

SKRIPSI

**ISOLASI ACTINOMYCETES KAWASAN KARST
BANTIMURUNG YANG BERPOTENSI SEBAGAI
PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES IN
BANTIMURUNG KARST AREA THAT POTENTIAL
AS PRODUCING ANTIBACTERIAL COMPOUNDS**

Disusun dan diajukan oleh

CAHYA NINGRUM

N011 17 1312



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**ISOLASI ACTINOMYCETES KAWASAN KARST BANTIMURUNG
YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES IN BANTIMURUNG KARST AREA
THAT POTENTIAL AS PRODUCING ANTIBACTERIAL COMPOUNDS**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

CAHYA NINGRUM

N011 17 1312

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

ISOLASI ACTINOMYCETES KAWASAN KARST BANTIMURUNG
YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI


CAHYA NINGRUM


N011 17 1312

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19771125 200212 2 003


Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002

Pada Tanggal, 6 Juni 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI ACTINOMYCETES KAWASAN KARST BANTIMURUNG
YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI

ISOLATION OF ACTINOMYCETES IN BANTIMURUNG KARST AREA
THAT POTENTIAL AS PRODUCING ANTIBACTERIAL COMPOUNDS

Disusun dan diajukan oleh:

CAHYA NINGRUM
N011 17 1312

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 31 Mei 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19771125 200212 2 003



Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002



Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Cahya Ningrum
Nim : N011 17 1312
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Isolasi *Actinomycetes* Kawasan Karst Bantimurung yang Berpotensi
sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 6 Juni 2022

Yang menyatakan,



Cahya Ningrum

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil 'alamiin segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, berupa kesehatan, kekuatan ilmu yang sempurna dan waktu yang begitu berharga sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kesulitan yang dihadapi, dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dukungan dari berbagai pihak. Peneliti banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak baik yang bersifat moral maupun material. Rasa syukur, ucapan terima kasih yang sebesar – besarnya dan penghargaan setinggi - tingginya kepada:

1. Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan ilmu-Nya dalam memberikan bimbingan, arahan dan saran-saran kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini sampai akhir.
2. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. dan Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. selaku penguji yang dengan baik hati memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.

3. Dekan, Wakil Dekan, serta staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan, dan dukungan yang diberikan selama menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Seluruh Laboran Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, yang senantiasa membantu penulis dalam mengerjakan penelitian.
6. Sahabat-sahabat penulis, Asma Aris, Elma Pebryna Putri, Islamiaty Burhanuddin, Putri Alifyani, Fausia Anggraeni, Marwah Salam, Mutmainnah, Fitriana Amin, Nurlina, Nurfadilah, Fahmi Hasbullah, Mey Mulya, Tenri Abeng, dan Azisan untuk setiap dukungan, membantu penulis dan doa yang diberikan kepada penulis.
7. Teman seperjuangan penelitian *Actinomyces*, Yulvani Faulah Guntur dan Nur Hafidah.
8. Teman-teman angkatan "CLOSTRIDIUM" yang telah bersama-sama dengan penulis dari awal dan sama-sama berjuang untuk meraih mimpi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada orang tua penulis yaitu Bapak Mawi dan Ibu Intan yang selalu memberikan

dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih terdapat banyak kesalahan yang tidak disadari oleh penulis. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembangunan dan pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang Farmasi. Aamiin.

Makassar, 6 Juni 2022



Cahya Ningrum

ABSTRAK

Cahya Ningrum. *Isolasi Actinomycetes Kawasan Karst Bantimurung yang Berpotensi sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri.* (dibimbing oleh Herlina Rante dan Nana Juniarti Natsir D).

Ekosistem dengan karakteristik unik dapat menjadi strategi potensial untuk meningkatkan diversifikasi Actinomycetes dalam mencari isolat potensial baru sebagai penghasil senyawa antibakteri. Ekosistem karst—seperti kawasan Karst Bantimurung—memiliki karakteristik unik yang dapat dijadikan sumber isolat Actinomycetes baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat *Actinomycetes* dari tanah yang berada di kawasan karst Bantimurung. Sampel diisolasi dengan metode tuang menggunakan media SNA (Starch Nitrate Agar) dengan waktu inkubasi 7 x 24 jam kemudian isolat diuji antagonis. Isolat aktif diamati secara mikroskopik dan difermentasi dilanjutkan dengan ekstraksi (etil asetat-air 1:1), ekstrak diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi cakram dan skrining fitokimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebanyak 2 isolat *Actinomycetes* telah berhasil diisolasi yang diberi kode C1 dan C2, namun hanya 1 isolat (C2) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) pada uji antagonis. Ekstrak etil asetat memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 10% (11,55 mm) dan terhadap pertumbuhan *E. coli* pada konsentrasi 10% (9,96 mm). Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak mengandung senyawa yang berasal dari golongan Flavonoid dan Alkaloid. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan isolat C2 diduga merupakan genus *Streptomyces*. Dapat disimpulkan bahwa *Actinomycetes* yang diisolasi dari tanah kawasan karst memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri.

Kata kunci : Antibakteri, Karst, *Actinomycetes*

ABSTRACT

Cahya Ningrum. *Isolation Of Actinomycetes In Bantimurung Karst Area That Potential As Producing Antibacterial Compounds*
(supervised by Herlina Rante and Nana Juniarti Natsir D).

An ecosystem with unique characteristics becomes one of the key points to enhance the diversification of *Actinomycetes* when sourcing new antibacterial-compounds-producing isolates. Karst ecosystems—such as the Bantimurung Karst area—possess unique characteristics which benefit the sourcing of new *Actinomycetes* isolates. This study aims to determine the antibacterial activity of *Actinomycetes* isolates from the soil in the Bantimurung karst area. The isolates were collected on the 7th day after grown in SNA (*Starch Nitrate Agar*) media using the pour-plate, then, subjected to antagonist activity assay. The active isolates were observed microscopically and fermented. The extract was collected using liquid-liquid extraction using ethyl acetate-water (1:1) followed by antibacterial activity assay using the disc diffusion method and phytochemical screening using Thin Layer Chromatography (TLC). A total of 2 *Actinomycetes* isolates have been collected, coded as C1 and C2, but only 1 isolate (C2) was able to inhibit the growth of the test bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) in the antagonist test. At the concentration of 10%, ethyl acetate extract exhibited the greatest inhibition on the growth of *S. aureus* (11.55 mm) and *E. coli* (9.96 mm). The results of phytochemical screening showed that the extract contained flavonoid and alkaloid compounds. Microscopic observations implied that isolate C2 was from the genus *Streptomyces*. In conclusion, the *Actinomycetes* isolated from the soil of the karst area have the potential to produce antibacterial compounds.

Keywords: Antibacterial, Karst, *Actinomycetes*

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 <i>Actinomycetes</i>	4
II.2 Tanah	9
II.3 Kawasan Karst	9
II.4 Antimikroba	11
II.5 Bakteri Uji	14
II.6 Metode Difusi	15
II.7 Kromatografi Lapis Tipis	16
BAB III METODE PENELITIAN	18

III.1 Alat dan Bahan	18
III.2 Metode Kerja	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
IV.1 Isolasi Bakteri <i>Actinomyces</i>	26
IV.2 Uji Antagonis Isolat <i>Actinomyces</i>	29
IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi	29
IV.4 Uji Aktivitas Antimikroba	33
IV.5 Kromatografi Lapis Tipis dan Skrining Fitokimia	36
IV.6 Identifikasi <i>Actinomyces</i>	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
V.1 Kesimpulan	40
V.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Kategori daya hambat bakteri menurut David & Stout (1971)	13
2. Morfologi isolat <i>Actinomyces</i> C1 dan C2 secara makroskopik	28
3. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat dan air isolate <i>Actinomyces</i> C2	34
4. Komposisi Media NA	47
5. Komposisi Media SNA	47
6. Komposisi Media SNB	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Isolasi bakteri <i>Actinomyces</i> dari Pengenceran 10-1	28
2. Isolat murni bakteri <i>Actinomyces</i>	28
3. Hasil uji antagonis isolate <i>Actinomyces</i> pada bakteri uji	29
4. Grafik hubungan antara diameter zona hambat (mm) dan lama fermentasi (hari) Isolat <i>Actinomyces</i> terhadap bakteri uji <i>S. aureus</i>	32
5. Grafik hubungan antara diameter zona hambat (mm) dan lama fermentasi (hari) Isolat <i>Actinomyces</i> terhadap bakteri uji <i>E. coli</i>	32
6. Profil KLT oleh ekstrak air dan etil asetat isolat <i>Actinomyces</i> C2	36
7. Hasil skrining fitokimia ekstrak air dan etil asetat <i>Actinomyces</i> C2	37
8. Hasil uji mikroskopik isolate <i>Actinomyces</i> C2	38
9. Jenis struktur spora pada <i>Streptomyces</i>	39
10. Peta lokasi pengambilan sampel	48
11. Tempat pengambilan sampel	48
12. Hasil uji antagonis isolat terhadap <i>S. aureus</i>	49
13. Hasil uji antagonis isolat terhadap <i>E. coli</i>	49
14. Hasil fermentasi selama 16 hari	49
15. Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap <i>S. aureus</i>	50
16. Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap <i>E. coli</i>	50

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
1. Skema kerja penelitian	46
2. Komposisi Media	47
3. Lokasi Pengambilan Sampel	48
4. Gambar Hasil Penelitian	49

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kawasan karst di Indonesia dianggap memiliki nilai-nilai yang sangat strategis. Di wilayah kepulauan Indonesia, luas kawasan karst mencapai hampir 20% dari total luas wilayah. Kawasan karst dianggap sebagai laboratorium alam yang sarat akan obyek yang dapat diteliti (Nugroho *et al.*, 1999). Sampai saat ini ekosistem karst belum banyak tersentuh, ekosistem ini memiliki potensi keanekaragaman hayati yang tinggi baik terestrial maupun akuatik baik di permukaan maupun di dalam gua (Benzon, 2001). Terdapat 17 kawasan karst mayor di Indonesia, di antara kawasan karst tersebut, karst Maros dianggap sebagai kawasan karst yang paling baik dan dianggap sebagai prototipe dari karst daerah tropis. Karst Maros dicirikan dengan berkembangnya menara karst, yaitu bentukan positif dengan dinding-dinding terjal yang relatif tinggi (Balaz, 1968).

Proses pembentukan bentuk lahan karst didominasi oleh proses pelarutan atau yang sering disebut kartisifikasi. Keberadaan karbondioksida (CO_2) memiliki peranan penting dalam proses pelarutan atau kartisifikasi. Karbondioksida (CO_2) dan air (H_2O) berperan sebagai reaktan untuk membentuk ion H^+ yang akan melarutkan batuan karbon (Haryono dan Adji, 2004). Keberadaan karbondioksida (CO_2) dalam tanah yang dihasilkan akibat adanya aktivitas organisme baik organisme

permukaan tanah (tumbuhan) maupun mikroorganisme tanah menyebabkan fluktuasi kandungan karbondioksida (CO₂) dalam tanah dipengaruhi oleh suhu dan kelembaban tanah (Trudgill, 1977). Suhu dan kelembaban tanah menjadi kontrol utama dalam peningkatan aktivitas mikroorganisme (Risk, *et al.*, 2002).

Dari segi keilmuan, kawasan karst merupakan suatu kawasan yang tidak akan pernah kehabisan obyek untuk penelitian. Fenomena bentanglahan permukaan karst yang sangat unik, fenomena bawah permukaan berupa sistem pergoaan dan sungai bawah tanah merupakan obyek yang sangat menarik untuk diteliti (Nugroho *et al.*, 1999). Menurut Ko (2001), di dalam gua yang gelap itu biasanya banyak ditemukan bakteri, *Actinomycetes* dan fungi.

Actinomycetes adalah kelompok mikroorganisme yang paling banyak tersebar di alam yang terutama menghuni tanah (Oskay *et al.*, 2004). Sekitar 80% antibiotik di dunia diketahui berasal dari *Actinomycetes*, dan umumnya dari *Streptomycetes* dan *Micromonospora* (Pandey *et al.*, 2004). Penemuan antibiotik baru dari golongan *Actinomycetes* dapat menggantikan penggunaan antibiotik yang kebanyakan telah resisten saat ini. Penelitian Kumalasari *et al.* (2012), melaporkan potensi diversitas mikroorganisme gua terhadap fungi patogen uji, yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida utilis* dan *C. albicans*, *Sacharomyces acetobutlicum*, *S. cereviseae*, *Escherichia coli*, *Aspergillusflavus*, mikroorganisme tersebut merupakan mikroorganisme

yang umumnya menyebabkan gangguan kesehatan di masyarakat. Perbedaan daerah dan iklim dapat mempengaruhi ekosistem yang secara tidak langsung akan mempengaruhi diversitas dari *Actinomycetes* beserta metabolit sekundernya. Sehingga, penelitian ini berfokus pada isolasi dan uji aktivitas antimikroba dari *Actinomycetes* tanah karst Bantimurung, Maros, Sulawesi Selatan yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibakteri guna memperoleh senyawa antimikroba potensial yang baru.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah hasil *Actinomycetes* yang diisolasi dari tanah karst Bantimurung menghasilkan senyawa antibakteri?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari *Actinomycetes* yang telah diisolasi dari tanah kawasan karst Bantimurung.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Actinomycetes*

II.1.1 Karakteristik dan Lingkungan *Actinomycetes*

Actinomycetes merupakan kelompok bakteri morfologi yang mirip dengan kelompok fungi, termasuk bakteri Gram positif, bersel satu, dan memiliki misellium, dengan kandungan G dan C yang tinggi di dalam DNA. *Actinomycetes* dapat ditemukan dalam beberapa jenis tanah, air tawar, dan laut. *Actinomycetes* memiliki peran penting dalam penguraian suatu bahan organik seperti selulosa dan kitin, memberi nutrisi pada tanah, dan merupakan bagian penting dalam proses pembentukan humus. Pada media kultur koloni *Actinomycetes* memiliki konsistensi berbubuk, memiliki hifa dan menempel kuat pada permukaan agar (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016).

Actinomycetes dapat menghasilkan berbagai metabolit sekunder, selama lebih dari 70 tahun *Actinomycetes* diketahui sebagai sumber penting sebagai penghasil senyawa bioaktif alami. Dan sekitar 18.000 senyawa bioaktif *Actinomycetes*, lebih dari 10.000 senyawa tersebut diketahui berasal dari *Actinomycetes* genus *Streptomyces* (Ratna Shanti et al., 2016). Dengan adanya penemuan *Actinomycin* yang berasal dari genus *Streptomyces*, antibiotik telah ditemukan (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016).

Actinomycetes merupakan organisme heterotrop yang efektif dalam menggunakan substrat. *Actinomycetes* membutuhkan bahan-bahan organik sebagai sumber karbon bagi kelangsungan hidupnya dan beberapa diantara jenis *Actinomycetes* dapat mendegradasi inulin dan chitin. Media pertumbuhan *Actinomycetes* adalah *Starch Nitrate Agar* (SNA). SNA adalah medium yang paling baik disusul dengan medium *fish-meal extract*, *inorganik salts starch*, *oat meal extract*, dan medium gliserol asparagine (Shahat, 2011).

Actinomycetes termasuk bakteri dengan sel yang sangat beragam dan pleomorfik, berbentuk batang dan tidak beraturan, gram positif, bersifat aerobik atau anaerob fakultatif. Struktur berupa filamen lembut dan bercabang yang disebut dengan hifa atau miselia seperti filament yang terdapat pada fungi, memiliki konidia hifa yang tegak, bereproduksi dengan cara pembelahan sel. Bentuk koloni dapat dibedakan dengan menggunakan mikroskopis. *Actinomycetes* mempunyai warna miselium udara, miselium vegetatif, dan warna pigmen yang berdifusi kedalam media setelah diinkubasi selama beberapa hari (Sulistiyani dan Akbar, 2014).

II.1.2 Klasifikasi *Actinomycetes*

Kingdom	: Prokariot
Subkingdom	: Cyanobacteria
Divisi	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes

Class : Actinobacteria
Subclass : Actinobacteridae
Orde : Actinomycetales
Famili : Mycobacteriaceae
Actinomycetaceae
Streptomyceae
Actinoplamaceae (Gurung *et al.*, 2010)

Actinomycetes termasuk ordo *Actinomycetales*, yang terbagi menjadi 3 suku yaitu (Waluyo, 2005):

a. Suku *Mycobacteriaceae*

Sel-sel tidak membentuk miselium atau hanya miselium yang rudimenter. Misalnya *Mycobacterium* dan *Mycococcus*.

b. Suku *Actinomycetaceae*

Membentuk miselium, spora terbentuk dalam fragmen-fragmen miselium. Contoh : *Actinomyces bovis*, patogen penyebab penyakit mulut pada ternak.

c. Suku *Streptomycetaceae*

Membentuk miselium, miselium vegetatif tidak terbagi-bagi.

Contoh :

- a. *Streptomyces aureofaciens*, menghasilkan aurotomisin
- b. *Streptomyces griseus*, menghasilkan streptomisin
- c. *Streptomyces fradiae*, menghasilkan neomisin dan fradisin
- d. *Streptomyces rimosus*, menghasilkan teramisin

- e. *Streptomyces venezuelae*, menghasilkan kloromisetin

II.1.3 Fase Pertumbuhan

Menurut Djide dan Sartini (2014), fase pertumbuhan mikroorganisme dibedakan menjadi fase permulaan atau fase adaptasi, fase pertumbuhan yang dipercepat, fase logaritma, fase pertumbuhan yang mulai terhambat, yang dipercepat, fase stasioner, fase kematian yang dipercepat, dan fase kematian logaritma.

1. Fase Permulaan

Pada fase tersebut mikroorganisme melakukan penyesuaian diri dengan lingkungannya yang baru. Berbagai macam enzim dan zat-zat perantara yang dibentuk pada fase ini, sehingga memungkinkan akan terjadi pertumbuhan lebih lanjut.

2. Fase Pertumbuhan yang Dipercepat

Pada fase ini mikroorganisme mulai melakukan pembelahan diri, tetapi waktu generasinya masih panjang. Pada pertumbuhan dipercepat bersama-sama dengan fase permulaan sering disebut dengan fase lag.

3. Fase Pertumbuhan Logaritma

Pada fase pertumbuhan mulai ini kecepatan pertumbuhan paling cepat, waktu generasinya pendek dan konstan. Selama fase ini metabolisme paling cepat dan pesat, jadi sintesa bahan sel sangat cepat dan konstan. Keadaan tersebut berlangsung sampai salah satu atau beberapa nutrisi habis atau telah terjadi penimbunan hasil-hasil

metabolisme yang bersifat racun, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme.

4. Fase Pertumbuhan Mulai Terhambat

Pada fase ini pertumbuhan mulai terhambat, hal ini disebabkan karena adanya pengurangan nutrisi dan mulai terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun, juga terjadi perubahan lingkungan seperti pH dan lain-lain. Jika dilakukan penambahan nutrisi atau penetralan racun-racun pada keadaan ini, maka fase logaritma dapat diperpanjang.

5. Fase Stasioner atau Fase Konstan

Karena adanya penurunan kadar nutrisi dan adanya penimbunan zat-zat yang bersifat racun, maka kecepatan pertumbuhan dan perbanyakan mikroorganisme akan terhambat. Selain dari pada itu, jumlah mikroorganisme yang mati sama dengan jumlah mikroorganisme yang hidup.

6. Fase Kematian yang Dipercepat dan Fase Kematian Logaritma

Kedua fase ini sering disebut sebagai fase penurunan kematian. Pada fase ini kecepatan kematian meningkat terus-menerus sedangkan kecepatan pembelahan menjadi nol. Setelah sampai ke fase kematian logaritma, kecepatan kematian mencapai maksimum. Jumlah selnya menurun menurut deret ukur, tetapi penurunan jumlah sel tersebut akan mencapai keadaan yang minimum. Secara teoritis, keadaan ini dapat bertahan untuk waktu yang sangat lama dalam medium tersebut. Sebagai

contoh adalah *Escherichia coli* dapat bertahan sampai beberapa bulan, sedangkan *Pneumococcus sp* hanya 2 sampai 3 hari saja. Keadaan ini sangat tergantung pada spesies mikroorganismenya.

II.2 Tanah

Tanah merupakan suatu ekosistem yang mengandung berbagai jenis mikroba dengan morfologi dan sifat fisiologi yang berbeda-beda. Jumlah tiap kelompok mikroba sangat bervariasi, ada yang hanya terdiri atas beberapa individu, ada pula yang jumlahnya mencapai jutaan per gram tanah. Banyaknya mikroba berpengaruh terhadap sifat kimia dan fisik tanah serta pertumbuhan tanaman. Dengan mengetahui jumlah dan aktivitas mikroba di dalam suatu tanah, dapat diketahui apakah tanah tersebut termasuk subur atau tidak karena populasi mikroba yang tinggi menunjukkan adanya suplai makanan atau energi yang cukup, suhu yang sesuai, ketersediaan air yang cukup, dan kondisi ekologi tanah yang mendukung perkembangan mikroba (Saraswati *et al.*, 2017). *Actinomycetes* merupakan kelompok mikroba yang paling banyak menghasilkan senyawa bioaktif antibiotika (70%), fungi (20%) dan bakteri (10%) (Herlina *et al.*, 2010).

II.3 Kawasan Karst

Karst merupakan suatu bentukan bentang alam pada batuan karbonat yang memiliki bentuk yang sangat khas berupa bukit, lembah, dolina, dan gua. Permukaannya cenderung kering dan gersang, namun dibawahnya terdapat beberapa aliran air yang berbentuk sungai-sungai

kecil di bawah permukaannya. Batuan karbonat merupakan penyusun utama lahan karst yang berbentuk seperti spon, berpori, dan berbentuk rekahan di permukaan.

Kawasan karst adalah kawasan batuan karbonat (batu gamping dan dolomit) yang memperlihatkan morfologi karst, berupa hamparan batu kapur yang mengandung karbonat kalsium, terbentuk dari proses alam yang menyebabkan terbentuknya karst. Proses karstifikasi melalui waktu yang panjang atau berjuta tahun dicirikan dengan keanekaragaman jenis pohon yang lebih kecil dibandingkan dengan hutan dataran rendah. Hampir semua habitat dan vegetasi yang berada di sistem ekologi karst bersifat endemik dan besaran yang spesifik (Fatinaware, 1016).

II.3.1 Kawasan Karst Bantimurung-Bulusaraung

Kawasan karst Bantimurung-Bulusaraung adalah kawasan karst yang membentang dari utara ke selatan wilayah Maros dan Pangkep dengan luas sekitar ± 40.000 ha. Kawasan ini secara umum terdiri dari hutan bukit kapur (*forest over limestone*) dengan formasi hutan tebing dan lereng. Geomorfologi yang tidak ada duanya di Indonesia, memiliki flora dan fauna, air terjun, nilai-nilai ilmiah dan sosial budaya yang tinggi. Kawasan karst Bantimurung-Bulusaraung dapat dikembangkan sebagai laboratorium alam untuk penelitian ilmiah dan observasi alam, serta ekowisata. UNESCO menganggap kawasan ini pantas diusulkan sebagai kawasan warisan dunia (*A World Heritage Site*). Kawasan karst Maros-Pangkep sudah dikenal secara internasional sejak Alfred Russel Wallace

(naturalis asal Inggris) mempublikasikan jurnal perjalanannya berjudul *The Malay Archipelago* (Fatinaware, 2016).

II.4 Antimikroba

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia, termasuk golongan ini yang akan dibicarakan berhubungan dengan bidang farmasi antara lain antibiotika, antiseptika, desinfektasi, dan pengawet.

Obat-obat yang digunakan untuk membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan ataupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat sangat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad inang atau hospes (Djide & Sartini, 2006).

Antimikroba dapat bersifat :

1. Bakteriostatik, yaitu zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Sebagai contoh adalah sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, dan novobiosin.
2. Bakteriosida, zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini jumlah mikroorganisme (bakteri) akan berkurang atau bahkan habis. Yang termasuk kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, neomisin, antimikroba yang bersifat sebagai bakteriostatik tidak boleh dikombinasi dengan antimikroba bakteriostatik.

Prinsip kerja antimikroba memperlihatkan toksisitas yang selektif, dimana obat-obatnya lebih toksik terhadap mikroorganismenya dibandingkan pada sel hospes. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroorganisme atau karena obat pada reaksi-reaksi biokimia penting dalam sel parasite lebih unggul dari pada pengaruhnya terhadap sel hospes. Di samping itu, struktur sel mikroorganisme juga berbeda dengan struktur sel manusia (hospes, inang).

Mekanisme kerja Antimikroba:

1. Penginaktifan Enzim Tertentu

Penginaktifan enzim tertentu adalah mekanisme umum dari senyawa antiseptika dan disinfektansia, seperti turunan aldehida amida, karbanilida, etilen-oksida, halogen, senyawa-senyawa merkuri dan senyawa ammonium kuarterner.

2. Denaturasi Protein

Turunan alkohol, halogen, dan halogenator senyawa merkuri, peroksida, turunan fenol dan senyawa ammonium kuarterner bekerja sebagai antiseptika dan desinfektan dengan cara denaturasi dan konjugasi protein sel bakteri.

3. Mengubah Permeabilitas Membran Sitoplasma Bakteri

Cara ini adalah model kerja dari turunan amin dan guanidin, turunan fenol dan senyawa ammonium kuarterner. Dengan mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri, senyawa-senyawa tersebut

dapat menyebabkan bocornya konstituen sel yang esensial, sehingga bakteri mengalami kematian.

4. Penghambatan terhadap Sintesa Dinding Sel

Antimikroba golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme. Yang termasuk dalam kelompok ini adalah : penisilin, sefalosporin, vankomisin, sikloserin dan basitrasin.

5. Intekalasi ke dalam DNA

Beberapa zat warna seperti turunan trifenil metan dan turunan akridin bekerja sebagai anti bakteri dengan mengikat secara kuat asam nukleat, menghambat sintesis DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

Adapun kategori daya hambat bakteri menurut David dan Stout (1971) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kategori daya hambat bakteri menurut David & Stout (1971)

Daya hambat bakteri	Kategori
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

II.5 Bakteri Uji

II.5.1 *Staphylococcus aureus*

Divisi : Protophyta (schuzophyta)

Kelas : Achyromycetes

Bangsa : Eubacteriales

Famili : Mikroccaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bola dengan diameter 0,5 – 1,5 μm tidak mempunyai alat gerak dan tidak tahan asam. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh ada suhu 37°C. Pada tubuh biasanya terdapat pafa kulit, saluran pernafasan bagian atas, salran air kemih, mulut, hidung, luka yang terinfeksi, selaput lendir dan tempat-tempat lainnya (Shandra dan Bani, 2012).

II.5.2 *Escherichia coli*

Divisi : Protophyta

Kelas : Schyromycetes

Bangsa : Eubacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam bakteri gram negatif, berbentuk batang yang pendek dengan diameter 0,4 – 0,7 μm , mempunyai flagella peritrik yang digunakan sebagai alat untuk bergerak dan juga yang tidak bergerak. Bakteri ini bersifat anaerobik fakultatif dapat memfermentasi lakosa dan menghasilkan gas. Bakteri ini biasa ditemukan disaluran pencernaan maupun hewan vertebrata. Di alam bebas biasa erdapat dalam air, tanah, dan bahan organik. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah suhu 37°C (Shabrina dan Bani, 2012).

II.6 Metode Difusi

Metode difusi agar dilakukan dengan menggunakan media agar yang diinokulasikan mikroorganisme uji. Kemudian, *paper disk* (diameter sekitar 6 mm) yang mengandung senyawa uji dengan konsentrasi tertentu diletakkan di atas permukaan agar. Cawan petri kemudian diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Pada umumnya, agen antimikroba akan berdifusi ke agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji dan terbentuk zona hambat.

Kelemahan metode ini yaitu tidak dapat dibedakan efek antimikroba berupa bakterisida atau bakterostatik. Selain itu, tidak sesuai untuk penentuan konsentrasi hambat minimum karena tidak diketahui secara pasti jumlah agen antimikroba yang berdifusi ke media agar. Tetapi,

metode ini memiliki kelebihan yaitu sederhana, murah dan mudah untuk menginterpretasikan hasil yang diperoleh (Balouri *et al.*, 2015).

II.7 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah teknik pemisahan komponen senyawa kimia yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran antara dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Analisis dengan kromatografi dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif (Liu *et al.*, 2017).

Fase diam (lapisan penjerap) merupakan salah satu komponen penting dalam proses pemisahan dengan kromatografi, karena dengan adanya interaksi dengan fase gerak maka terjadi perbedaan waktu retensi dan tepisahannya komponen senyawa. Fase diam dapat dibuat berupa bahan padat atau berpori berbentuk molekul kecil atau cairan yang umumnya dilapiskan pada padatan pendukung. Penjerap yang umum digunakan adalah silica gel, aluminium oksida, keisulgur, selulosa, poliamida, dan lain-lain. Sedangkan, fase gerak (pelarut) adalah medium angkut yang terdiri dari satu atau beberapa pelarut. Pemilihan fase gerak didasarkan pada polaritas senyawa dan merupakan campuran beberapa cairan yang berbeda polaritasnya, sehingga didapatkan perbandingan tertentu (Stahl, 1962). Kepolaran pelarut sangat berpengaruh terhadap nilai R_f (*Retention factor*) yang diperoleh.

Bercak yang terdeteksi pada plat KLT divisualisasikan di bawah lampu UV254 nm dan UV366 nm. Penentuan golongan senyawa pada uji

KLT dilakukan dengan penyemprotan plat KLT dengan pereaksi semprot. Identifikasi noda atau penampakan noda, jika noda sudah berwarna dapat langsung diperiksa dan ditentukan nilai Rf. Nilai Rf merupakan parameter karakteristik KLT. Nilai ini merupakan ukuran kecepatan suatu senyawa pada kromatogram yaitu dengan perbandingan antara jarak yang ditempuh komponen senyawa dengan jarak tempuh pelarut. Untuk setiap senyawa berlaku rumus sebagai berikut (Valle *et al.*, 2016).

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh suatu zat yang diteliti}}{\text{jarak yang ditempuh oleh elarut}}$$

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai Rf (Valle *et al.*, 2016):

1. Struktur kimia senyawa yang dipisahkan
2. Sifat dari penjerap (adsorben) dan derajat aktivitasnya
3. Pelarut sebagai fase gerak dan derajat kemurniannya
4. Kejenuhan dari uap dalam chamber