

**ISOLASI ACTINOMYCETES DARI TANAH DI
KAWASAN KARST BANTIMURUNG SEBAGAI
PENGHASIL SENYAWA ANTIJAMUR**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM SOIL IN
BANTIMURUNG KARST AREA AS PRODUCING
ANTIFUNGAL COMPOUNDS**

**NUR HAFIDAH
N011171051**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI ACTINOMYCETES DARI TANAH DI KAWASAN KARST
BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIJAMUR**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM SOIL IN BANTIMURUNG
KARST AREA AS PRODUCING ANTIFUNGAL COMPOUNDS**

SKRIPSI

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

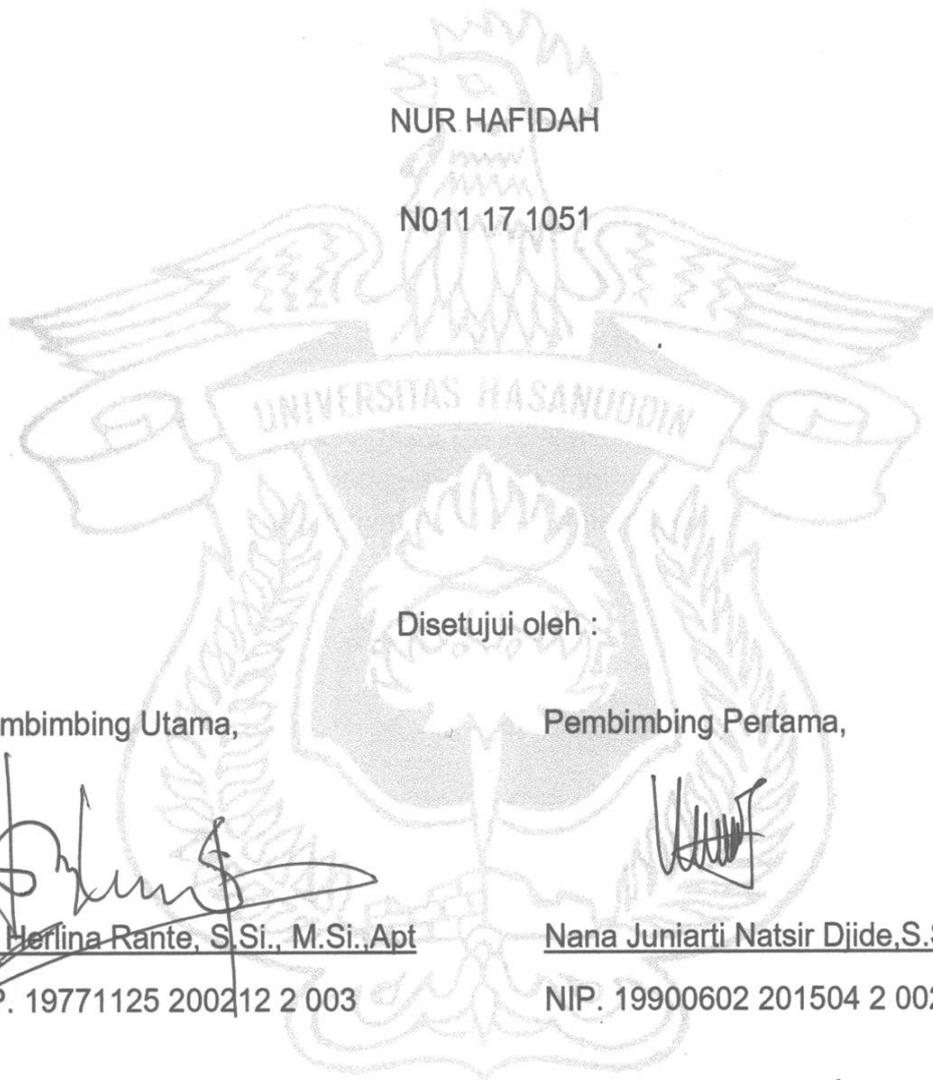
**NUR HAFIDAH
N011171051**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

ISOLASI ACTINOMYCETES DARI TANAH DI KAWASAN KARST
BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIJAMUR

NUR HAFIDAH

N011 17 1051



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

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 10 Januari... 2023

SKRIPSI
ISOLASI ACTINOMYCETES DARI TANAH DI KAWASAN KARST
BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIJAMUR

ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM SOIL IN BANTIMURUNG KARST
AREA AS PRODUCING ANTIFUNGAL COMPOUNDS

Disusun dan diajukan oleh :

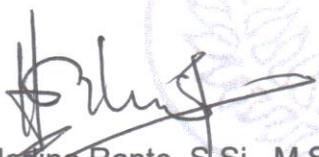
NUR HAFIDAH
N011 17 1051

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 10 Januari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

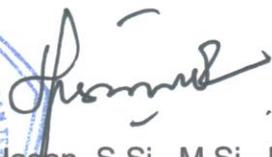
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,


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 : Nur Hafidah
NIM : N011171051
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul "Isolasi Actinomycetes dari Tanah di Kawasan Karst Bantimurung sebagai Penghasil Senyawa Antijamur" adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain. Bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

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

Makassar, 10 Januari 2023

Yang menyatakan



Nur Hafidah

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah rabbi 'alamin. Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan petunjuk-Nya sehingga penulis diberikan kesehatan dan juga kesempatan untuk menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "Isolasi Actinomycetes dari Tanah di Kawasan Karst Bantimurung sebagai Penghasil Senyawa Antijamur" yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa selama proses penelitian ini tidak lepas dari berkat adanya bantuan, motivasi, dan doa dari beberapa pihak sehingga hambatan dalam penelitian dapat terselesaikan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dosen pembimbing utama penulis, ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. yang telah meluangkan waktunya dalam membimbing, memberikan saran, motivasi serta dorongan kepada penulis agar menyelesaikan skripsinya. Selain itu juga, dosen pembimbing pertama penulis, ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. yang telah meluangkan waktunya dalam membimbing dan memberikan saran kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Dosen penguji, yaitu bapak Prof. Subehan., S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. dan ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. ,

yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan masukan berupa saran dan kritik untuk perbaikan dalam skripsi penulis.

3. Dosen penasehat akademik, bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam bidang akademik.
4. Seluruh dosen dan pegawai serta staf di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, atas bantuan yang telah diberikan.
5. Keluarga penulis, bapak Alm. A. Razak bin Sileleh dan khususnya ibu Maswati BT Beddu dan adik penulis, Zahirah Nailatul Izzah, yang selalu ada untuk memberikan motivasi, sebagai pendengar penulis, pemberi dukungan baik berupa material maupun mental untuk penulis, memberi nasehat yang mendukung proses perkuliahan, penelitian dan penyelesaian skripsi.
6. Teman teman tim Bantimurung, yaitu Cahya Ningrum, S.Si. dan Yulvani Faulah G., S.Si. yang saling mendukung kemajuan penelitian hingga tahap penulisan skripsi ini.
7. Teman teman 2017 lainnya yang menempuh awal penelitian, proses penelitian, maupun dalam tahap penyusunan skripsi, yang tidak menyerah dan saling memotivasi agar segera terselesaikan.
8. Beberapa pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah membantu penulis dalam menghadapi kendala dalam penelitian.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, diharapkan saran dan kritik dari para pembaca. Akhir kata,

semoga skripsi ini dapat memberikan informasi, pengetahuan baru dan manfaat bagi kita semua. Aamiin dan Terima kasih.

Makassar, 10 Januari 2023



Nur Hafidah

ABSTRAK

NUR HAFIDAH. *Isolasi Actinomycetes dari Tanah di Kawasan Karst Bantimurung Sebagai Penghasil Senyawa Antijamur.* (dibimbing oleh Herlina Rante dan Nana Juniarti Natsir Djide)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi metabolit sekunder *Actinomycetes* yang berasal dari tanah gua di kawasan karst Bantimurung sebagai sumber penghasil senyawa antijamur. Isolasi dilakukan dengan menggunakan hasil pengenceran sampel tanah Karst yang disebarakan pada medium SNA (*Starch Nitrate Agar*). Isolat murni *Actinomycetes* dilanjutkan dengan uji antagonis kemudian isolat aktif difermentasi selama 13 hari dalam medium M1. Hasil fermentasi diekstraksi dengan etil asetat:air (1:1 v/v) kemudian diuji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi cakram terhadap *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* yang dilanjutkan uji KLT dan skrining fitokimia. Sebanyak 8 isolat *Actinomycetes* yang diperoleh memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*, 2 isolat *Actinomycetes* (kode B11 dan B17) menunjukkan aktivitas terbaik pada uji antagonis. Ekstrak etil asetat hasil fermentasi kedua isolat mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Sedangkan, pada *A. niger* didapatkan aktivitas antijamur dari ekstrak etil asetat B11 pada konsentrasi 2,5%. Ekstrak etil asetat hasil fermentasi isolat *Actinomycetes* B11 dan B17 diduga mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, dan flavonoid serta mengandung senyawa flavonoid pada ekstrak air. Hasil mikroskopik pada isolat *Actinomycetes* B11 diduga merupakan genus *Nocardia* dan isolat *Actinomycetes* B17 diduga merupakan genus *Streptomyces*. Isolat *Actinomycetes* dari tanah karst bantimurung disimpulkan memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antijamur.

Kata kunci: tanah, karst bantimurung, *Actinomycetes*, antijamur.

ABSTRACT

NUR HAFIDAH. *Isolation Of Actinomycetes From Soil In Bantimurung Karst Area As Producing Antifungal Compounds.* (supervised by Herlina Rante and Nana Juniarti Natsir Djide)

This research was conducted to know the potential of *Actinomycetes* secondary metabolites originating from cave soil in the Bantimurung karst area as a source of producing antifungal compounds. Isolation was carried out using the results of dilution of Karst soil samples which were spread on SNA (Starch Nitrate Agar) medium. *Actinomycetes* pure isolates were continued in the antagonist test and then the active isolates were fermented for 13 days in M1 medium. The fermented product was extracted with ethyl acetate:water (1:1 v/v) and then tested for antifungal activity using the disc diffusion method against *Candida albicans* and *Aspergillus niger* followed by TLC tests and phytochemical screening. A total of 8 *Actinomycetes* isolates obtained had antifungal activity against *C. albicans*, 2 *Actinomycetes* isolates (codes B11 and B17) showed the best activity in the antagonist test. The ethyl acetate extract resulting from the fermentation of the two isolates was able to inhibit the growth of *C. albicans*. Meanwhile, in *A. niger* the antifungal activity was obtained from the ethyl acetate B11 extract at a concentration of 2.5%. The ethyl acetate extract resulting from the fermentation of *Actinomycetes* isolates B11 and B17 is thought to contain alkaloids, terpenoids, and flavonoids and also contains flavonoid compounds in the aqueous extract. The microscopic results on *Actinomycetes* B11 isolates were suspected to be the genus *Nocardia* and *Actinomycetes* B17 isolates were suspected to be the genus *Streptomyces*. *Actinomycetes* isolates from the karst soil of Bantimurung were concluded to have potential as producers of antifungal compounds.

Keywords: soil, karst bantimurung, *Actinomycetes*, antifungal.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--------------------------------------|---------|
| UCAPAN TERIMA KASIH | vi |
| ABSTRAK | ix |
| ABSTRACT | x |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xviii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| I.1 Latar Belakang | 1 |
| I.2 Rumusan Masalah | 3 |
| I.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| II.1 Actinomycetes | 5 |
| II.2 Karst Bantimurung | 6 |
| II.3 Jamur Uji | 9 |
| II.4 Antijamur | 11 |
| II.5 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme | 14 |
| II.6 Uji Aktivitas Antimikroba | 16 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 18 |
| III.1 Alat dan Bahan Penelitian | 18 |

| | |
|---|----|
| III.2 Metode Kerja | 18 |
| III.3 Pembuatan Medium | 19 |
| III.4 Penyiapan Sampel | 19 |
| III.5 Penyiapan Jamur Uji | 20 |
| III.6 Skrining Awal untuk Aktivitas Actinomycetes | 21 |
| III.7 Fermentasi Isolat Actinomycetes | 21 |
| III.8 Ekstraksi Hasil Fermentasi | 22 |
| III.9 Pengujian Aktivitas Antijamur | 22 |
| III.10 Kromatografi Lapis Tipis | 23 |
| III.11 Skrining Fitokimia | 23 |
| III.12 Identifikasi Actinomycetes | 24 |
| III.13 Analisis Data | 25 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 26 |
| IV.1 Hasil Isolasi Tanah Karst Bantimurung | 26 |
| IV.2 Hasil Uji Skrining Awal Isolat Actinomycetes | 28 |
| IV.3 Hasil Fermentasi dan Ekstraksi Isolat Actinomycetes | 29 |
| IV.4 Hasil Uji Aktivitas Antijamur | 30 |
| IV.5 Hasil Karakterisasi Senyawa Isolat Actinomycetes dan Skrining Fitokimia | 33 |
| IV.6 Identifikasi Actinomycetes | 36 |
| BAB V PENUTUP | 38 |
| V.1 Kesimpulan | 38 |
| V.2 Saran | 38 |

| | |
|----------------|----|
| DAFTAR PUSTAKA | 40 |
| LAMPIRAN | 47 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Karakteristik isolat <i>Actinomyces</i> dari tanah | 28 |
| 2. Hasil uji skrining awal isolat <i>Actinomyces</i> tanah Karst Bantimurung terhadap jamur uji | 29 |
| 3. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etil asetat dan ekstrak air B11 dan B17 terhadap <i>C. albicans</i> dan <i>A. niger</i> | 31 |
| 4. Hasil skrining fitokimia ekstrak air dan ekstrak etil asetat | 34 |
| 5. Komposisi medium..... | 48 |
| 6. Hasil data tiga replikasi uji aktivitas terhadap <i>Candida albicans</i> isolat B11 dan B17 | 49 |
| 7. Hasil data tiga replikasi uji aktivitas terhadap <i>Aspergillus niger</i> isolat B11 dan B17 | 50 |
| 8. Hasil analisis data uji normalitas B11 terhadap <i>C. albicans</i> | 51 |
| 9. Hasil analisis data uji homogenitas B11 terhadap <i>C. albicans</i> | 51 |
| 10. Hasil analisis data uji <i>one way</i> ANOVA B11 terhadap <i>C. albicans</i> . | 51 |
| 11. Hasil analisis data uji <i>post hoc (games howell)</i> B11 terhadap <i>C.</i> <i>albicans</i> | 51 |
| 12. Hasil analisis data uji normalitas B11 terhadap <i>A. niger</i> | 53 |
| 13. Hasil analisis data uji homogenitas B11 terhadap <i>A. niger</i> | 53 |
| 14. Hasil analisis data uji <i>one way</i> ANOVA B11 terhadap <i>A. niger</i> | 53 |

| | |
|--|----|
| 15. Hasil analisis data uji <i>post hoc</i> (<i>games howell</i>) B11 terhadap A. <i>niger</i> | 54 |
| 16. Hasil analisis data uji normalitas B17 terhadap <i>C. albicans</i> | 55 |
| 17. Hasil analisis data uji homogenitas B17 terhadap <i>C. albicans</i> | 56 |
| 18. Hasil analisis data uji <i>one way</i> ANOVA B17 terhadap <i>C. albicans</i> . | 56 |
| 19. Hasil analisis data uji <i>post hoc</i> (<i>games howell</i>) B17 terhadap C. <i>albicans</i> | 56 |
| 20. Hasil analisis data uji normalitas B17 terhadap A. <i>niger</i> | 58 |
| 21. Hasil analisis data uji homogenitas B17 terhadap A. <i>niger</i> | 58 |
| 22. Hasil analisis data uji <i>one way</i> ANOVA B17 terhadap A. <i>niger</i> | 58 |
| 23. Hasil analisis data uji <i>post hoc</i> (<i>games howell</i>) B17 terhadap A. <i>niger</i> | 58 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. Karst | 6 |
| 2. Isolat murni <i>Actinomyces</i> Karst Bantimurung | 27 |
| 3. Kurva hubungan lama fermentasi isolat B11 dan B17 pada aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan <i>C. albicans</i> | 30 |
| 4. Profil KLT dengan eluen metanol:air pada ekstrak air | 33 |
| 5. Profil KLT dengan eluen heksan:kloroform:etil asetat pada ekstrak etil asetat | 34 |
| 6. Hasil mikroskopik isolat <i>Actinomyces</i> B11 | 36 |
| 7. Hasil mikroskopik isolat <i>Actinomyces</i> B17 | 37 |
| 8. Pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} dari sampel tanah Karst Bantimurung..... | 61 |
| 9. Miselium aerial isolat <i>Actinomyces</i> B11 dan B12..... | 61 |
| 10. Miselium substrat isolat <i>Actinomyces</i> B11 dan B12..... | 61 |
| 11. Miselium aerial isolat <i>Actinomyces</i> B13 dan B14..... | 61 |
| 12. Miselium substrat isolat <i>Actinomyces</i> B13 dan B14..... | 61 |
| 13. Miselium aerial isolat <i>Actinomyces</i> B15 dan B21..... | 61 |
| 14. Miselium substrat isolat <i>Actinomyces</i> B15 dan B21..... | 61 |
| 15. Miselium aerial isolat <i>Actinomyces</i> B16 dan B17..... | 62 |
| 16. Miselium substrat isolat <i>Actinomyces</i> B16 dan B17..... | 62 |

| | |
|--|----|
| 17. Hasil uji aktivitas ekstrak air dan etil asetat B11 terhadap C. | |
| <i>albicans</i> | 62 |
| 18. Hasil uji aktivitas ekstrak air dan etil asetat B17 terhadap C. | |
| <i>albicans</i> | 62 |
| 19. Hasil uji aktivitas ekstrak air dan etil asetat B11 terhadap <i>A. niger</i> | 62 |
| 20. Hasil uji aktivitas ekstrak air dan etil asetat B17 terhadap <i>A. niger</i> | 62 |
| 21. Hasil KLT ekstrak air B11 dan B17 terhadap semua reagen | 62 |
| 22. Hasil KLT ekstrak etil asetat B11 dan B17 terhadap semua reagen | |
| | 63 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---------------------------------------|---------|
| 1. Skema Kerja Penelitian | 47 |
| 2. Komposisi Medium..... | 48 |
| 3. Tabel Uji Aktivitas Antijamur..... | 49 |
| 4. Analisis Data | 51 |
| 5. Dokumentasi Penelitian..... | 61 |

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Actinomycetes merupakan kelompok bakteri Gram positif yang bersifat aerob dan memiliki hifa aerial seperti pada jamur (Aeny *et al.*, 2018). *Actinomycetes* juga memiliki metabolit bioaktif yang khas dan sangat berguna untuk pengembangan obat pada mikroorganisme yang telah resistensi. Beberapa *Actinomycetes* memiliki peranan sebagai antibiofilm, antikanker, antibiotik, antivirus, antitumor, agen antiparasitik, dan immunosupresan, serta berperan dalam produksi sekitar 23.000 senyawa bioaktif metabolit sekunder (Rattanakavil *et al.*, 2020; Sarika *et al.*, 2021). Bahkan menurut Suryaminarsih *et al.* (2020), *Actinomycetes* juga mampu menghasilkan enzim-enzim pendegradasi dinding sel jamur, yaitu enzim kitinase, lipase dan β -1,3-glukanase sehingga dinding sel jamur dapat rusak. Biosintesis dari metabolit sekunder pada *Actinomycetes* bergantung pada kondisi pertumbuhan tiap strain dari *Actinomycetes* (Jakubiec-Krzesniak *et al.*, 2018).

Bentuk transisi dari *Actinomycetes* membuat bakteri ini mampu untuk memberikan peranannya sebagai antijamur yang merupakan produk alami dan mudah ditemukan (Pujiati, 2014; Sarika *et al.*, 2021). Pilihan terapi untuk infeksi jamur terbatas bahkan sebelumnya mempertimbangkan resistensi antijamur. Hanya terdapat tiga kelas obat yang tersedia untuk

mengobati infeksi sistemik *Candida* dan *Aspergillus* (CDC, 2019). Pengembangan dalam penemuan obat ataupun senyawa antijamur dengan spektrum yang luas dan toksisitas yang rendah sangat dibutuhkan seiring dengan maraknya peningkatan fenomena resistensi jamur patogen dalam hal ini *Candida* dan *Aspergillus*. Kasus resistensi obat pada genus *Candida* ditemukan dalam lebih dari 34.000 serta 1.700 kematian tiap tahunnya (Marquez & Quave, 2020). Resistensi obat menjadi tugas bagi para ahli karena dapat menyebabkan terbatasnya pilihan obat antijamur untuk terapi infeksi yang berat. Perpanjangan penyakit, lamanya waktu rawat inap, meningkatnya risiko kematian, dan menjadi sumber penularan bagi pasien lain merupakan akibat lainnya dari resistensi jamur yang belum tertangani (Yanti, 2017).

Saat ini pencarian *Actinomycetes* telah meluas ke berbagai lokasi dengan kondisi yang unik untuk menjangkau berbagai isolat yang dapat digunakan sebagai senyawa baru antijamur (Marimuthu *et al.*, 2020). Lokasi tersebut salah satunya adalah Kawasan Karst Bantimurung-Bulusaraung. Karst adalah daerah yang sebagian besar tersusun atas batuan karbonat yang telah mengalami proses karstifikasi (Sulastoro, 2013). Indonesia diketahui memiliki kawasan karst mencapai 20% dari luas wilayahnya atau sebesar 15,4 juta hektar (Mubarak *et al.*, 2017; Prakarsa *et al.*, 2021). Beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa sebagian besar kandungan *Actinomycetes* pada karst berasal dari genus *Streptomyces* (Kumalasari *et al.*, 2012).

Kawasan Karst Bantimurung-Bulusaraung merupakan Kawasan karst terluas kedua di dunia yang terletak di Kabupaten Maros-Pangkep (Ngintang & Akbar, 2016). Kawasan ini mendukung untuk dilakukannya eksplorasi diversitas mikroorganisme untuk meningkatkan potensinya dalam ranah kesehatan dan pendidikan dikarenakan masih sedikit informasi diversitas mikroorganisme yang belum banyak terungkap berbanding terbalik dengan sangat kayanya potensi biodiversitas karst (Kumalasari *et al.*, 2012). Keberadaan gua-gua pada kawasan ini juga semakin bernilai sebagai salah satu faktor penarik bagi para ahli dari dalam dan luar negeri dengan menjadikan kawasan ini sebagai galian informasi di atas atau di bawah permukaan karst (Nuhung, 2016). Sehingga, penelitian ini berfokus pada isolasi *Actinomycetes* dari tanah Kawasan Karst Bantimurung yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antijamur dengan melihat daya hambat yang terbentuk terhadap *Candida* dan *Aspergillus*.

I.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat isolat *Actinomycetes* pada sampel tanah dari Kawasan Karst Bantimurung?
2. Bagaimana aktivitas antijamur dari metabolit sekunder isolat *Actinomycetes* yang berasal dari tanah di Kawasan Karst Bantimurung?
3. Apakah golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak dari hasil fermentasi metabolit sekunder isolat aktif *Actinomycetes*?

4. Bagaimana karakteristik mikroskopik dari isolat aktif *Actinomyces* yang berasal dari tanah di Kawasan Karst Bantimurung?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui adanya isolat *Actinomyces* pada sampel tanah dari Kawasan Karst Bantimurung.
2. Untuk mengetahui aktivitas antijamur dari metabolit sekunder isolat *Actinomyces* yang berasal dari tanah di Kawasan Karst Bantimurung.
3. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak dari hasil fermentasi metabolit sekunder isolat aktif *Actinomyces*.
4. Untuk mengetahui karakteristik mikroskopik dari isolat aktif *Actinomyces* yang berasal dari tanah di Kawasan Karst Bantimurung.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Actinomycetes

Actinomycetes merupakan organisme prokariotik yang diklasifikasikan sebagai kelompok bakteri Gram positif, namun uniknya sering disebut sebagai kelompok individu, organisme ini bersifat aerob dengan ukuran 1-2 μm , serta tumbuh dan memiliki hifa aerial seperti fungi (Pepper *et al.*, 2015; Aeny *et al.*, 2018). Perbedaan antara *Actinomycetes* dari bakteri lainnya adalah kecenderungannya untuk bercabang menjadi filamen atau hifa secara struktural menyerupai hifa jamur, hanya saja ukurannya lebih kecil daripada hifa jamur (3-8 μm) yaitu 0,5-1,0 μm (Pepper *et al.*, 2015; Waluyo, 2018). Mikroorganisme ini peka terhadap suasana asam, dan akan lebih baik apabila pada pH 6,0-7,5, dengan suhu pertumbuhan yang baik pada suhu 25°C hingga 30°C. Keadaan lembab dengan aerasi baik, merupakan habitat yang baik namun dalam suasana kering lebih banyak *Actinomycetes* daripada bakteri atau fungi (Kumalasari *et al.*, 2012; Priyono, 2021).

Actinomycetes memiliki metabolit bioaktif yang khas dan sangat berguna pada pengembangan obat untuk mikroorganisme yang telah resistensi. Beberapa dari *Actinomycetes* memiliki peranan sebagai antibakteri, antibiofilm, antijamur, antikanker, antibiotik, antivirus, antitumor, agen antiparasitik, dan imunosupresan (Rattanakavil *et al.*, 2020; Sarika

et al., 2021). *Actinomycetes* juga memiliki peranan penting yang bertanggung jawab atas produksi geosmin (adanya “bau bumi”), yang dapat menyebabkan masalah bau pada air minum (Pepper *et al.*, 2015). Suryaminarsih *et al.* (2020) juga menyebutkan peranan *Actinomycetes* yang mampu menghasilkan enzim-enzim pendegradasi dinding sel jamur, yaitu enzim kitinase, lipase dan β -1,3-glukanase sehingga dinding sel jamur dapat rusak. Biosintesis dari metabolit sekunder pada *Actinomycetes* bergantung pada kondisi pertumbuhan tiap strain dari *Actinomycetes* (Jakubiec-Krzesniak *et al.*, 2018).

Habitat *Actinomycetes* ditemukan pada tanah, air, tanaman, lingkungan yang ekstrim (gurun pasir, dasar lautan, daerah es), manusia, hewan, kompos, padang rumput, tanah hutan, sedimen, lumpur, daerah perakaran tanaman, perairan laut, gua, gurun pasir, dan ekosistem antartika (Ali, 2009; Jakubiec-Krzesniak *et al.*, 2018; Aminullah *et al.*, 2020; Sting *et al.*, 2020).

II.2 Karst Bantimurung



Gambar 1. Karst (Ahmad & Hamzah, 2016)

Karst merupakan istilah dalam bahasa Slovenia yang diturunkan dari bahasa Jerman (*kras*) dan berarti lahan gersang berbatu. Istilah tersebut

diadopsi dengan artian bentuk lahan hasil proses pelarutan (Purnaweni, 2014). *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN) menyebutkan pengertian karst adalah suatu wilayah yang mempunyai bentukan morfologi tunggal atau kompleks yang merupakan hasil dari proses pelarutan batuan oleh air, serta kesatuan sistem batuan, tanah, udara, air, gas, energi, dan kehidupan (Nurkhoiron, 2016).

Pembentukan kawasan karst dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu faktor iklim, tektonik dan litologi. Kawasan Karst Bantimurung terbentuk karena adanya pengaruh struktur geologi akibat proses pelarutan (*karstifikasi*) batu gamping sehingga membentuk berbagai macam bentukan di luar (*eksokarst*). Kondisi geologi regional Karst Bantimurung didominasi oleh satuan batu gamping Formasi Tonasa (Temt) yang berumur Eosen Akhir (40-35 juta tahun) hingga Miosen Tengah (15-10 juta tahun). Secara umum, ketebalan formasi ini dapat mencapai 3000 meter dengan ketebalan tidak kurang dari 1750 m dan menindih batuan Gunungapi Terpropilitkan (Tpv) serta ditindih oleh Formasi Camba (Tmc) (Daryanto & Oktariadi, 2009; Sukamto & Supriatna, 1982).

Secara fisik, kawasan Karst Bantimurung merupakan daerah yang kering dan tandus sehingga penduduk yang tinggal di daerah tersebut mengalami kekurangan air, terutama di musim kemarau. Namun, adanya pengaruh hidrologi kawasan karst yang didominasi oleh sungai-sungai bawah tanah (*subsurface drainage*) menyebabkan adanya potensi untuk

dikembangkan, baik sebagai sumber air minum maupun untuk irigasi (Setiawan *et al.*, 2008).

Kawasan karst ini memperlihatkan juga peranan potensi ekonomi dalam pemanfaatan air yakni terpenuhinya ketersediaan air masyarakat sekitar kawasan karst yang berasal dari sistem sungai bawah permukaan. Selain itu, kawasan karst memiliki peranan sebagai pariwisata, sebagai potensi ilmu pengetahuan, potensi sosial budaya, serta ikut serta berperan dalam pencegahan pemanasan global (Nurkhoiron, 2016).

Potensi flora Kawasan Karst Bantimurung berdasarkan pendataan tahun 2016 memiliki tidak kurang dari 709 jenis flora yang sudah diidentifikasi, 43 jenis *Ficus* yang merupakan *key species* di Kawasan Bantimurung; 116 jenis anggrek alam (11 jenis endemik Sulawesi); serta 6 jenis yang dilindungi. Adapun potensi fauna di Kawasan Karst Bantimurung telah teridentifikasi tidak kurang dari 740 jenis, 52 jenis penting yang dilindungi undang-undang dan 364 jenis endemik Sulawesi, 33 jenis mamalia, 154 jenis burung, 30 jenis reptil, 23 jenis ikan, 41 jenis gastropoda, 331 jenis serangga (Ahmad & Hamzah, 2016).

Potensi abiotik Kawasan Karst Bantimurung berupa adanya kurang lebih 257 gua (216 gua alam dan 41 gua prasejarah), memiliki tebing tertinggi di Sulawesi (1021 meter di atas permukaan laut), adanya tebing mandu, tebing mammiri, tebing rawinta, tebing buntu batu, dan tebing lakisan (Ahmad & Hamzah, 2016).

II.3 Jamur Uji

II.3.1 *Candida albicans*

Klasifikasi pada *Candida albicans* dapat terurai sebagai berikut (ITIS, 2022):

Kingdom : Fungi
Divisi : Ascomycota
Subdivisi : Saccharomycotina
Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Famili : Saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida albicans*

Sel jamur *Candida* berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran 2-5 μm x 3-6 μm sampai 2-5,5 μm x 5-28,5 μm . *Candida* berkembang biak dengan memperbanyak diri dengan spora yang tumbuh dari tunas, yang disebut blastospora. *Candida* memiliki sifat khas seperti menonjol dari permukaan medium, permukaan koloni halus, licin, berwarna putih kekuningan dan berbau ragi. *Candida* dapat berubah menjadi patogen yang menyebabkan penyakit kandidiasis atau kandidosis (Siregar, 2004).

II.3.2 *Aspergillus niger*

Klasifikasi pada *Aspergillus niger* dapat terurai sebagai berikut (CABI, 2022):

Kingdom : Fungi

Filum : Ascomycota
Subfilum : Pezizomycotina
Kelas : Eurotiomycetes
Ordo : Eurotiales
Famili : Trichomaceae
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *Aspergillus niger*

Kelompok jamur *Aspergillus sp.* merupakan salah satu jamur yang bersifat kosmopolit karena memiliki spora dengan ukuran yang sangat kecil dan ringan sehingga mudah tersebar di udara dengan penyebarannya yang sangat luas bahkan mempunyai peran yang sangat besar dalam mencemari bahan-bahan lain. Karakteristik *A. niger* memiliki ciri spora berwarna putih kehitaman dan intensitas warnanya akan bertambah seiring dengan lamanya waktu inkubasi. Bentuk permukaan koloni *A. niger* timbul dengan tekstur yang halus pada medium PDA (*Potato Dextrose Agar*). *Aspergillus niger* memiliki ciri mikroskopis yaitu bentuk vesikel yang bulat dengan diameter berkisar antara 17,52 hingga 23,4 μm . Pada permukaan vesikelnya terdapat sterigma kemudian fialid, dimana konidianya terdapat. Konidia berbentuk bulat dengan kisaran diameter antara 3,5 sampai 4,5 μm . Konidioforanya panjang dan berbentuk silinder serta tidak berwarna (hialin) (Praja & Yudhana, 2017; Putra *et al.*, 2020).

II.4 Antijamur

Antijamur adalah senyawa yang digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur. Sifat antijamur digolongkan menjadi dua, yaitu bersifat sebagai fungistatik yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dan bersifat sebagai fungisidal yang dapat membunuh jamur. Sifat fungisidal dapat menyebabkan jumlah mikroorganisme berkurang hingga habis sehingga tidak dapat melakukan multiplikasi (Djide & Sartini, 2016; Usman & Adi, 2017). Mekanisme kerja obat antijamur terbagi atas beberapa kelompok obat, yaitu (Harvey *et al.*, 2012; Whalen, 2019):

A. Merusak Membran Sel Jamur

Golongan obat antijamur yang berperan dalam merusak membran sel fungi terbagi atas 4 golongan, yaitu:

a. Golongan Polien

Golongan polien terdiri atas amfoterisin B, nistatin, dan natamisin, serta hanamisin. Amfoterisin B bekerja dengan cara mengikat molekul ergosterol pada membran plasma sel jamur sehingga terbentuk pori atau saluran yang dapat meningkatkan permeabilitas membran keluar sel dan membuat kebocoran molekul sehingga kalium dan molekul kecil lainnya melewati pori tersebut yang menyebabkan kematian sel. Adapun mekanisme kerja nistatin sama dengan amfoterisin B dikarenakan nistatin merupakan antibiotik poliena dengan struktur kimia, mekanisme kerja, serta profil resistensi mirip dengan amfoterisin B. Natamisin merupakan

makrolida amfoter polien, memiliki mekanisme yang mirip dengan amfoterisin B dengan sifat antijamur spektrum luas. Hanamisin adalah agen antijamur yang mirip nistatin namun lebih larut dalam air.

b. Golongan Azol

Golongan azol terdiri atas ketokonazol, mikonazol, klotrimazol, flukonazol, itrakonazol, ekonazol, vorikonazol, efinakonazol dan posakonazol. Golongan ini sebagian besar bersifat fungistatik. Golongan azol bekerja dengan cara menghambat 14- α demetilase (enzim sitokrom P450 (CYP450)) sehingga menghalangi demetilasi lanosterol menjadi ergosterol yang mengganggu struktur dan fungsi membran jamur dan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel jamur.

c. Golongan Allilamin

Golongan allilamin terdiri atas terbinafin, naftifin, dan butenafin. Golongan ini disebut juga sebagai golongan penghambat skualene epoksidase. Golongan ini bekerja dengan cara menghambat skualene epoksidase sehingga menghalangi biosintesis ergosterol yang merupakan komponen penting dari membran sel jamur. Akumulasi skualene dalam jumlah besar akan menghasilkan toksik yang menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dan kematian sel jamur.

d. Golongan Ekinokandin

Golongan ekinokandin terdiri atas capsfungin, micafungin, dan antidulafungin. Ekonikandin mengganggu sintesis dinding sel jamur dengan

menghambat sintesis $\beta(1,3)$ -D-glukan yang menyebabkan lisis dan terjadinya kematian sel.

B. Menghambat Mitosis

Golongan obat yang termasuk dalam mekanisme kerja menghambat mitosis adalah griseofulvin. Mekanisme spesifiknya adalah griseofulvin menyebabkan gangguan mitosis spindel sehingga terjadi penghambatan mitosis jamur. Griseofulvin bersifat fungistatik dan memerlukan pengobatan jangka panjang.

C. Menghambat Sintesis Dinding Sel

Golongan obat yang termasuk dalam mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel adalah flusitosin atau dikenal dengan analog pirimidin dan siklopiroks. Flusitosin masuk ke dalam sel melalui permease spesifik sitosin. 5-flusitosin dikonversi menjadi 5-fluorourasil dan 5-fluorodeoksiuridin 5'-monofosfat yang mengakibatkan terganggunya sintesis protein dan asam nukleat. Siklopiroks disebut juga antimikotik piridin bekerja dengan cara menghambat transportasi elemen penting dalam sel jamur sehingga mengganggu sintesis DNA, RNA, dan protein.

D. Menghambat Sintesis Protein

Obat yang termasuk dalam mekanisme kerja menghambat sintesis protein khususnya ribosom adalah tavaborole. Obat ini menghambat sintesis asam ribonukleat transfer aminoasil yang mencegah sintesis protein jamur.

E. Distorsi hifa

Obat yang termasuk dalam mekanisme kerja membuat distorsi hifa adalah tolinaftat. Obat ini merupakan bentuk topikal tiokarbamat yang mendistorsi hifa dan menghambat pertumbuhan miselium pada jamur yang dicurigai.

II.5 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme

Mikroorganisme yang ditumbuhkan pada medium tidak akan segera membelah diri, namun memerlukan jangka waktu tertentu untuk penyesuaian diri. Pertumbuhan mikroorganisme terbagi atas beberapa fase sebagai berikut (Djide & Sartini, 2016):

A. Fase Permulaan

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

B. Fase Pertumbuhan yang Dipercepat

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

C. Fase Pertumbuhan Logaritma

Pada fase pertumbuhan ini, kecepatan pertumbuhan mikroorganisme paling cepat, waktu generasinya pendek dan konstan. Selama fase ini, metabolisme paling cepat dan pesat sehingga sintesis bahan sel sangat

cepat dan konstan. Keadaan ini berlangsung hingga salah satu atau beberapa nutrisi habis atau telah terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun, yang akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme.

D. Fase Pertumbuhan Mulai Terhambat

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

E. Fase Stasioner atau Fase Konstan

Karena adanya penurunan kadar nutrisi dan penimbunan zat-zat yang bersifat racun, maka kecepatan pertumbuhan dan perbanyakan mikroorganisme akan terhambat. Jumlah mikroorganisme yang mati semakin meningkat yang setara dengan jumlah mikroorganisme yang hidup.

F. Fase Kematian yang Dipercepat dan Fase Kematian Logaritma

Kedua fase ini sering disebut sebagai fase penurunan kematian. Kecepatan kematian meningkat terus menerus berbanding terbalik dengan kecepatan pembelahan menjadi nol. Setelah sampai ke fase kematian, logaritma kecepatan kematian mencapai maksimum. Jumlah sel menurun

sesuai dengan deret ukur tetapi penurunan jumlah sel akan mencapai keadaan yang minimum.

II.6 Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba secara *in vitro* terbagi menjadi dua kelompok, yaitu metode difusi dan dilusi. Metode difusi merupakan teknik kualitatif karena metode ini hanya memberikan informasi atau pengetahuan mengenai ada atau tidaknya aktivitas antimikroba dalam suatu sampel uji, sedangkan metode dilusi merupakan teknik kuantitatif yang dapat digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Balouiri *et al.*, 2016).

II.6.1 Metode Difusi

Pada metode difusi, zat antimikroba yang akan diuji aktivitasnya berdifusi pada medium agar yang telah diinokulasi mikroba uji. Dasar pengamatannya adalah dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat pertumbuhan mikroba. Metode difusi dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu metode *disc diffusion* (tes Kirby dan Bauer)/ metode cakram, metode parit, dan metode lubang atau cawan (Balouiri *et al.*, 2016).

II.6.2 Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk mengetahui nilai KHM. Metode dilusi terbagi dua yaitu metode dilusi padat dan metode dilusi cair (Balouiri *et al.*, 2016).

II.6.2.1 Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat dilakukan dengan mencampurkan senyawa antimikroba dari berbagai konsentrasi ke dalam medium agar, dan umumnya digunakan pengenceran dua kali lipat. Konsentrasi hambat minimum akan dideteksi sebagai konsentrasi terendah dari senyawa antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroba setelah diinkubasi pada kondisi yang sesuai (Balouiri *et al.*, 2016).

II.6.2.2 Metode Dilusi Cair

Metode dilusi cair terbagi atas dua metode, yaitu mikrodilusi dan makrodilusi. Pada mikrodilusi dilakukan menggunakan *well plate* dengan volume kecil. Kelebihan metode mikrodilusi yaitu penggunaan reagen yang lebih sedikit dan membutuhkan ruang yang lebih kecil dalam pengerjaannya. Pada metode makrodilusi, pengerjaan dilakukan dengan volume yang lebih besar menggunakan tabung. Kerugian dari metode makrodilusi adalah pengerjaan manual dan melelahkan, risiko terjadinya kesalahan dalam pembuatan larutan antimikroba untuk setiap uji dan memerlukan ruang yang cukup untuk melakukan metode ini (Balouiri *et al.*, 2016).