021
12	<i>Micrococcus</i> sp. strain KRD026 (MT136106.1) <i>Micrococcus</i> sp. strain KRD070 (MT135986.1) <i>Micrococcus</i> sp. strain KRD077 (MT135795.1) <i>Micrococcus</i> sp. strain KRD096 (MT136510.1) <i>Micrococcus</i> sp. strain	Sedimen laut	Koloni dan ekstrak bakteri	Soldatou et al., 2021

No	Strain	Lokasi Pengambilan Sampel	Sumber Aktivitas Antibakteri	Referensi
	KRD153 (MT135519.1)			
13	<i>Micrococcus</i> sp. strain XM4230A (OP557975.1)	Spons laut <i>Xestospongia</i> <i>muta</i>	Ekstrak kasar	Tizabi et al., 2022
14	<i>Micrococcus</i> <i>luteus</i> (YSD1)	Air laut	Ekstrak kasar (2-pentanone)	Dugyala et al., 2024
15	<i>Micrococcus</i> <i>flavus</i> AK 11	Koral <i>Porites</i> sp.	Pigmen kuning	Prastiyanto et al., 2024



2.1.4 Pendekatan OSMAC untuk Optimasi Produksi Metabolit

Mikroorganisme dapat menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki beragam aktivitas biologis (Wei et al., 2010). Metabolit sekunder yang dihasilkan berperan penting dalam penemuan dan pengembangan obat baru. Metabolit sekunder ini disintesis oleh gen pengkode yang disebut *Biosynthetic Gene Clusters* (BGCs) dan ekspresinya dipengaruhi oleh fase pertumbuhan dan diferensiasi sel (Schwarz et al., 2021). Strategi *One Strain Many Active Compound* (OSMAC) menjadi pendekatan yang digunakan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder di mikroorganisme dengan cara mengubah kondisi pertumbuhan (Pan et al., 2019). Pendekatan OSMAC dilakukan dengan cara mengubah kandungan nutrisi, parameter fisik, contohnya suhu, dan keadaan media pertumbuhan lainnya (Romano et al., 2018). Faktor kritis berupa pemilihan kultur media dan periode inkubasi termasuk dalam metode pendekatan OSMAC untuk biosintesis metabolit sekunder (Harwoko et al., 2024). Variasi media adalah strategi yang sederhana, namun secara langsung mempengaruhi metabolisme mikroorganisme (Ngamcharungchit et al., 2023). Mikroorganisme menyesuaikan perubahan metabolisme dengan mengekspresikan BGCs spesifik sehingga dapat menghasilkan metabolit spesifik yang beragam (Ma et al., 2009).

Kultur media berperan penting dalam ketersediaan nutrisi dan mempengaruhi reaksi biokimia pada mikroorganisme. Sumber karbon, ion logam, dan salinitas kultur media akan mendukung regulasi ekspresi BGCs untuk memproduksi metabolit sekunder yang beragam (Silalahi et al., 2020). Penelitian dengan pendekatan OSMAC dapat sukses jika berkontribusi beberapa parameter seperti kultivasi, kondisi, komposisi media, tambahan enzim inhibitor, dan biosintesis prekursor (Pan et al., 2019). Kondisi kultivasi contohnya, suhu, pH, dan konsentrasi oksigen merupakan agen yang penting dalam pertumbuhan mikroorganisme dan reaksi kimia serta bisa mengaktifkan gen fungsional yang berbeda untuk BGCs memproduksi metabolit sekunder (Keller, 2019).

Variasi macam media bisa dijadikan sebagai parameter untuk penelitian dengan pendekatan OSMAC. Kultur media bisa dibedakan menjadi berbagai macam, bergantung kebutuhan nutrisi pertumbuhan bakteri (Basu et al., 2015). *Mueller-Hinton* merupakan contoh media standar untuk pengujian antibakteri (Patel et al., 2015). *Mueller-Hinton Broth* mengandung komposisi *beef extract* sebagai sumber protein, pati sebagai sumber energi untuk menyerap racun yang dikeluarkan oleh bakteri (Primadhamanti et al., 2022). Kultur media juga bisa mendukung pertumbuhan bakteri yang biasa hidup di lingkungan tertentu, misalnya bakteri laut. *Marine Broth* merupakan contoh media yang bisa mendukung pertumbuhan bakteri laut. *Marine Broth* mengandung garam dan mineral seperti yang ada di laut serta pepton dan ragi (Giovannoni & Stingl, 2007). *Nutrient Broth* merupakan contoh media umum yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri secara general, mengandung *beef extract* dan pepton sebagai sumber karbon serta nitrogen (Rahmat & Shovitri, 2021). Media pertumbuhan *Starch Yeast Peptone* merupakan contoh jenis media kultur khusus untuk bakteri yang membutuhkan sumber karbohidrat sederhana seperti *starch*. *Yeast Extract* menjadi nutrisi yang meningkatkan pertumbuhan bakteri yang sulit tumbuh, pepton berperan sebagai sumber protein (Wambui & Stephan, 2019). *Mannitol Soya* merupakan contoh media pertumbuhan yang mengandung gula (*Mannitol*) untuk membantu pertumbuhan bakteri yang mampu melakukan fermentasi manitol, soya berperan sebagai sumber nitrogen (Hobbs et al., 1989).

2.1.5 LC-HRMS untuk Analisis Profil Senyawa

Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) merupakan alat bioanalitik yang digunakan untuk menganalisis senyawa bioaktif (Aryal et al., 2021). LC-HRMS merupakan gabungan dari *Liquid Chromatography* (LC) dan *Mass Spectrometry* (MS). *Liquid Chromatography* (LC) adalah metode pemisahan yang kuat dan ampuh karena dapat memecah campuran dari sejumlah senyawa yang sama.

Sampel dalam LC akan dilarutkan dan dipompa melalui kolom yang berisi fase stasioner, kemudian terjadi pemisahan. Sampel akan terpisah berdasarkan sifat fisikokimianya seperti, polaritas dan ukuran. *Mass Spectrometry* (MS) adalah teknik analitik yang memisahkan partikel terionisasi atom, molekul dan gugus berdasarkan rasio muatan terhadap massanya (Murayama et al., 2009). MS memberikan informasi massa molekul dan struktur molekul dengan sensitivitas tinggi (Kumar & Deepali, 2015). Senyawa yang terdeteksi akan divisualisasi sebagai puncak (*peak*) yang memiliki distribusi konsentrasi dalam fase gerak/*mobile* (Erny et al., 2020). LC-HRMS memberikan informasi hasil analisis tentang massa molekul dan struktur senyawa yang berguna untuk identifikasi profil senyawa yang ada di dalam sampel (Aydoğan, 2020).

LC-HRMS telah banyak digunakan dalam berbagai penelitian untuk menganalisis profil senyawa dari sampel atau ekstrak yang berasal dari mikroorganisme dan tanaman karena kemampuannya dalam mendeteksi metabolit sekunder memiliki sifat sensitivitas tinggi, selektivitas baik, dan akurasi yang tepat (Rafi et al., 2023). LC-HRMS memiliki keunggulan lainnya seperti, data yang didapat bisa diproses berdasarkan senyawa target, skrining tersangka, analisis retrospektif, atau non-target skrining (Rochat, 2016). LC-HRMS secara keseluruhan merupakan instrumen teknik analisis yang baik untuk identifikasi profil senyawa secara akurat, tetapi juga mempunyai beberapa kekurangan seperti hasil data analitis yang kompleks sehingga membutuhkan perangkat lunak analisis yang canggih guna interpretasi hasil dan biaya operasional yang tinggi (Aceña et al., 2015).

2.2 Hasil Penelitian Terdahulu

Penelitian terdahulu bertujuan untuk mempertajam analisis dalam pembahasan hasil penelitian. Selain itu, penelitian terdahulu dapat menambah wawasan tentang penelitian yang dilakukan serta menjadi pembanding hasil penelitian dari pihak lain.

Tabel 2.2 Penelitian Terdahulu

No	Referensi	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
1	(Wibowo et al., 2025) "Exploring Marine Invertebrate-Associated Bacteria for Novel Antibiotics: Isolation, Activity Screening, and Potential Bioactive Compounds"	Isolasi bakteri dari invertebrata laut menggunakan 4 macam media. Uji antibakteri dilakukan dengan metode <i>agar plug diffusion</i> . Isolat bakteri diidentifikasi menggunakan 16S rRNA <i>Sanger sequencing</i> . Analisis	Terdapat 19 dari 97 bakteri hasil isolasi yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Hasil identifikasi MS.P.013.2 memiliki similaritas 99,58% dengan <i>Micrococcus luteus</i> . MS.P.013.2 berpotensi aktif melawan	<i>Micrococcus</i> sp. P.013.2 digunakan sebagai sampel penelitian	Uji antibakteri menggunakan <i>agar plug diffusion</i> .

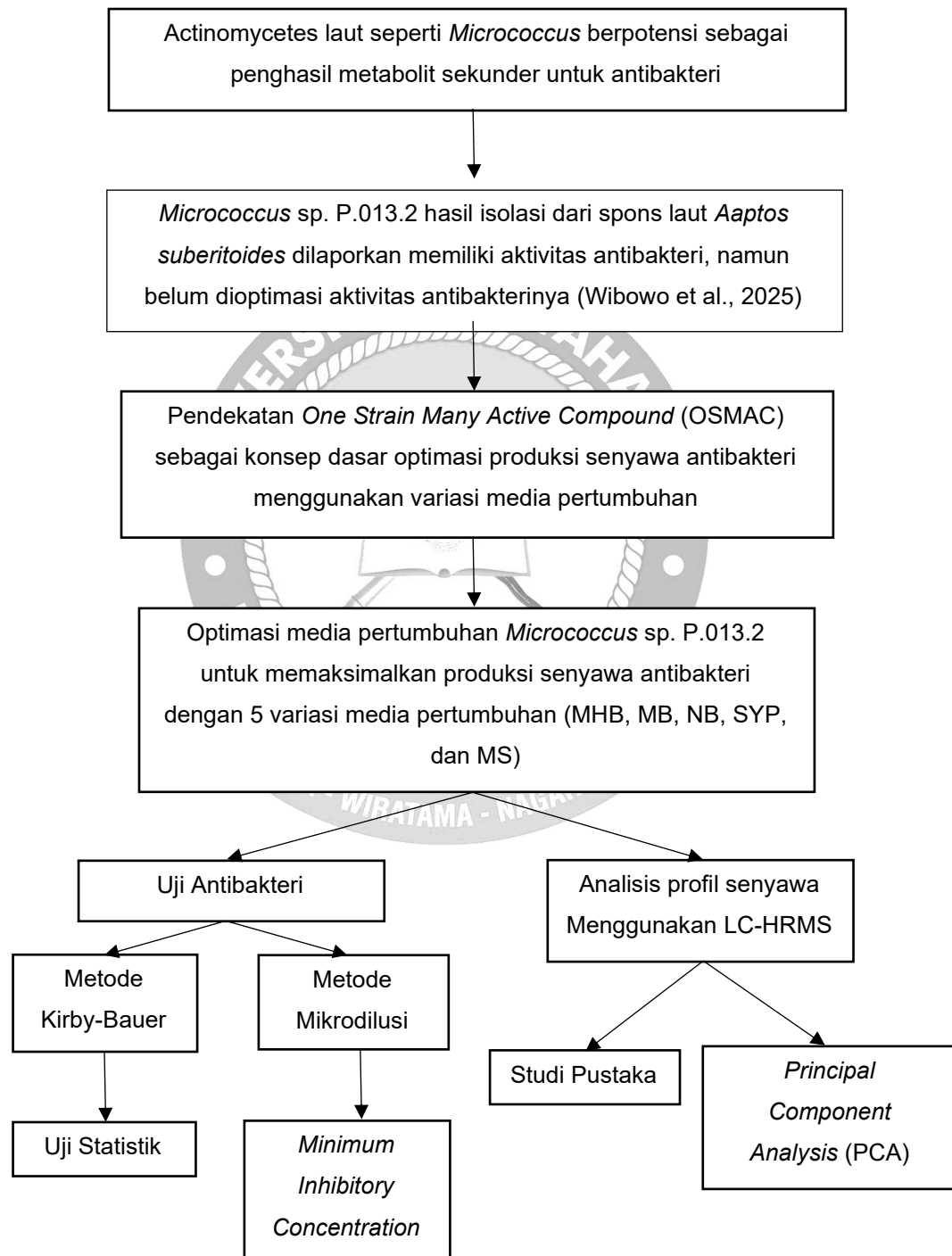
No	Referensi	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
		kimia menggunakan GC-MS.	<i>Mycobacterium smegmatis</i> . Hasil GC-MS mendeteksi ada 19 senyawa di ekstrak MS.P.013.2		
2	Loarer et al. (2023). "OSMAC Method to Assess Impact of Culture Parameters on Metabolomic Diversity and Biological Activity of Marine-Derived Actinobacteria".	Metode OSMAC dengan variasi parameter pertumbuhan untuk produksi metabolit sekunder. Tiga Aktinobakteria laut ditumbuhkan di kultur dengan parameter inkubasi yang berbeda, di kultur cair dan padat.	Durasi dari kultur berpengaruh pada produksi metabolit. Variasi media berpengaruh pada kuantitas produksi metabolit sekunder.	Pendekatan OSMAC untuk melihat pengaruh produksi metabolit sekunder dengan variasi parameter kultur. Bakteri yang digunakan Actinobakteri laut.	Menggunakan kultur padat dan parameter variasi waktu inkubasi.

No	Referensi	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
3	Matobole et al. (2017). “Antibacterial Activities of Bacteria Isolated from the Marine Sponges <i>Isodictya compressa</i> and <i>Higginsia bidentifera</i> Collected from Algoa Bay, South Africa”.	Mengisolasi bakteri dari spons laut dan menumbuhkan di kultur dengan 33 kondisi pertumbuhan yang berbeda. Optimasi didukung dengan pendekatan <i>One Strain Many Compound</i> (OSMAC).	Terdapat 35 dari 415 bakteri yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen (<i>M.smegmatis</i> , <i>B.cereus</i> , <i>S.epidermidis</i> , dan <i>Pseudomonas putida</i>), 12 diantaranya memiliki aktivitas antibakteri terhadap <i>E.coli</i> resisten multi-obat.	Mengisolasi bakteri dari spons laut untuk skrining aktivitas antibakteri. Optimasi menggunakan pendekatan OSMAC.	Macam-macam media pertumbuhan dan bakteri patogen uji yang digunakan.
4	Cita et al. (2017). “Antibacterial activity	Menggunakan metode difusi cakram	Ekstrak menunjukkan aktivitas antibakteri	Menggunakan difusi cakram untuk	Bakteri patogen uji yang digunakan.

No	Referensi	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
	of marine bacteria isolated from sponge <i>Xestospongia testudinaria</i> from Sorong, Papua”.	untuk uji antibakteri dari sampel ekstrak bakteri yang diisolasi dari spons <i>Xestospongia testudinaria</i> .	melawan 5 bakteri patogen (<i>S.aureus</i> , <i>E.coli</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>S.typhi</i> dan <i>K.pneumonia</i>).	uji antibakteri. Bakteri yang diuji berasal dari spons laut.	
5	Vijayakumar et al. (2012). “Optimization of Antimicrobial Production by a Marine Actinomycete <i>Streptomyces afghaniensis</i> VPTS3-1 Isolated from Palk Strait,	Menguji aktivitas antibakteri dari <i>Streptomyces afghaniensis</i> VPTS3-1 dengan kondisi pertumbuhan yang berbeda. Optimasi aktivitas antibakteri dengan metode sumuran dan menentukan MIC dari	Keadaan optimal bagi <i>Streptomyces afghaniensis</i> VPTS3-1 untuk aktivitas antibakteri yaitu kultur media starch, pH 7-8, salinitas 4%, sumber nitrogen KNO ₃ , inkubasi 120 jam, suhu 30°C, dan MIC sebanyak 10uL.	Optimasi aktivitas antibakteri dengan berbagai macam media pertumbuhan. Menentukan MIC dari aktivitas antibakteri.	Media pertumbuhan dan bakteri patogen uji yang digunakan. Sampel uji merupakan bakteri dari genus <i>Streptomyces</i> .

No	Referensi	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
	East Coast of India”.	ekstrak <i>Streptomyces afghaniensis</i> VPTS3-1.			
6	Umadevi & Krishnaveni (2013). “Antibacterial Activity of Pigment Produced from <i>Micrococcus luteus</i> KF532949”.	Menginvestigasi aktivitas antibakteri dari pigmen <i>Micrococcus luteus</i> yang berasal dari air laut dengan metode sumuran.	Ekstrak kasar pigmen mampu melawan bakteri patogen <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.	Sampel uji berupa ekstrak dari bakteri laut <i>Micrococcus</i> sp.	Bakteri patogen uji yang digunakan dan metode sumuran.

2.3 Kerangka Berpikir



Gambar 2.3 Kerangka Berpikir