

**ISOLASI AKTINOMISETES DARI BEBERAPA SPONS
ASAL PERAIRAN PULAU KODINGARENG SEBAGAI
PENGHASIL SENYAWA ANTIMIKROBA**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM SOME
SPONS OF KODINGARENG ISLAND WATERS AS
PRODUCERS OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS**

**TAJRIYANI RAHMAN
N111 16 043**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



Optimization Software:
www.balesio.com

**ISOLASI AKTINOMISETES DARI BEBERAPA SPONS ASAL
PERAIRAN PULAU KODINGARENG SEBAGAI PENGHASIL
SENYAWA ANTIMIKROBA**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM SOME SPONS OF
KODINGARENG ISLAND WATERS AS PRODUCERS OF
ANTIMICROBIAL COMPOUNDS**

SKRIPSI

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

**TAJRIYANI RAHMAN
N111 16 043**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



**ISOLASI AKTINOMISETES DARI BEBERAPA SPONS ASAL
PERAIRAN PULAU KODINGARENG SEBAGAI PENGHASIL
SENYAWA ANTIMIKROBA**

TAJRIYANI RAHMAN

N111 16 043

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


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


Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005

Pada tanggal 04 Juni 2020



SKRIPSI

ISOLASI AKTINOMISETES DARI BEBERAPA SPONS ASAL PERAIRAN PULAU KODINGARENG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIMIKROBA

ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM SOME SPONS OF KODINGARENG ISLAND WATERS AS PRODUCERS OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS

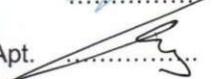
Disusun dan diajukan oleh:

TAJRIYANI RAHMAN
N111 16 043

telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 04 Juni 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
2. Sekretaris : Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
3. Anggota : Usmar, S.Si., M.Si., Apt.
4. Anggota : Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.



Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19750925 200112 1 002



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 04 Juni 2020
Yang menyatakan,



Tajriyani Rahman
N111 16 043



Optimization Software:
www.balesio.com

v

v

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan

Penulis menyadari bahwa selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini sangat banyak tantangan yang dihadapi. Namun berkat adanya bantuan dan doa dari berbagai pihak, sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini. Oleh sebab itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Rahman dan Ibunda Darmawati, yang memberikan banyak kasih sayang, doa, motivasi, dan pengorbanan serta selalu bersabar dalam mendidik penulis dari kecil hingga sekarang ini. Juga buat adikku tercinta Khaerunnisaa'i Rahman dan Ainun Azkana Rahman yang selalu memberikan semangat dan dukungan meskipun berada jauh dari penulis sehingga penulis bisa menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada Bapak Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku penasehat akademik penulis yang telah memberikan banyak nasehat selama mengikuti

penelitian. Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa hormat, syukur, dan ucapan terima kasih yang



sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing utama dan bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping atas keikhlasan dan kesabaran dalam memberikan bimbingan kepada penulis.

Penulis juga mengucapkan rasa terima kasih kepada :

1. Dekan dan Wakil Dekan Fakultas Farmasi, seluruh staf pengajar dan staf pegawai dan laboran Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam proses menyelesaikan studi kami.
2. Tim penguji bapak Usmar, S.Si, M.Si., Apt. dan bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. atas waktu, saran dan arahan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Laboran Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi kepada Ibu Haslia, S.Si. yang selalu banyak membantu selama penelitian berlangsung hingga selesai.
4. Sahabat-sahabat penulis Nur Rahmi, Azhari Johar, Risma Rimalda, Dwi Yuliangraeni, Miftahul Janna, Naufal Taqwa, Anugerah, Rezky Fadilah, Wd.Nurmaya, Maghfira Haerunnisa, Hesti Rahayu, Reski Alif, dan Ade Irma yang selalu memberikan semangat dan bantuan selama berkuliah di Farmasi.
5. Teman-teman penulis dalam penelitian Andi Ameilia Sari, Sri

grum, Nurfatimah, Nurzenita, Sitti Khadijah dan Rhezky Awaliah
g selalu membantu penulis selama melaksanakan penelitian.



6. Korps Asisten Mikrobiologi Farmasi yang selalu membantu dan memberikan doa serta semangat kepada penulis selama penelitian.
7. Teman-teman angkatan 2016 (Neost16mine) yang telah banyak memberikan keceriaan, kenangan dan kebersamaan selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
8. Sahabatku tersayang Dian Budiarti Kastian, yang senantiasa memberikan semangat, motivasi dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Serta berbagai pihak yang telah membantu penulis yang tidak sempat disebutkan namanya satu per satu.

Penulis menyadari akan segala keterbatasan yang penulis miliki sehingga skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan dalam penyusunannya. Oleh karena itu, penulis mengarapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Dengan demikian penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin yaa Rabbalalaamiin.

Makassar, 04 Juni 2020

Tajriyani Rahman



ABSTRAK

TAJRIYANI RAHMAN. Isolasi Aktinomisetes Dari Beberapa Spons Asal Perairan Pulau Kodingareng Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba (Dibimbing oleh Herlina Rante dan Gemini Alam)

Aktinomisetes merupakan kelompok bakteri Gram positif yang dapat ditemukan di laut, salah satunya pada spons. Aktinomisetes diketahui mampu menghasilkan senyawa metabolit yang berpotensi sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari isolat aktinomisetes yang diisolasi dari spons pulau Kodingareng. Isolasi sampel dilakukan dengan metode tuang menggunakan medium *Starch nitrate agar* dan diinkubasi selama 7 hari. Isolat yang telah diisolasi diperoleh dari spons kode KDR-01, KDR-02, KDR-03, KDR-04, dan KDR 06. Isolat aktinomisetes diujikan terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan *Candida albicans* untuk menskrining isolat aktinomisetes yang memiliki aktivitas antimikroba. Hasil uji skrining menunjukkan isolat aktinomistes KDR-01-1 memiliki aktivitas terhadap 4 mikroba uji. Maka dilakukan proses fermentasi terhadap isolat aktinomestes KDR-01-1, untuk memperoleh metabolit sekunder. Ekstraksi dilakukan pada hari ke-18 menggunakan etil asetat (1:1 v/v) terhadap supernatan hasil fermentasi dan biomassa yang dihasilkan dimaserasi menggunakan metanol. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dilanjutkan pada uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat 20% dan ekstrak metanol 10% dan 20% dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, ekstrak metanol 5%, 10% dan 20% dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, ekstrak metanol 10% dan 20% *Bacillus subtilis* dan Ekstrak metanol 20% dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Berdasarkan hasil identifikasi secara mikroskopik didapatkan bahwa isolat aktinomisetes KDR-01-1 diduga termasuk genus *Streptomyces sp.* dengan spora berbentuk *flexous*

Kata kunci : Aktinomisetes, antimikroba, spons, pulau kodingareng



ABSTRACT

TAJRIYANI RAHMAN. *Isolation Of Actinomycetes From Some Spons Of Kodingareng Island Waters As Producers Of Antimicrobial Compounds (Supervised by Herlina Rante and Gemini Alam)*

Actinomycetes are a group of Gram-positive bacteria that can be found in the sea, one of which is the sponges. Actinomycetes have been shown to compounds that are successful as antimicrobials. Antimicrobials from actinomycetes isolates isolated from the sponges of Kodingareng Island. Isolation of the sample was carried out by growing the microorganisms in Starch nitrate agar medium and incubated for 7 days. Isolated microorganisms were obtained from the sponges were coded as KDR-01, KDR-02, KDR-03, KDR-04, and KDR 06. Actinomycetes isolates were tested for antimicrobial screening against Escherichia coli, Bacillus subtilis, Aspergillus niger and Candida albicans. The screening test results showed that KDR-01-1 actinomycetes isolates had activity against 4 tested microbes. Therefor, the fermentation process was carried out on the actinomycetes KDR-01-1 isolates, to obtain secondary metabolites. Extraction was carried out on the 18th day using ethyl acetate (1: 1 v / v) on the fermented supernatant and the resulting biomass was macerated using methanol. The resulting biomass was macerated using methanol. The obtained resulting extract is then taken in an antimicrobial activity test using the agar diffusion method. The results showed that 20% ethyl acetate extract and 10% and 20% methanol extract could inhibit the growth of Staphylococcus aureus, methanol extract 5%, 10% and 20% could inhibit the growth of Escherichia coli, 10% methanol extract and 20% Bacillus subtilis and Extract 20% methanol can inhibit the growth of Candida albicans. Based on microscopic results obtained by KDR-01-1 actinomycetes isolates including Streptomyces sp. with flexous spores

Keywords: Actinomycetes, antimicrobial activity, sponges , kodingareng island



DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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.1.1 Taksonomi dan Karakteristik <i>Actinomycetes</i>	4
II.1.3 Habitat <i>Actinomycetes</i>	7
II.2 Spons	9
II.3 Antimikroba	11
II.4 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme	12
II.5 Uji Aktivitas Antimikroba	15
II.5.1 Difusi	15
II.5.2 Dilusi	17
II.6 Uraian Mikroba Uji	18
II.6.1 <i>Escherichia coli</i>	18
II.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
II.6.3 <i>Bacillus subtilis</i>	19
II.6.4 <i>Aspergillus niger</i>	20
II.6.5 <i>Candida albicans</i>	20



BAB III METODE KERJA	22
III.1 Alat dan Bahan	22
III.2 Metode Kerja	22
III.2.1 Pengambilan Sampel	22
III.2.2 Sterilisasi Alat	23
III.2.3 Pembuatan Medium	23
III.2.3.1 Pembuatan Medium SNA (Starch Nitrate Agar)	23
III.2.3.2 Pembuatan Medium SNB (<i>Starch Nitrate Broth</i>)	24
III.2.3.3 Pembuatan Medium NA (<i>Nutrient Agar</i>)	24
III.2.3.4 Pembuatan Medium PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>)	24
III.2.4 Isolasi dan Pemurnian <i>Actinomyces</i>	24
III.2.5 Penyiapan Mikroba Uji	25
III.2.6 Uji Antagonis	25
III.2.7 Fermentasi Isolat <i>Actinomyces</i>	26
III.2.8 Ekstraksi Hasil Fermentasi	26
III.2.9 Pengujian Aktivitas Antimikroba	26
III.2.10 Kromatografi Lapis Tipis	27
III.2.11 Pengamatan Morfologi Isolat <i>Actinomyces</i>	27
III.2.12 Pengumpulan dan Analisis Data	28
III.2.13 Kesimpulan	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
IV.1 Isolasi <i>Actinomyces</i>	29
IV.2 Uji Antagonis	33
IV.3 Hasil Fermentasi dan Ekstraksi	34
IV.4 Uji Aktivitas Antimikroba	36
IV.5 Profil Kromatografi Lapis Tipis	38
IV. 6 Pengamatan Mikroskop	38
BAB V PENUTUP	40
V. 1 Kesimpulan	40
Bahan	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46



DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Karakteristik Isolat <i>Actinomyces</i>	31
2. Hasil Uji Antagonis isolat <i>Actinomyces</i> terhadap mikroba uji	33
3. Hasil Pengukuran diameter zona hambat ekstrak isolat <i>Actinomyces</i> KDR-01-1 terhadap mikroba uji	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Pertumbuhan <i>actinomycetes</i> pada medium	5
2. Struktur spora dari genus <i>Streptomyces sp.</i>	6
3. Sampel mikroskopik dari berbagai spesies <i>demospongie</i> yang menggambarkan keragaman bentuk spikula spons	9
4. Lokasi tumbuh dari tiga kelas utama spons	10
5. Fase Pertumbuhan Mikroorganisme	14
6. Hasil isolasi <i>actinomycetes</i> dari spons pulau Kodingareng pada hari ke-7	30
7. Kurva hubungan antara lama fermentasi (hari) terhadap diameter zona hambat (mm) isolat KDR-01-1	35
8. Profil KLT hasil fermentasi dari isolat <i>actinomycetes</i> kode KDR-01-1	38
9. Mikroskopik Isolat <i>actinomycetes</i> KDR-01-1 dari Spons jenis <i>Clathria reinwardti</i>	39
10. Spons dari pulau Kodingareng yang telah diberi kode KDR 01 hingga KDR 09	49
11. Hasil Uji Antagonis isolat pada <i>Bacillus subtilis</i>	50
12. Hasil Uji Antagonis isolat pada <i>Staphylococcus aureus</i>	50
13. Hasil Uji Antagonis isolat pada <i>Escherichia coli</i>	50
14. Hasil Uji Antagonis isolat pada <i>Candida albicans</i>	51
15. Hasil Uji Antagonis isolat pada <i>Aspergillus niger</i>	51
16. Hasil Uji Fermentasi selama 18 hari	51



17. Hasil Ekstraksi	52
18. Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	52
19. Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap <i>Bacillus subtilis</i>	52
20. Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap <i>Escherichia coli</i>	52
21. Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap <i>Candida albicans</i>	52
22. Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap <i>Aspergillus niger</i>	53



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja	46
2. Daftar Komposisi Media yang Digunakan	48
3. Gambar hasil penelitian	49
4. Hasil Determinasi Sampel	54



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab utama kematian yang banyak terjadi di negara tropis terutama Indonesia. Penyakit infeksi ini diduga diakibatkan karena faktor sosial-ekonomi, lingkungan, dan ekologi. Infeksi pada manusia dapat disebabkan oleh berbagai jenis bakteri patogen dan fungi (Dita, 2017). Pengobatan yang dapat dilakukan untuk penyakit infeksi adalah penggunaan antibiotik. Akan tetapi, beberapa bakteri patogen maupun penyebab infeksi ini telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik yang digunakan sehingga mengakibatkan perpanjangan penyakit, meningkatnya resiko kematian, dan semakin lamanya masa rawat inap di rumah sakit (Utami, 2011).

Timbulnya resistensi terhadap antibiotik menyebabkan perlu dilakukan pencarian senyawa bioaktif baru yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sebagian besar antibiotik yang tersedia saat ini berasal dari mikroorganisme tanah, terutama dari *Actinomyces*, tetapi juga dari bakteri Gram positif dan jamur nonfilamen. Selain sebagai antibiotik, senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *Actinomyces* dapat digunakan sebagai antikanker dan antihelminik (Willey dan Sherwood,

Actinomyces telah menjadi salah satu penghasil antibiotik yang mencapai 70-80% (Khanna *et al.*, 2011).



Actinomycetes termasuk dalam kelompok Gram positif yang hidup bebas, selain ditemukan di tanah, *Actinomycetes* juga dapat ditemukan di perairan dan tanaman (Usha dkk, 2010). *Actinomycetes* dari perairan dapat diperoleh di laut (Willey dan Sherwood, 2008).

Actinomycetes laut dapat diperoleh dari kelompok spons laut. Spons termasuk hewan avertebrata dalam filum porifera, yang berpotensi menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat bioaktif . Jumlah bakteri yang terdapat pada spons adalah sekitar 40-60% dari total biomassa spons, salah satunya *Actinomycetes* (Taylor *et al.*, 2007; Abubakar dkk, 2011; Hentschel *et al.*, 2012).

Dari beberapa penelitian yang telah dipublikasikan akhir-akhir ini telah menunjukkan bahwa *Actinomycetes* laut menghasilkan jenis metabolit sekunder baru yang potensial seperti *Cyanosporaside A*, *Salinispyrone*, *Arenicolides A-C*. Hal ini mungkin berkaitan dengan beberapa kondisi dalam lingkungan laut, seperti tingginya konsentrasi NaCl, tekanan hidrostatis yang tinggi, rendahnya konsentrasi senyawa organik dan temperatur yang rendah. Sehingga dapat diduga bahwa *Actinomycetes* laut akan memiliki karakteristik unik yang berbeda pada *Actinomycetes* terrestrial (yang hidup di darat) (Ratnakomala *et al.*, 2016).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kumala dkk. (2015), *Actinomycetes* laut memiliki sifat sebagai antimikroba yang dapat

ambat bakteri Gram positif dan Gram negatif yang diujikan.

in sebelumnya yang juga dilakukan oleh Rante dkk. (2010),



mendapatkan bahwa isolat *Actinomycetes* yang berhasil diisolasi dari spons laut dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji yang digunakan yakni *Staphylococcus aureus* (Rante *et al.*, 2010). Sedangkan Kumalasari dkk. (2012), telah mengisolasi *Actinomycetes* yang memiliki potensi sebagai penghasil antibiotik sebanyak 14 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida utilis*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces acetobutylicum*, *Escherichia coli*, dan *Aspergillus flavus*

Penelitian ini diharapkan isolat *Actinomycetes* yang berasal dari spons pulau Kodingareng dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai antimikroba.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah isolat *Actinomycetes* yang diisolasi dari spons asal perairan pulau Kodingareng memiliki aktivitas antimikroba?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari isolat *Actinomycetes* yang diisolasi dari spons asal perairan pulau Kodingareng



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Actinomycetes

II.1.1 Taksonomi dan Karakteristik *Actinomycetes*

Kingdom	: Prokariotik
Subkingdom	: Cyanobacteria
Divisi	: Bacteria
Kelas	: Actinobacteria
Ordo	: Actinomycetales
Suku	: Tectariaceae
Family	: Actinomycetacea
Spesies	: <i>Actinomycetes</i> (Barka et al., 2016)

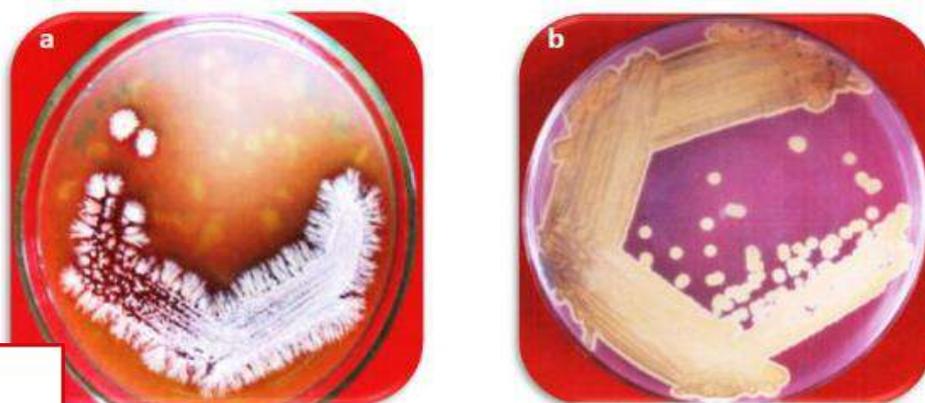
Actinomycetes juga dikenal dengan istilah aktinobacteria yang merupakan mikroba yang memiliki keunikan jika dibandingkan dengan mikroba lain. Morfologi dari aktinobacteria memiliki kemiripan dengan fungi (Wijaya, 2015). Dinding sel aktinobakteria tidak ditemukan kitin dan selulosa seperti pada fungi (Ali, 2017). *Actinomycetes* termasuk prokariotik sedangkan fungi termasuk eukariotik (Djide dan Sartini, 2014) Actinobakteria adalah kelompok bakteri Gram positif, bersel satu, dan berfilamen (Anandan *et al.*, 2016).



Actinomycetes mengandung sitosin dan guanin yang tinggi dalam DNA-nya, bersifat uniseluler dan memiliki miselium nonseptat. Koloninya memiliki konsistensi yang berbubuk dan menempel kuat pada

permukaan agar, menghasilkan hifa dan konidia / jamur seperti sporangia di media kultur (Anandan *et al.*, 2016). *Actinomycetes* sangat mudah dikenali karena memiliki kekhasan bau seperti tanah yang berasal dari pembentukan geosmin jika ditumbuhkan pada media agar (Ali, 2017).

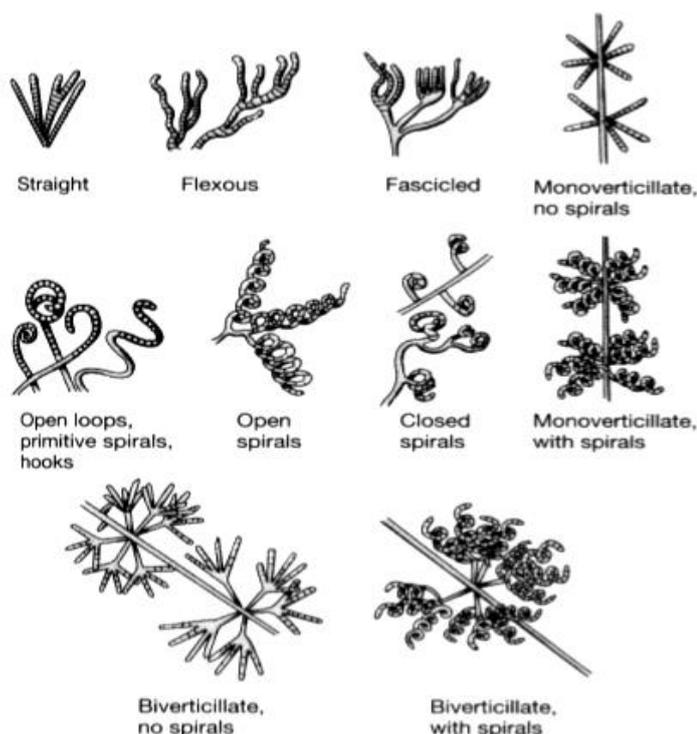
Actinomycetes terdiri dari sekelompok mikroorganisme uniseluler yang bercabang, hifa umumnya nonseptat, namun dalam kondisi tertentu septa juga dapat diamati dalam beberapa bentuk (Chamikara, 2016). Miselium membentuk aerobik dan dikenal sebagai miselium substrat dan miselium aerial (Anandan *et al.*, 2016). Miselium aerial biasanya lebih tebal dari miselium substrat. Miselium aerial menunjukkan diferensiasi yang baik, sehingga memungkinkan isolat dipisahkan menjadi beberapa kelompok yang memiliki karakteristik morfologi yang sama. Sedangkan miselium substrat *Actinomycetes* bervariasi dalam hal ukuran, bentuk, dan ketebalannya. Memiliki warna yang bermacam-macam putih atau hampir tidak berwarna sampai kuning, coklat, merah, merah muda, oranye, hijau, atau hitam (Anandan *et al.*, 2016).



Gambar 1. Pertumbuhan actinomycetes pada medium : a. Aerial miselium dan b. miselium substrat (Anandan *et al.*, 2016).



Morfologi *actinomycetes* telah menjadi karakteristik yang penting untuk mengidentifikasi isolat *actinomycetes*. Gambar dibawah ini merupakan bentuk spora dari spesies *Streptomyces* (Gambar 2) Kelompok mikroorganisme ini bereproduksi dengan pembelahan biner atau dengan membentuk spora atau konidia, dan sporulasi melalui fragmentasi dan segmentasi atau pembentukan konidia. Di antara berbagai genera aktinobakteri yaitu *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Marinispora*, *Micromonospora*, *Nocardiosis*, *Saccharopolyspora*, *Salinispora*, *Streptomyces* dan *Verrucosipora* memiliki potensi utama menghasilkan senyawa bioaktif. *Streptomyces* merupakan aktinobacteria yang memiliki sejumlah besar produk alami bioaktif (Anandan *et al.*, 2016).



Gambar 2. Struktur spora dari genus *Streptomyces* sp. (Anandan *et al.*, 2016)



Streptomyces adalah genus yang paling banyak diisolasi. Sekitar 23.000 bioaktif metabolit sekunder diisolasi dari mikroorganisme telah dilaporkan dan lebih dari 10.000 senyawa tersebut diproduksi oleh *actinomycetes*. Sekitar 7.600 senyawa berasal dari spesies *Streptomyces*. Banyak dari metabolit tersebut adalah antibiotik poten, sehingga *Streptomyces* dikenal sebagai organisme penghasil antibiotik utama yang dieksploitasi oleh industri farmasi. Genus *Streptomyces* telah lama dikenal sebagai sumber kaya metabolit sekunder yang berguna dan terus berlanjut (Silambarasan *et al.*, 2012; Anandan *et al.*, 2014).

Actinomycetes dapat tumbuh pada suhu optimal dari 20°C-42°C (Anandan *et al.*, 2016). Spesies termotoleran dapat bertahan pada suhu 50°C. Actinobacteria termofilik sedang memiliki pertumbuhan optimal pada 45°C-55°C, sedangkan Actinobacteria sangat termofilik tumbuh pada suhu 37°C-65°C dengan suhu optimum pada 55°C-60°C. Suhu inkubasi 28°C, 37°C, dan 45°C dianggap optimal untuk isolasi tanah mesofilik, termotoleran, dan Actinobacteria termofilik sedang (Jensen *et al.*, 2005).

II.1.3 Habitat *Actinomycetes*

Tanah menjadi habitat utama bagi *actinomycetes* dengan *streptomyces* sebagai populasi utamanya. *Actinomycetes* terestrial memiliki kemampuan menghasilkan antibiotik baru dengan aktivitas antibakteri yang tinggi (Oskay *et al.*, 2005). Beberapa laporan

menunjukkan distribusi *Actinomycetes* diberbagai lokasi, seperti tanah, tanah alkali hitam, tanah lempung berpasir, tanah penutup alkali,



dimana *Streptomyces sp.* adalah spesies paling dominan, kemudian *Nocardia* (Anandan *et al.*, 2016).

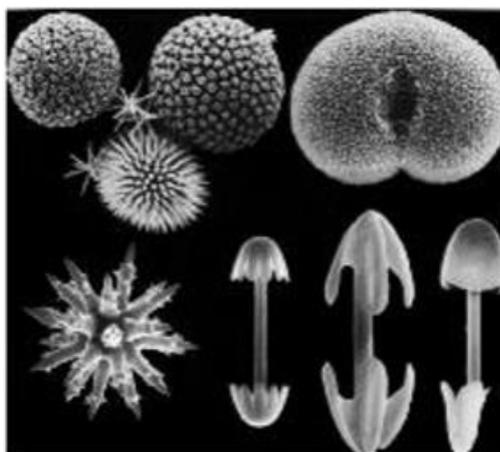
Actinomycetes juga didistribusikan secara luas di perairan, seperti pada air tawar dan laut. Lingkungan laut adalah sumber *actinomycetes* yang belum banyak dimanfaatkan keanekaragamannya. *Actinomycetes* laut dapat menghasilkan berbagai jenis senyawa bioaktif dibandingkan dengan yang terestrial. *Actinomycetes* laut harus beradaptasi dari tekanan yang sangat tinggi dan kondisi anaerob pada suhu tepat di bawah 0 - 8°C di dasar laut dalam sampai asam tinggi kondisi pada suhu lebih dari 8-100°C di dekat lubang hidrotermal di pegunungan tengah laut. *Rhodococcus marinonascene*, spesies *Actinomycetes* laut pertama yang ditandai, mendukung keberadaan *actinomycetes* laut (Bull *et al.*, 2005; Anandan *et al.*, 2016).

Grossart *et al.* (2004) telah menggambarkan bahwa sekitar 10% *Actinomycetes* yang menjajah agregat organik laut dan aktivitas antagonisnya mungkin sangat signifikan dalam mempertahankan keberadaan mereka, yang mempengaruhi degradasi dan mineralisasi bahan organik. *Actinomycetes* laut dapat menghasilkan senyawa bioaktif seperti antimikroba, antikanker, antivirus, aktivitas penghambatan insektisida dan enzim. Sebagian besar perwakilan actinobacterial dapat diisolasi dari pantai, pesisir perairan, sedimen dasar, ikan, moluska, lumpur laut dan bakau (Manivasagan, *et al.*, 2014).



II.2 Spons

Spons adalah hewan dari phylum porifera yang hidup menetap dan bersifat *filter feeder*. Spons memompa air keluar melalui tubuhnya dan menyaring partikel sebagai bahan makanan (Hickman, *et al.*, 2002). Secara ekologi, spons merupakan salah satu penyusun pada ekosistem laut, terutama pada ekosistem terumbu karang dan padang lamun yang umumnya dijumpai di perairan tropik dan subtropik (Haris, 2013; Samawi dkk., 2009). Spons memiliki karakteristik masing-masing tergantung genus dan spesiesnya. Di dalam spons terdapat spikula yaitu sel penyusun tubuh yang berbentuk seperti jarum. Dalam menentukan spesies suatu spons diperlukan ukuran dan bentuk spikula (dikategorikan sebagai megaskler dan mikroskler) (Gambar 3) (Likens, 2009).

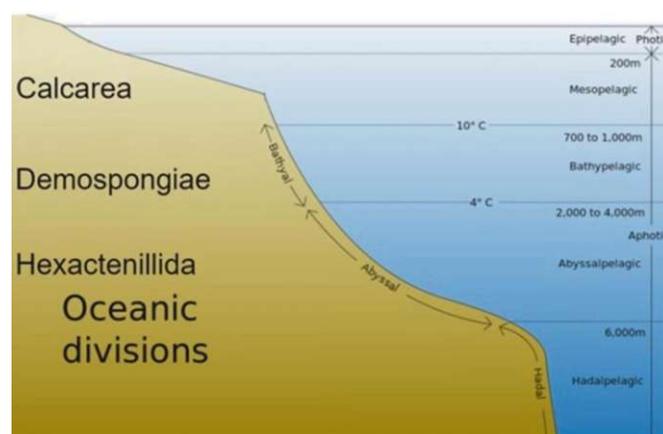


Gambar 3. Sampel mikroskler dari berbagai spesies demospongie yang menggambarkan keragaman bentuk spikula spons (Likens, 2009)

Spons (Porifera) merupakan salah satu hewan invertebrata yang beranekaragam yang dapat ditemukan di laut sekitar 8000 spesies (van den De Voogd, 2018). Menurut Reid (1968) sebagaimana yang diungkapkan oleh Jungblut, *et al* (2018) secara umum spons terdiri dari 3 kelas



yaitu: Calcarea, Demospongiae, dan Hexactinellida (Gambar 4). Calcarea atau spons berkapur hidup di laut dangkal dan menghasilkan kalsium karbonat. Demospongiae merupakan kelas spons yang tersebar luas sekitar 90% dari semua spesies spons. Dari epipelagik hingga zona bathypelagik, mereka dapat hidup di air tawar dan lingkungan laut, dan memiliki berbagai bentuk dan ukuran (van Soest and De Voogd, 2018) Sedangkan, Hexactinellida atau spons kaca adalah spesies yang paling tidak fleksibel. Mereka memiliki jaring amoebosit di mana sel-sel epidermis berada di spons lain kelas. Sel-sel mereka diselengi dengan spikula kaca yang menonjol di luar, yang membuatnya menjadi kelas yang sangat kaku. Kelas biasanya ditemukan di daerah kutub dan kedalaman laut dari zona pelagis abyssal. Ketiga kelas memiliki elemen kerangka keras yang disebut spikula untuk mendukungnya tubuh. Spikula Calcarea mengandung kalsium karbonat, sedangkan dua yang terakhir terdiri dari silikon dioksida terhidrasi (Jungblut *et al*, 2018).



Gambar 4. Lokasi tumbuh dari tiga kelas utama spons (Jungblut *et al*, 2018)



Spons tidak seperti organisme multiseluler yang lebih kompleks, spons tidak memiliki sistem saraf, pencernaan atau sirkulasi. Sebagai gantinya, spons mengandalkan air yang mengalir melalui tubuh mereka untuk memberi makan mereka dengan makanan dan oksigen sekaligus membuang kotoran. Selain itu, mereka tidak menunjukkan simetri bilateral. Sebaliknya, spons menunjukkan simetri radial, yang memungkinkan efisiensi maksimal dalam aliran air di sekitar rongga tengah spons (Jungblut *et al*, 2018).

II.3 Antimikroba

Antimikroba adalah substansi yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba, beberapa antimikroba yang dikenal dalam bidang farmasi antara lain antibiotika, antiseptika, desinfektasi, dan preservative. Antibiotik merupakan senyawa yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme lain (Djide dan Sartini, 2008; Utami, 2011).

Mekanisme kerja Antimikroba (Djide dan Sartini, 2014) :

1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri atau menghambat aktivitas enzim pembentukan dinding sel mikroorganisme. Contoh : penisilin, sepalosporin, karapenem, vankomisin, dan monobaktam
2. Menghambat fungsi permeabilitas membran sel yang bekerja langsung pada membran sel, yakni mempengaruhi permeabilitas dan

sebabkan keluarnya senyawa dari dalam sel mikroorganisme atau bakteri. Contoh : Polimixin dan kolistin.



3. Menghambat sintesis protein yang mempengaruhi fungsi ribosom 30S dan 50S pada mikroorganisme. Contoh : Tetrasiklin, klormafenikol, aminoglikosida, linkomisin, eritromisin, dan klindamisin.
4. Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Contoh : rifampisin yaitu dengan menghambat sintesis RNA polimerase dan kuinolon yang menghambat topoisomerase. Kedua antibiotika tersebut bersifat bakteriosida.
5. Menghambat enzim yang berperan dalam proses metaolisme folat. Contoh : Trimetoprim dan sulfonamide. Kedua obat tersebut bersifat bakteriostatik

II.4 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan mikroorganisme dibagi ke dalam beberapa fase sebagai berikut (Djide dan Sartini, 2014).

1. Fase permulaan

Pada fase ini mikroorganisme melakukan penyesuaian diri terhadap lingkungannya yang baru. Berbagai macam enzim dan zat-zat perantara dibentuk, sehingga memungkinkan terjadinya pertumbuhan lebih lanjut. Pada fase ini pula sel-sel mulai membesar, tetapi belum melakukan pembelahan sel

2. Fase pertumbuhan yang dipercepat

Pada fase ini mikroorganisme mulai melakukan pembelahan sel, tetapi waktu generasinya masih panjang. Fase ini bersama



dengan fase permulaan sering disebut “lag phase” atau “phase of adjustment”.

3. Fase pertumbuhan logaritma

Pada fase pertumbuhan 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. Panjang pendeknya waktu generasi pada fase ini sangat bergantung pada spesies mikroorganisme, medium dan faktor lingkungan selama pertumbuhan.

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 kondisi ini, maka fase logaritma dapat diperpanjang.

5. Fase stasioner atau fase konstan

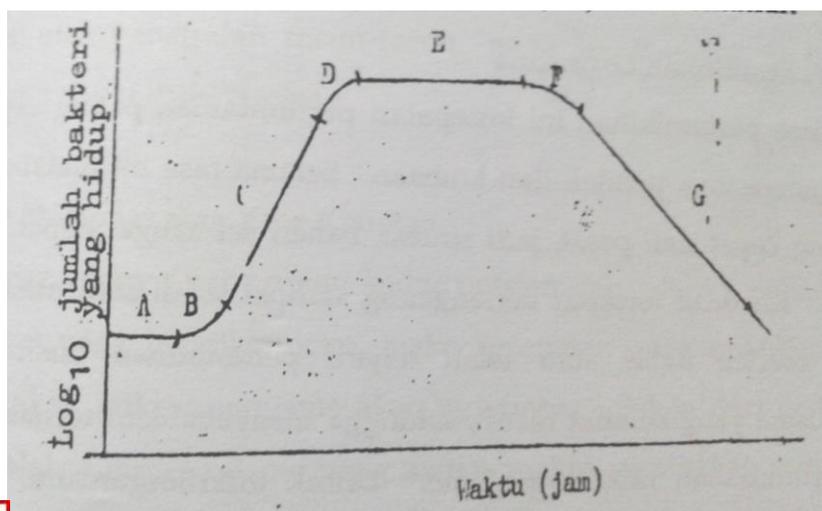
Pada fase ini terjadi penurunan kadar nutrisi dan adanya penimbunan zat-zat yang bersifat racun, sehingga kecepatan



pertumbuhan dan perbanyak mikroorganismen terhambat. Selain itu, jumlah mikroorganismen yang mati semakin meningkat, sehingga populasi mikroorganismen yang mati sama dengan yang hidup. Ukuran sel pada fase ini lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah habis. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan kimia.

6. Fase 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 tersebut akan mencapai keadaan yang minimum (Djide dan Sartini, 2014).



gambar 5. Fase Pertumbuhan Mikroorganismen (Djide dan Sartini, 2014).



II.5 Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian antimikroba dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba secara *in vitro* dari ekstrak atau senyawa murni yang memiliki potensi sebagai agen antimikroba. Metode pengujian antimikroba yang adalah sebagai berikut (Balouiri *et al.*, 2016) :

II.5.1 Difusi

Pengujian antimikroba dengan metode difusi terbagi menjadi beberapa cara yaitu sebagai berikut (Balouiri *et al.*, 2016):

a. Metode difusi agar

Metode ini telah banyak digunakan di laboratorium mikrobiologi klinis untuk pengujian rutin kerentanan suatu antimikroba. Kelebihan dari metode pengujian ini adalah biaya rendah, pengerjaan yang sederhana, kemampuan untuk menguji sejumlah besar mikroorganisme dan agen antimikroba, serta kemudahan untuk menginterpretasikan hasil yang diperoleh. Namun, metode ini tidak cocok digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) karena tidak diketahui secara pasti jumlah agen antimikroba yang berdifusi pada medium agar. Metode ini juga tidak dapat membedakan efek antara bakterisida dan bakteriostatik.

Pada metode ini digunakan pencadang atau disk, dengan prinsip yaitu agen antimikroba yang terdapat pada disk akan berdifusi ke medium agar yang telah diinokulasikan mikroba uji dan akan



menghambat pertumbuhan mikroba tersebut yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat (bening) disekitar disk/pencadang.

b. Metode gradient antimikroba (*E-test*)

Metode pengujian *E-test* merupakan teknik komersial dari penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan menggabungkan prinsip metode difusi dan dilusi. Hal tersebut didasarkan pada kemungkinan terbentuknya gradien konsentrasi agen antimikroba yang diuji dalam medium agar. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan nilai KHM dari antifungi, antibiotik, dan antimikobakteri. Selain itu, dapat juga digunakan untuk menentukan interaksi obat antara dua antimikroba. Sinergitas dari kedua obat tersebut ditentukan oleh penurunan KHM setelah kombinasi zat antimikroba. Kelebihan dari metode ini adalah sangat mudah diterapkan, akan tetapi biaya dari strip *E-test* mahal sehingga metode ini jarang digunakan.

c. Metode KLT-Bioautografi

Teknik ini menggabungkan kromatografi lapis tipis dengan metode deteksi biologi dan kimia. Beberapa peneliti telah berhasil menerapkan metode ini terhadap penyaringan ekstrak organik, terutama ekstrak tumbuhan untuk diuji aktivitas antibakteri dan antijamur. Metode ini terdiri atas tiga yaitu metode kontak, metode

autografi langsung, dan metode bioautografi pencelupan. Secara keseluruhan KLT-bioautografi adalah teknik yang sederhana, efektif,



dan tidak mahal untuk pemisahan campuran kompleks. Oleh karena itu, metode ini dapat dilakukan baik di laboratorium canggih maupun laboratorium kecil yang hanya memiliki akses peralatan minimum.

II.5.2 Dilusi

Metode ini dilakukan dengan beberapa cara (Pratiwi, 2008):

a. Metode dilusi cair

Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji



II.6 Uraian Mikroba Uji

II.6.1 *Escherichia coli*

Kingdom	: Prokaryote
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Scotoacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> . (Brooks <i>et al.</i> , 2013)

E.coli merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang yang termasuk dalam kelompok Enterobacteriaceae. *E.coli* mempunyai ukuran dengan panjang 2,0-6,0 mikron dan lebar 1,1-1,5 mikron, tunggal atau berpasangan dan bersifat non-motil atau motil dengan flagella peritrik. *E.coli* dapat tumbuh pada suhu antara 10-40°C dengan suhu optimum 37°C. Pertumbuhan optimum pada pH 7,0-7,5 dan minimum pada pH 4,0 serta maksimum pada pH 9,0. Bakteri ini relatif sensitif terhadap panas dan dapat diinaktifkan pada suhu pasteurisasi (Djide dan Sartini, 2008)

II.6.2 *Staphylococcus aureus*

Kingdom	: Eubacteria
Divisi	: Protophyta (schizophyta)
Kelas	: Schyzomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae



Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Shabrina dan Bani, 2012).

S.aureus merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bola dengan diameter 0,5 - 1,5 μm tidak mempunyai alat gerak dan tidak tahan asam. Pada tubuh biasanya terdapat pada kulit, saluran pernafasan bagian atas, saluran air kemih, mulut, hidung, luka yang erinfeksi, selaput lendir dan tempat-tempat lainnya (Shabrina dan Bani, 2012). Pertumbuhan paling baik dalam kondisi aerobik. Kisaran suhu untuk pertumbuhan 10-45°C; optimal 30-37°C. Pertumbuhan baik dalam medium yang mengandung 10% NaCl dan buruk pada 15% NaCl (Vos *et al*, 2009)

II.6.3 *Bacillus subtilis*

Kingdom : Procaryotae

Divisi : Bacteria

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus subtilis* (Vos *et al*, 2009)

B.subtilis termasuk bakteri gram negatif memiliki sel yang berbentuk batang, lurus atau sedikit melengkung, tumbuh tunggal maupun berpasangan, biasanya membentuk rantai sepanjang filamen. Diameter

besar antara 0,4 hingga 1,8 μm dan panjang 0,9 hingga 10,0 μm (Vos *et al*, 2009).



II.6.3 *Aspergillus niger*

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Mycota
Kelas	: Plectinomyces
Phylum	: Ascomycota
Ordo	: Eurotiales
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus niger</i> (Gugnani, 2007)

Koloni jamur *Aspergillus niger* tumbuh dengan cepat (4,5 hingga 6,5 cm dalam 10 hari pada suhu kamar), rata, seringkali berkerut secara radial, granular, awalnya berwarna putih hingga kuning, menjadi hitam dengan krim atau kuning pucat. Kepala konidial besar (berdiameter 750 hingga 850 μm) dan berwarna hitam, memancarkan, membelah menjadi kolom-kolom seiring bertambahnya usia. *Aspergillus niger* memiliki spora berbentuk *conidiophores* yang sangat panjang 1,5-3,0 mm, berdinding tebal, halus dengan vesikel bulat atau bulat besar, 45-75 μm . *Phialides biseriata* yang menutupi seluruh permukaan vesikel. Konidia berwarna coklat, berdinding tebal, bulat atau subspheris, 2,5-10 μm dengan kutil dan punggung bukit yang menonjol (Gugnani, 2007)

II.6.4 *Candida albicans*

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycete
Class	: Saccharomycetes



Order : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : Candida
Species : *Candida albicans* (Wilson, 2018)

Morfologi mikroskopis *C. albicans* memperlihatkan pseudohyphae dengan cluster di sekitar blastokonidia bulat bersepta panjang berukuran 3-7x3-14 μm , tumbuh baik pada suhu 25-37°C (Mutiawati, 2016). *C. albicans* adalah jamur yang merupakan bagian dari mikroflora manusia. Biasanya ditemukan di area lembab dari tubuh manusia, seperti bagian tubuh kulit, mulut, usus, dan vagina. Saat berada pada lingkungan tertentu, maka *C. albicans* dapat berubah dari jamur yang tidak berbahaya menjadi jamur berfilamen sehingga dapat mengakibatkan infeksi yang dikenal sebagai kandidiasis (Camp *et al*, 2019).

