

**TESIS**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Actinomyces* BERDASARKAN SEKUEN GEN 16S rRNA  
DARI RHIZOSFER TANAH *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl DI DAERAH KARST  
BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIFUNGI**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ACTINOMYCETES BASED ON 16S RRNA GENE  
SEQUENCE FROM RHIZOSPHERE SOIL OF *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl IN THE  
KARST REGION OF BANTIMURUNG AS PRODUCERS OF ANTIFUNGAL COMPOUNDS**

**Maulidiah Alda Sami**

**N012221006**



**PROGRAM STUDI PASCASARJANA FAKULTAS FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Actinomycetes* BERDASARKAN SEKUEN GEN 16S rRNA  
DARI RHIZOSFER TANAH *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl DI DAERAH KARST  
BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIFUNGI**

**Maulidiah Alda Sami**

**N012221006**



**PROGRAM STUDI PASCASARJANA FAKULTAS FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ACTINOMYCETES BASED ON 16S RRNA GENE  
SEQUENCE FROM RHIZOSPHERE SOIL OF *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl IN THE  
KARST REGION OF BANTIMURUNG AS PRODUCERS OF ANTIFUNGAL COMPOUNDS**

**Maulidiah Alda Sami**

**N012221006**



**PROGRAM STUDI PASCASARJANA FAKULTAS FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Actinomyces* BERDASARKAN SEKUEN GEN 16S rRNA  
DARI RHIZOSFER TANAH *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl DI DAERAH KARST  
BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIFUNGI**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

MAULIDIAH ALDA SAMI

N012221006

Kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ACTINOMYCETES BASED ON 16S RRNA GENE  
SEQUENCE FROM RHIZOSPHERE SOIL OF *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl IN THE  
KARST REGION OF BANTIMURUNG AS PRODUCERS OF ANTIFUNGAL COMPOUNDS**

Thesis

As one of the requirements for achieving a magister degree

Study Program Magister of Pharmacy

Prepared and submitted by

MAULIDIAH ALDA SAMI

N012221006

To

**GRADUATE PROGRAM  
HASANUDDIN UNIVERSITY  
MAKASSAR**

## LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ACTINOMYCETES BERDASARKAN SEKUEN GEN 16S  
rRNA DARI RHIZOSFER TANAH *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl DI DAERAH  
KARST BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIFUNGI

**MAULIDIAH ALDA SAMI**

**NIM: N012221006**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Magister Farmasi Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 01 Agustus 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama

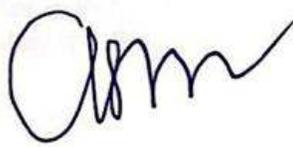
Pembimbing Pendamping

  
Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19771125 2002122 003

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

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin

  
Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt  
NIP. 19800101 200312 1 004

  
Prof. Dr. rer. Nat. Mahantti A. Manggau, Apt  
NIP. 19670319 199203 2 002



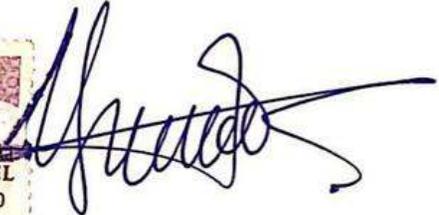
## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *ACTINOMYCETES* BERDASARKAN SEKUEN GEN 16S rRNA DARI RHIZOSFER *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl DI DAERAH KARST BANTIMURUNG SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIFUNGI " adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr.Herlina Rante,S.Si.,M.Si.,Apt. sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si.,Apt sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang di terbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar 05, Agustus 2024



  
**Maulidiah Alda Sami**

**N012221006**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanallahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan tesis penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Herlina Rante, M.Si selaku pembimbing utama dan dosen penasehat akademik yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Prof. Dr. Apt Gemini Alam, M.Siselaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan, motivasi dan sarannya serta meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
3. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si.,Apt; Bapak Prof. Subehan, MPharm.Sc, Ph.D,Apt dan Bapak Abdul Rahim,M.Si.,Ph.D.,Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
5. Dua orang paling berjasa dalam hidup saya, mama saya Mahasmi massa dan Bapak Safaruddin.Terimakasih pengorbanan, cinta, do'a dan motivasi, semangat dan nasehat serta kata-kata yang sering dilontarkan. " Yakin kakak pasti bisa. Libatkan Allah SWT dalam keadaan apapun dan selalu berdoa dan jangan menyerah,karna setiap kesulitan pasti ada jalan untuk bisa dilewati,Tetap semangat" dan juga sangat berarti. Semogah Allah SWT selalu menjaga kalian dalam kebaikan dan kemudahan.
6. Sahabat saya dari S1 sampai sekarang Apt. Sekar Dewi Rahmawati, S.Farm dan Apt. Rina Safitri Ramadhani, S.Farm Terimakasih atas waktu, dukungan dan bantuan yang luar biasa yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.

7. Sahabat saya Kak Nisa , Terimakasih atas waktu, dukungan dan bantuan yang luar biasa yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
8. Sahabat saya AMK SQUAD, Terimakasih atas waktu, dukungan dan bantuan memperbaiki mood dikalah stress menyelesaikan revisi tesis
9. Teman seperjuangan dalam pembimbingan Akmal saputra Ardiono,Dwi Ambar wati, Afifa, Wulan, dan Fadliana atas waktu, dukungan serta bantuanya yang diberikan kepada penulis dari sebelum dan sampai menyelesaikan tesis ini.
10. Teman-teman pascasarjana angkatan 2022, yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
11. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.
12. Terakhir, dari diri saya sendiri, Maulidiah Alda Sami atas segala kerja keras dan semangatnya tidak pernah menyerah dalam mengerjakan tugas akhir Tesis ini. Semoga saya tetap rendah hati karena ini baru awal dari semuanya.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu farmasi. Aamiin.

Makassar, 2024

Maulidiah Alda Sami

## ABSTRAK

Maulidiah Alda Sami. Isolasi Dan Identifikasi Actinomycetes Berdasarkan Sekuen Gen 16s rRNA Dari Rhizosfer Tanah *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl Di Daerah Karst Bantimurung Sebagai Penghasil Senyawa Antifungi (dibimbing oleh Herlina Rante dan Gemini Alam)

*Actinomycetes* adalah bakteri anaerob berbentuk batang atau filamen, Gram positif, yang menghasilkan senyawa antibiotik dan antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengeksplorasi potensi *actinomycetes* sebagai penghasil senyawa antifungi dari rhizosfer *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl di ekosistem karst Bantimurung, Sulawesi Selatan, Indonesia. Skrining primer dan sekunder dilakukan terhadap *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* menggunakan 17 isolat *Actinomycetes* yang diisolasi dari rhizosfer *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl. Seluruh isolat diuji secara antagonis, dan dua isolat yang menunjukkan aktivitas antifungi terbesar diberi kode RKP-A.1-2 dan RKP-B.1-1. Isolat aktif tersebut kemudian difermentasi selama 16 hari pada kecepatan 150 rpm. Hasil fermentasi kemudian disonikasi untuk memisahkan supernatan dan biomassa. Supernatan diekstraksi menggunakan etil asetat (1:1 v/v) dan diuji dengan metode difusi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari fermentasi kedua isolat mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* hingga konsentrasi 0.5 mg/ $\mu$ l dari ekstrak RKP-A.1-2 dan RKP-B.11. Profil senyawa dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* dan ekstrak tanaman karst serta non-karst *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl menunjukkan profil senyawa yang berbeda yang ditandai dengan dilihatnya nilai Rf yang berbed. Analisis filogenik rangkaian sekuen Gen 16S rRNA Menunjukkan Bahwa RKP-A.1-2 dan RKP-B.1-1 Menunjukkan bahwa memiliki kekerabatan dengan *Streptomyces sp* dengan nilai similarity yaitu 100.00%. Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa *actinomycetes* yang berasal dari rhizosfer *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl di ekosistem karst Bantimurung memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antifungi yang menarik untuk dikaji lebih lanjut. Penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam pemahaman dan pemanfaatan mikroorganisme ini sebagai sumber potensial senyawa bioaktif.

**KATA KUNCI :** *Actinomycetes*, Antifungi, Rhizosfer *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl, Karst Bantimurung, Sekuen gen 16S rRNA

## ABSTRACT

Maulidiah Alda Sami. Isolation and Identification of *Actinomycetes* Based on 16s rRNA Gene Sequences from the Rhizosphere soil of *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl in the Karst Region of Bantimurung as a Producer of Antifungal Compounds (supervised by Herlina Rante and Gemini Aalm)

*Actinomycetes* are anaerobic, rod-shaped or filamentous, Gram-positive bacteria that produce antibiotic and antifungal compounds. This study aims to isolate and explore the potential of *actinomycetes* as producers of antifungal compounds from the rhizosphere of *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl in the karst ecosystem of Bantimurung, South Sulawesi, Indonesia. Primary and secondary screenings were conducted against *Candida albicans* and *Aspergillus niger* using 17 *actinomycetes* isolates obtained from the rhizosphere of *Nephrolepis cordifolia*. All isolates were tested for antagonistic activity, and two isolates showing the highest antifungal activity were labeled RKP-A.1-2 and RKP-B.1-1. These active isolates were then fermented for 16 days at 150 rpm. The fermentation results were sonicated to separate the supernatant and biomass. The supernatant was extracted using ethyl acetate (1:1 v/v) and tested using the diffusion method. The testing results showed that the ethyl acetate extracts from the fermentation of both isolates could inhibit the growth of *Candida albicans* at concentrations up to 0.5 mg/μl disk for extracts RKP-A.1-2 and RKP-B.1-1. The secondary metabolite profiles produced by *actinomycetes* and the extracts from karst and non-karst *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl showed different compound profiles, indicated by different Rf values. Phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene sequences showed that RKP-A.1-2 and RKP-B.1-1 are related to *Streptomyces* sp with a similarity value of 100.00%. This research concludes that *actinomycetes* from the rhizosphere of *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl in the karst ecosystem of Bantimurung have potential as producers of antifungal compounds, warranting further investigation. This study provides significant contributions to the understanding and utilization of these microorganisms as potential sources of bioactive compounds.

**Keywords:** *Actinomycetes*, Antifungal, Rhizosphere *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl , Karst Bantimurung, 16S rRNA gene sequence

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAKCIPTA .....	vii
UCAPAN TERIMAKASH .....	vii
ABSTRAK .....	x
ABSTRACT .....	xi
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
BAB PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Tumbuhan paku .....	5
2.2 <i>Actinomycetes</i> .....	8
2.3 Metabolit sekunder .....	11
2.4 Tanah Rhizosfer .....	20
2.5 Antijamur .....	22
2.6 Identifikasi Gen 16S Rrna .....	25
2.7 Karst .....	32
BAB III Metode Penelitian .....	33
3.1 Desain Penelitian dan lokasi penelitian .....	33
3.2 Alat dan bahan .....	33
3.3 Cara Kerja .....	33
Kerangka konsep.....	42
BAB IV Hasil dan Pembahasan .....	43
4.1 Isolasi <i>Actinomycetes</i> .....	43
4.2 Uji Antagonis Isolat <i>Actinomycetes</i> .....	46
4.3 Fermentasi dan Estraksi .....	48
4.4 Uji Aktivitas Antijamur .....	50
4.5 Profil Kromotografi Lapis Tipis.....	51
4.6 Identifikasi Molekuler <i>Actinomycetes</i> .....	54
BAB V PENUTUP .....	59

**5.1 Kesimpulan ..... 59**  
**DAFTAR PUSTAKA ..... 60**  
**LAMPIRAN ..... 67**

## DAFTAR TABEL

TABEL 1 Karakteristik Isolat Actinomycetes pada tanah Rhizosfer tumbuhan paku .....	46
TABEL 2 Hasil uji Antagonis Isolat Actinomycetes .....	47
TABEL 3 Hasil pengukuran Diameter zona hambat antifungi .....	51
Tabel 4 Nilai Rf hasil Kromotografi lapis tipis .....	53
TABEL 5 Hasil <i>Top 10 HIT BLAST</i> .....	58

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Jenis metabolit sekunder .....	13
<b>Gambar 2.</b> Struktur kimia obat turunan terpene .....	14
<b>Gambar 3.</b> Struktur kimia asam fenolat .....	16
<b>Gambar 4 .</b> Struktur kimia flavonoid .....	17
<b>Gambar 5.</b> Struktur kimia stilben dan lignan .....	18
<b>Gambar 6</b> Hasil Isolat Murnit Sampel Actinomycetes .....	44
<b>Gambar 7</b> Isolat Murnit Sampel Actinomycetes Karst Bantimurung .....	44
<b>Gambar 8</b> Kurva hubungan .....	49
<b>Gambar 9</b> Hasil KLT .....	9
<b>Gambar 10.</b> Hasil Visualisasi Elektrofores .....	55
<b>Gambar 11.</b> Pohon Filogenik Isolate .....	57

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Munculnya berbagai penyakit infeksi yang terjadi, mendorong berbagai kalangan peneliti dan ilmuwan mencoba mencari solusi dalam menghadapinya. Kerentanan munculnya penyakit ini disebabkan oleh berbagai faktor diantaranya adanya kesenjangan sosial, angka kemiskinan yang meningkat, perubahan iklim hingga adanya perang bioterorisme. Sebagian besar dari penyakit yang muncul menyebabkan infeksi yang pada umumnya disebabkan oleh mikroba. Berdasarkan data penelitian WHO pada tahun 2014 menunjukkan kematian akibat penyakit infeksi masih relatif tinggi. Setiap tahun penyakit infeksi dapat menyebabkan kematian sekitar 3,5 juta orang (Alwi *et al.*, 2020).

Tingginya jumlah kasus penyakit infeksi serta resistensi antibiotika mendorong dilakukannya eksplorasi terhadap sumber-sumber antibiotik. Sumber mikroorganisme penghasil antibiotik antara lain berasal dari tanah, air laut, lumpur, kompos, isi rumen, limbah domestik bahan makanan busuk dan lain-lain. Namun, kebanyakan mikroba penghasil antibiotika diperoleh dari mikroba tanah. Banyak jasad renik yang diisolasi dari tanah ditemukan memiliki kemampuan menghasilkan zat-zat antibiotik. Mikroorganisme penghasil antibiotik meliputi bakteri *Actinomycetes*, fungi dan beberapa mikroba lainnya, kira-kira 70% antibiotik dihasilkan oleh *Actinomycetes* jenis *Streptomyces*, sedangkan fungi menghasilkan 20% dari antibiotik dan bakteri sebesar 10%. Selain penghasil antibakteri, *Actinomycetes* juga berperan sebagai antifungi (Adriani *et al.*, 2013).

*Actinomycetes* merupakan kelompok bakteri gram positif yang memiliki morfologi mirip dengan fungi yaitu memiliki miselium. Mekanisme pembelahan kompleks yang terjadi pada *Actinomycetes* ini mengakibatkan *Actinomycetes* dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba. Hingga dua pertiga dari semua

antibiotik yang digunakan saat ini adalah produk alami dari *Actinomycetes* atau turunan semi sintetiknya. juga produktif dalam produksi molekul antifungi. Salah satu contohnya yaitu antijamur fluorinated pyrimidine cytosine (5- FC) yang menarget sintesis RNA dan replikasi DNA, polyene yang dapat mempengaruhi integritas membran sel, azole dengan target jalur biosintesis ergosterol, dan echinocandins yang dapat berpengaruh pada biosintesis dinding sel (Delma *et al.*, 2021)

Habitat *Actinomycetes* dapat tersebar luas pada lingkungan yang dapat ditemukan pada daerah padang rumput, lumpur, sedimen, perairan laut, tanah dan pada perakaran tanaman ataupun sekitarnya (Bhatti *et al.*, 2017). *Actinomycetes* pada tanah dapat meningkat populasinya saat aktivitas biologi misalnya daerah tanaman tanah (Fatmawaty, 2013). Tanah merupakan media yang baik tempat tumbuh dan berkembangnya beraneka ragam mikroorganismenya. mikroba bersifat doman, yang akan tumbuh ketika ada kelembapan. Tanah secara alamiah terbentuk sebagai hasil dari kombinasi proses fisik, kimia dan biologi (Panagan, 2011).

Rhizosfer merupakan daerah tanah sekitar tanaman yang merupakan pertemuan akar dan tanah. Pada daerah rhizosfer banyak mengandung unsur hara dan terjadinya pola interaksi antar mikroba sehingga menghasilkan metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan. Diperkirakan sekitar 70% populasi *Actinomycetes* terdapat pada daerah rhizosfer, yang dipengaruhi oleh sifat fisiologis tanah meliputi kondisi tanaman, suhu dan pH tanah. Adanya mikroba dalam rhizosfer baik yang menguntungkan atau merugikan dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman tersebut (Fatmawaty, 2013).

Salah satu mikroorganismenya yang hidup di daerah rizosfer yang kaya akan mineral dan nutrisi adalah jamur mikroskopis yang selanjutnya disebut jamur rizosfer. Jamur rizosfer dapat dimanfaatkan menjadi agen hayati,

dimana jamur ini dilaporkan mempunyai aktivitas antagonis terhadap jamur patogen dengan mekanisme hiperparasitisme dan antibiotik Jamur rizosfer sebagai salah satu faktor biotik, memiliki kemampuan menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit dan juga dapat menyuburkan tanaman (sebagai biofertilizer) (Ni *et al.*, 2018)

Karst adalah daerah yang sebagian besar tersusun atas batuan karbonat yang telah mengalami proses karstifikasi (Sulastro,2013 ). Kawasan karst bantimurung merupakan Kawasan karst terluas didunia yang terletak di kabupaten Maros (Ngintang & Akbar, 2016). Kawasan ini mendukung untuk dilakukannya eksplorasi diversitas mikroorganisme untuk meningkatkan potensinya dalam ranah Kesehatan dan Pendidikan. Maka perlu kiranya dilakukan penelitian didaerah kawasan karst untuk menganalisis jenis mikroorganisme didalamnya yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik yang nantinya dapat digunakan dalam pengobatan ( Mubarak *et al.*,2017). Beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa sebagian besar kandungan *Actinomycetes* pada karst berasal dari genus *Streptomyces* (Kurmalasari *et al.*, 2012).

Tumbuh paku salah satunya yaitu sudah teridentifikasi sebanyak 10.000 spesies salah satunya yaitu *Nephrolepis cordifolia*, adalah pakis asli Australia utara dan Asia yang mempunyai nama umum termasuk pakis tulang ikan, pakis pedang, pakis tangga umbi, dan pedang tegak. *Nephrolepis cordifolia* ini merupakan tumbuhan yang biasanya tumbuh di Kawasan hutan, yang memiliki bahan kimia seperti terpen, steroid, saponin, alkaloid dan digunakan juga sebagai aktivitas antikanker, antidiabetik, aktivitas, antiinflamasi, dan antimikroba (Pal,2021). Dalam penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (El-Tantawy *et al.*2015) menyatakan *Nephrolepis cordifolia* memiliki sifat antibakteri dan antifungi serta aktivitas sitotoksik. Dan menurut penelitian (Renjan *et al.*2021) menyatakan *N cordifolia* (L) yang paling potensial sebagai tanaman obat.

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Yu *et al.*(2020), terdapat aktivitas antijamur yang di isolasi dari tanah rhizosfer terdapat 4 senyawa dan pada penelitian yang dilakukan oleh Sarika *et al.* (2021) dan Elshafie & Camel, (2022) menyatakan bahwa *Actinomycetes* yang telah di isolasi dari tanah memiliki aktivitas yang menjanjikan terhadap produksi metabolit bioaktif pada *Actinomycetes* yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan antifungi,dari hasil isolatnya termasuk dalam genus *Streptomyces*. Ekosistem karst tepatnya dalam gua terdapat potensi actinomycetes yang signifikan untuk di gunakan sebagai agen biostimular,biocontrol, bioremedisasi pada tanah menurut penelitian Farda *et al.*(2022). Dan pada penelitian yang dilakukan oleh Belyagoubi *et al.*, (2018) pada daerah ekosistem karst di gua Chaabe Aljazair, menunjukkan bahwa hasil actinomycetes memiliki keanekaragaman mikroorganisme yang dapat menghasilkan antibiotik baru, dan pada penelitian yang dilakukan oleh Adebiyin *et al.*, (2019) menyatakan bahwa tumbuhan paku jenis *Nephrolepis cordifolia* memiliki senyawa bioaktif dan memiliki aktivitas antimikroba maupun antifungi yang berpotensi untuk pengembangan obat baru.

Berdasarkan informasi di atas akan di lakukan Isolasi Dan Identifikasi Molekuler *Actinomycetes* Tanah Rhizosfer Tumbuhan Paku *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl Di Daerah Karst Bantimurung Sebagai penghasil senyawa Antifungi .

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah aktivitas senyawa antifungi dan isolat *Actinomycetes* tanah rhizosfer tumbuhan paku *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl ?
2. Bagaimana spesies isolate *Actinomycetes* dari tanah rhizosfer tumbuhan paku *Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl berdasarkan sekuen Gen 16S rRNA ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui aktivitas senyawa antifungi dan isolate *Actinomycetes* tanah rhizosfer tumbuhan paku (*Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl) ?
2. Mengetahui spesies isolate *Actinomycetes* dari tanah rhizofer tumbuhan paku (*Nephrolepis cordifolia* (L.) C.Presl) berdasarkan sekuen Gen 16S rRNA ?

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil peneltian ini diharapkan dapat menambahkan ilmu pengetahuan terutama di bidang mikrobiologi dan eksplorasi bahan obat dari produk alam untuk pengembangan penemuan senyawa antifungi yang dihasilkan dari fungi tanpa merusak keanekaragaman hayati yang menjaga kelestarian alam di masa yang akan datang.

## **BAB II**

### **Tinjauan Pustaka**

#### **2.1 Tumbuhan paku (*Nephrolepis cordifolia*)**

Tumbuhan paku merupakan tumbuhan berpembuluh yang primitif dibandingkan tumbuhan tingkat tinggi lainnya, Walaupun telah memiliki kormus, tumbuhan paku belum memiliki biji. Alat perkembangbiakan tumbuhan paku berupa spora, sehingga para ahli taksonomi menggolongkan tumbuhan paku ke dalam Cryptogamae. Ini biasanya disebut sebagai "pakis macho". Beberapa nama umum lainnya digunakan untuk mendeskripsikan *Nephrolepis* meliputi; Pakis pedang, dan pakis Boston (Basse et al., 2020).

Tumbuhan yang tergolong paku-pakuan memiliki keragaman baik ditinjau dari segi habitus maupun dari cara hidupnya. Ada jenis paku-pakuan yang kecil dengan daun yang kecil dan struktur yang masih sangat sederhana, ada pula yang besar dengan daun mencapai ukuran panjang sampai 2 m atau lebih (Hutasuhut et al, 2019)

##### **1. Klasifikasi Tumbuhan**

Kingdom : Plantae  
Division : Pteridophyta  
Class : Polypodiopsida  
Order : Polypodiales  
Family : Davalliaceae  
Genus : *Nephrolepis*  
Spesies : *Nephrolepis cordifolia*  
(Basse et al., 2020).

##### **2. Morfologi**

*Nephrolepis* adalah pakis terestrial yang tumbuh dengan subur membentuk koloni dengan rimpang pendek dan umbi bersisik kecil di ujungnya akar. Mereka mampu tumbuh dalam situasi yang berbeda:

sebagai epifit dan tanaman epilitik dengan daun yang biasanya panjangnya 16–32 inci dan Lebar 4 inci dan tampil sebagai warna hijau cerah. Itu bisa menyebar dengan bantuan spora, stolon, umbi, dan rimpang dan umumnya dikenal seperti pakis pedang tegak, pakis mentega lemon, pakis tangga, dan tulang ikan pakis. Berbagai bagian *Nephrolepis* seperti daun, rimpang, dan rachis ditutupi sangat padat oleh kelenjar epidermis. epidermis ini kelenjar mengandung berbagai zat fitokimia seperti fenolik asam, flavonoid, glikosida, dan alkaloid. Karena adanya zat ini, mereka menunjukkan beberapa aktivitas farmakologis dan mereka ditemukan kurang larut dalam air dan sangat larut dalam organik pelarut seperti etanol, aseton, dan methanol (Pal et al., 2021).

Akarnya bercabang dan adventif dan muncul dari rimpang dan pelari dalam suksesi acropetal. Daunnya berumbai, Panjang sempit dan menyirip. Itu panjang daun 30 - 240 cm. Pinnae banyak, ramai, sering berimbrikasi, 3 -20 cm panjang, agak melengkung dan diartikulasikan di pangkalan. Marginnya utuh atau sedikit crenate.

Pembuluh darah bebas dan ada garis titik putih di atas ujung pembuluh darah. Sori hadir di permukaan bawah. Sori adalah setengah jalan antara pelepah dan margin dalam satu baris, atau submarginal, atau dekat margin, tergantung pada spesiesnya. Indusia biasanya berbentuk bulat – reniform dengan sinus sempit. Terkadang sinus melebar menjadi dasar melengkung yang lebar. Yang muda daun ditutupi dengan rambut dan sisik multiseluler dan menunjukkan venasi melingkar (Bassey et al., 2020).

### **3. Manfaat Tumbuhan Paku**

Tanaman paku merupakan tanaman yang tumbuh subur dan liar di wilayah tropis, kehadirannya dalam dunia pertanian sebagai gulma, namun di sisi lain juga bermanfaat sebagai tanaman obat (hortikultur). Kehadiran tanaman paku sebagai obat diharapkan menjadi alternative bahan baru dalam pengobatan. Tumbuhan paku yang memiliki aktivitas antioksidan

dan antibakteri karena adanya senyawa metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan tersebut, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid (Ibrahim et al 2011).

#### **4. Kandungan Kimia Tumbuhan Paku**

Pada tanaman paku ini memiliki kandungan Metabolit sekunder yang paling banyak ditemui adalah glikosida flavonoid dan flavonol (seperti turunan kaempferol, quercetin, luteolin dan apigenin, quercetin, quercitrin, hyperoside, dll), xanthones, turunan spiropiranosyl dan triterpenoid. Flavonoid lain dengan berbagai bioaktivitas, seperti apigenin, luteolin, naringenin, kaempferol, violanthin atau isoviolanthin, diidentifikasi dalam pakis (Fierascu et al., 2021).

### **2.2 Actinomycetes**

#### **1. Sejarah Actinomycete**

*Actinomycetes* berasal dari bahasa Yunani yaitu terdiri dari "*atkis*" yang berarti sinar dan "*mykes*" yang berarti jamur, memiliki ciri-ciri yang sama antara bakteri dan jamur. Akan tetapi ciri khas yang cukup dimiliki oleh *Actinomycetes* cukup untuk membatasi mereka ke dalam kerajaan bakteri (Bhatti et al., 2017).

Pada 80 tahun yang lalu sekitar tahun 1940 seorang biokimia asal Amerika Serikat bernama Selman Waksman mengisolasi antibiotik pertama dari spesies *Actinomycetes*, yaitu actinomycin A. Tak lama setelahnya, terciptanya beliau mengemukakan istilah "antibiotik," sehingga ia dianggap secara luas sebagai "Bapak Antibiotik". Pada tahun-tahun berikutnya, tim kedokteran dari Waksman kembali berhasil menerapkan teknik seleksi untuk mengidentifikasi zat alami dan mengisolasi lebih dari 20 senyawa tambahan bioaktif baru, sehingga banyak dikenal luas pada era ini disebut "era keemasan penemuan antibiotik". Salah satu senyawa yang diperoleh paling penting di dunia kedokteran adalah streptomisin, yang berhasil diidentifikasi oleh Albert Schatz dan Waksman pada tahun 1943 sebagai produk dari *Streptomyces griseus*. Sebagai penemu

“antibiotik pertama yang efektif melawan tuberkulosis” dia dianugerahi Hadiah Nobel pada tahun 1952. Sejak saat itu, *Actinomycetes* terutama *streptomyces* terus dipelajari secara intensif, tidak hanya karena potensi metaboliknya yang bermanfaat tetapi juga karena struktur biologisnya yang menarik. *Actinomycetes* dicirikan pada siklus hidup yang unik dimana melibatkan pembentukan miselium mirip jamur yang berasal udara yang membawa rantai spora. Spora kemudian siap dilepaskan untuk penyebaran (Mast *et al.*, 2020).

## 2. Deskripsi *Actinomycetes*

*Actinomycetes* adalah bakteri gram positif yang milik kelompok unik mikroorganisme prokariotik yang membentuk miselia dan spora, seperti jamur. *Actinomycetes* adalah sumber senyawa bioaktif yang bermanfaat, dari yang dua pertiga dari semua antibiotik yang diturunkan secara alami dan memiliki banyak obat antikanker, antihelminthic, antijamur, dan obat immunosupresif diturunkan (Liu *et al.*, 2023).

*Actinomycetes* adalah organisme prokariotik yang dikelompokkan kembali ke dalam kelompok taksonomi Bakteri, memainkan peran penting dalam mikrobiota dari semua lingkungan. Kontribusi ini signifikan dalam kondisi yang tidak menguntungkan, seperti habitat salin dan basa, tekanan kekeringan, dan suhu tinggi. Karakteristik seluler (yaitu, Gram-positif, sel memanjang membentuk struktur berserabut atau hifa, dan pembentukan spora) dan keserbagunaan metabolisme memungkinkan bakteri ini untuk hadir dan bertahan hidup di berbagai lingkungan tanah (Farda *et al.*, 2022). Dindingnya terdiri dari berbagai macam senyawa kompleks termasuk asam peptidoglikan, teikoat dan teichuronic dan polisakarida. Peptidoglycan terdiri dari rantai glycan (polisakarida) yang memiliki struktur rantai N asetil-d-glukosamin (NAG) dan asam N-asetil-d-muramat (NAM) dan asam diaminopimelic (DAP), yang berada di dinding sel prokariotik. Teichoic dan asam teichuronic

secara kimiawi terikat pada peptidoglikan. Karena memiliki hifa dan perkembangbiakannya *Actinomyces* dipisahkan kelompoknya dengan bakteri pada umumnya. *Actinomyces* secara historis disebut sebagai jamur dan dianggap memiliki hubungan dengan jamur sejati, seperti jamur roti, karena membentuk miselium dari filamen bercabang (hifa). Namun, tidak seperti jamur umumnya, *Actinomyces* memiliki hifa tipis (0,5-1,5 mikrometer) dengan materi genetik melingkar di dalamnya sebagai DNA. Sel dinding hifa terdiri dari polimer ikatan silang yang mengandung rantai pendek asam amino dan rantai panjang gula amino. Secara umum, *Actinomyces* tidak memiliki organ sel yang terikat ke membran. *Actinomyces* dicirikan oleh struktur berserabut atau batang adanya tonjolan lateral.

*Actinomyces* mengandung dinding sel. Komposisi dinding sel pada *Actinomyces* sangat bervariasi antara kelompok yang berbeda dan memiliki signifikansi taksonomi yang cukup besar. Empat tipe dinding sel utama dibedakan dalam bakteri berserabut ini berdasarkan tiga ciri komposisi dan struktur peptidoglikan. Ciri-ciri tersebut adalah (i) isomer asam diaminopimelic pada posisi rantai samping tetrapeptida 3, (ii) kandungan gula peptidoglikan, dan (iii) adanya glisin pada jembatan inter peptida. Seperti yang dibuktikan, pola gula karakteristik hanya terdapat pada dinding sel tipe II-IV dari *Actinomyces* dengan asam meso-diaminopimelic. Flagela tumbuh di dalam dan di atas substrat. Struktur internalnya berbentuk thallus (jaringan seperti massa yang tumbuh dalam kultur) yang merupakan miselium (massa hifa kusut yang ditemukan di alam) (Bhatti *et al.*, 2017).

### **3. Habitat *Actinomyces***

*Actinomyces* banyak tersebar luas pada lingkungan alam baik di udara, tanah, lumpur, kompos dan sebagainya. *Actinomyces* bersifat saprofit dan bakteri sebagai salah satu agen penting dalam proses siklus karbon karena dapat mendekomposer bahan organik

tanah. Populasi habitat terbesar *Actinomycetes* berada pada tanah dimana lebih dominan berada di tanah alkali kering dan umumnya didominasi oleh bakteri ini (Adriani *et al.*, 2013).

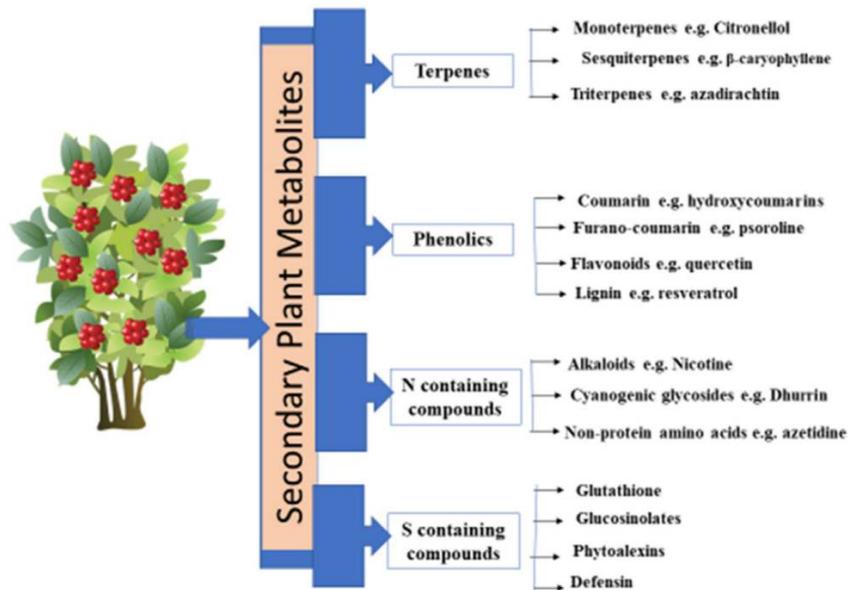
Adanya *Actinomycetes* dapat membuka serangkaian siklus hidup yang unik di antara prokariota dan berperan penting dalam siklus bahan organik di ekosistem tanah. *Actinomycetes* hidup di bawah kondisi yang paling beragam, aerobik dan anaerobik, pada suhu 5-7°C dan 45-70 °C. *Actinomycetes* tumbuh sebagai hifa seperti jamur yang memberi bau khas "tanah" menunjukkan tanah yang sehat. *Actinomycetes* ada di berbagai habitat di alam dan mewakili kelompok mikroba yang tersebar luas di mana-mana dalam sistem lingkungan alam di seluruh dunia. *Actinomycetes* sebagai penghuni tanah dan telah ditemukan tersebar luas di berbagai ekosistem akuatik, termasuk sedimen yang diperoleh dari laut dalam bahkan dari Palung Mariana yang paling dalam dan mungkin ada di lingkungan yang ekstrim terutama di kriofitik daerah Antartika dan bahkan di tanah gurun. Populasi *Actinomycetes* terbesar di lapisan permukaan tanah dan secara bertahap menurun seiring dengan kedalaman; strain *Actinomycetes* individu hadir di semua lapisan tanah. *Actinomycetes* banyak dan tersebar luas di tanah dan berada di samping bakteri dalam jumlah besar. Mereka tersebar luas di tanah, kompos dll dengan nilai perkiraan mulai dari  $10^4$  hingga  $10^8$  per gram tanah (Bhatti *et al.*, 2017).

### 2.3 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah molekul organik kecil yang berasal dari metabolit primer selama emboli tumbuhan; mereka pada dasarnya memiliki massa molekul kurang dari 3000 da. Sifat kimiawi dan komposisi metabolit pada tanaman berbeda-beda jenis. Tidak ada perbedaan yang jelas antara metabolit primer dan sekunder dan ini cukup membingungkan untuk didefinisikan, karena sebagian besar

metabolit dalam produk alami tanaman metabolit sekunder. Metabolit sekunder menarik karena berbagai alasan seperti, dalam literatur, mereka ditemukan menarik karena keragaman strukturalnya dan potensinya sebagai kandidat obat dan/atau antioksidan. Ada beberapa contoh dari keragaman kimia metabolit tumbuhan, sehingga merupakan kompleks yang tidak dapat disintesis oleh industri (Twaij & Hasan, 2022).

Metabolit sekunder tumbuhan meliputi banyak jenis senyawa, seperti flavonoid (flobafen, isoflavonoid, flavanon, flavon, flavonol, proanthocyanidins, anthocyanin), stilben, berbagai asam fenolik, dan monolignol. Fungsi senyawa ini telah ditentukan dan mencakup kekuatan mekanik (komponen dinding sel), molekul pensinyalan, pigmen, pelindung sinar ultraviolet (UV), dan fitoaleksin. v-Myb myeloblastosis viral oncogene homolog (MYB) faktor transkripsi (TF) mewakili salah satu keluarga terbesar dari faktor transkripsi pada tumbuhan. TF MYB ini memiliki fungsi penting dalam pengaturan biosintesis metabolit sekunder pada tumbuhan (Cao et al., 2020). Salah satu contoh metabolit apada fungi atau jamur yaitu *Aspergillus aculeatus* adalah jamur berfilamen milik bagian *Aspergillus Nigri* aspergilli hitam. Memiliki 145 metabolit telah dikarakterisasi dari black aspergilli , banyak di antaranya aktif secara biologis. Naphtho- $\gamma$ -pyrones (NGPs) seperti aurasperone dan rubrofusarin diketahui bersifat antijamur (Petersen et al., 2014).



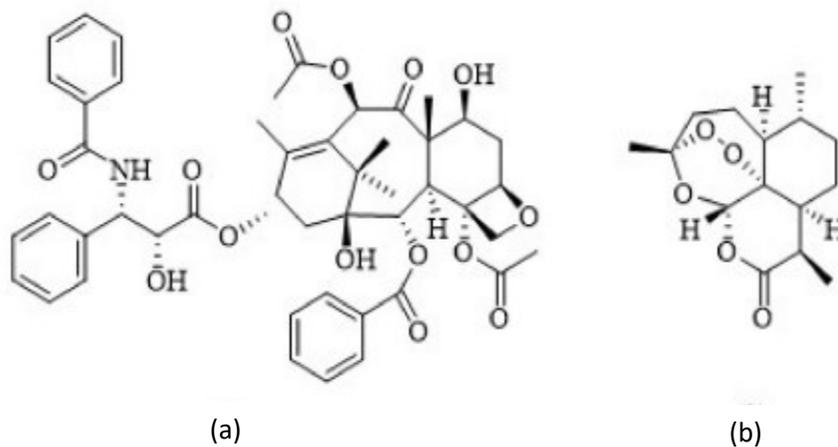
**Gambar 1.** Jenis metabolit sekunder (Divekar et al., 2022)

## 1. Terpen

Terpen adalah kelompok metabolit sekunder tanaman, meskipun Sebagian besar terpen penting dalam petanahan tanaman, beberapa terpen misalnya (Giberelin, Brassinosteroid) terlibat dari fungsi utama, seperti tumbuhan dan perkembangan tanaman. Terpen terdiri dari sekitar 25.000 senyawa, dengan beragam fungsi termasuk pencegahan makan, langsungtoksisitas, atau pencegahan oviposisi. Herbivora spesialis dapat mentolerir terpenoid dan memanfaatkannya mereka sebagai atraktan untuk menemukan tanaman inang mereka dan sebagai perangsang makan. Terpen dapat berfungsi sebagai penarik serangga penyerbuk. Terpen secara tidak langsung melindungi tanaman dengan meningkatkan kemanjuran musuh alami herbivora melalui pelepasan spesifik volatile. Beberapa contoh terpene yang berperan aktif dalam pertahanan tumbuhan adalah iridoid, benzoxazinoid, dan senyawa volatil, seperti mono dan seskuiterpen,  $\alpha$ -bisabolene dan  $\beta$ -caryophyllen (Divekar et al., 2022).

Terpen adalah hidrokarbon sederhana yang memiliki banyak unit isoprena. Sedangkan terpenoid merupakan turunan terpene yang mengandung gugus fungsi berbeda. Terpenoid dapat diklasifikasikan

sebagai berikut: satu unit isoprena (hemiterpenoid), dua unit isoprena (monoterpenoid), tiga unit isoprena (seskiterpenoid), empat unit isoprena (diterpenoid), lima unit isoprena (sesterterpenoid), enam unit isoprena (triterpenoid) dan delapan unit isoprena (tetraterpenoid) sesuai dengan jumlah unit isoprena atau atom karbon yang membentuk terpen induk. Terpenoid telah banyak digunakan untuk pengobatan banyak penyakit karena aktivitas biologisnya yang luas, seperti antimikroba, antikanker, antihiperlipidemia, antihiperqlikemik, antiinflamasi, antioksidan, antiparasit, aktivitas imunomodulator dan antikolinesterasik. (Gambar 2) (1) adalah satu obat kemoterapi berbasis terpen yang paling banyak digunakan dan secara klinis mapan. Sebaliknya, artemisinin (2) merupakan obat lain berbahan dasar terpen yang berasal dari apsintus manis (*Artemisia annua*) yang telah banyak digunakan sebagai obat antimalaria (Min et al., 2022).



**Gambar 2.** Struktur kimia obat turunan terpen (Min et al., 2022)

a. Taksol

b. Dekarbosin

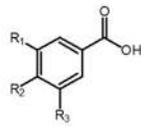
## **2. Senyawa Fenolik**

Fenol tanaman adalah kelompok metabolit sekunder heterogen yang meliputi hampir 10.000 senyawa. Fenolik adalah metabolit sekunder yang paling banyak didistribusikan yang terdiri dari gugus fungsi hidroksil (gugus fenil) pada cincin aromatik. Fenolik adalah beragam senyawa berdasarkan struktur kimia dan terdiri dari fenol sederhana (misalnya, katekol dan turunan asam hidroksibenzoat), flavonoid, katekol melanin, stilben, tanin terkondensasi, dan lignin. Metabolit ini secara aktif terlibat dalam perlindungan tanaman terhadap herbivora dan menarik penyerbuk. Fenolik dapat langsung bertindak sebagai toksin herbivora atau dapat dioksidasi oleh peroksidase atau polifenol oksidase menjadi metabolit toksik yang menyebabkan gangguan fisiologis pada proses pertumbuhan dan perkembangan serangga (Divekar et al., 2022).

### **a. Asam Fenolik**

Sepertiga dari senyawa fenolik makanan adalah asam fenolik, yang terdapat dalam buah-buahan, sayuran, dan sereal. Asam fenolik mengandung satu cincin aromatik dan setidaknya satu gugus asam karboksilat organik. Mereka dapat dibagi menjadi turunan asam benzoat dengan struktur C6-C1 (asam galat, p-hidroksibenzoat, protocatechuic, vanillic, syringic, benzoic) dan asam sinamat dengan struktur C6-C3 (cinnamic, p-coumaric, caffeic, ferulic, sinapic asam) (Gambar 4). Mereka muncul pada tumbuhan sebagai ester atau glikosida yang terkonjugasi dengan senyawa alami lainnya atau pada tingkat yang lebih rendah dalam bentuk asam bebas. (Grgić et al., 2020)

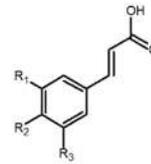
Basic structure of hydroxybenzoic acids



Acid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Benzoic	H	H	H
<i>p</i> -Hydroxybenzoic	H	OH	H
Protocatechuic	OH	OH	H
Vanilic	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Syringic	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
Gallic	OH	OH	OH

(a)

Basic structure of hydroxycinnamic acids



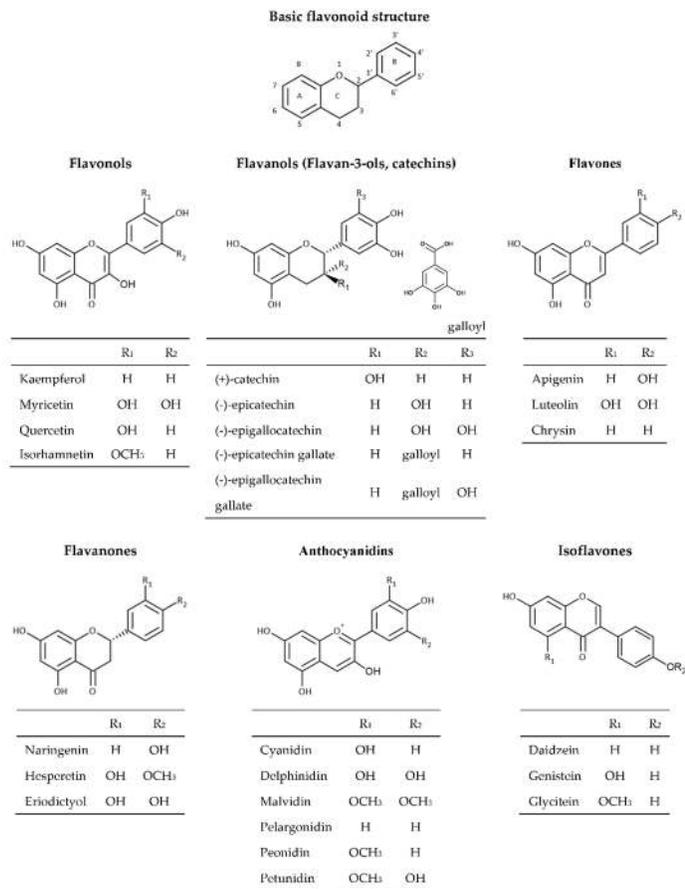
Acid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Cinnamic	H	H	H
<i>p</i> -Coumaric	H	OH	H
Cafeic	OH	OH	H
Ferulic	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Sinapic	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

(b)

**Gambar 3.** Struktur kimia asam fenolat: (a) turunan asam hidroksibenzoat; (B) turunan dari asam hidroksisinasamat (Grgić et al., 2020)

### c. Flavanoid

Flavanoid merupakan kelompok senyawa polifenol yang paling melimpah pada tanaman. Flavanoid struktur didasarkan pada kerangka 15 karbon (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) yang terdiri dari dua cincin benzena A dan B terkait melalui cincin heterosiklik C yang mengandung oksigen (Gambar 5) (Grgić et al., 2020)



**Gambar 4** . Struktur kimia flavonoid (Grgić et al., 2020).

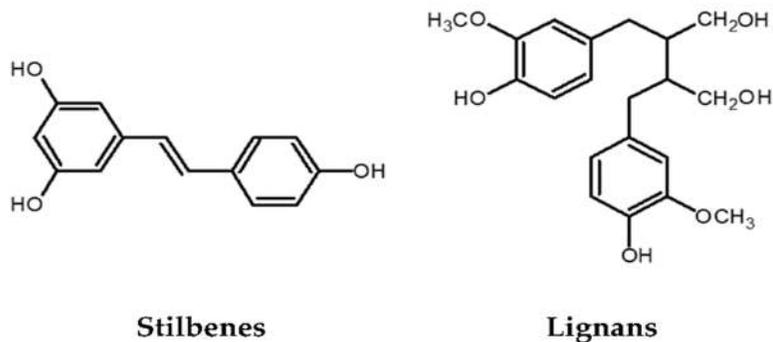
#### d. Stilben

Struktur stilben didasarkan pada tulang punggung C6-C2-C6, yang terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh jembatan etilen (Gambar 3). Salah satu stilben yang dipelajari secara luas adalah resveratrol karena aktivitas biologisnya yang luas termasuk lipolisis adiposit, aktivitas anti-inflamasi, aktivitas antikanker, perlindungan terhadap patologi kardiovaskular dan neurodegeneratif, modulasi proliferasi sel dan angiogenesis, antara lain. Anggur dan produk olahannya (misalnya anggur) merupakan sumber resveratrol yang kaya. Selain resveratrol itu sendiri, oligomernya juga memiliki

berbagai aktivitas biologis (antibakteri, antikanker, aktivitas antioksidan, anti-HIV, dll.). Contoh oligomer, lebih khusus dimer resveratrol, adalah  $\epsilon$ -viniferin. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa polifenol ini memainkan peran penting dalam penghambatan dan perkembangan kanker. Selain  $\epsilon$ -viniferin, dimer resveratrol lain, pallidol, juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada resveratrol saja (Grgić et al., 2020).

#### e. Lignan

Lignan adalah dimer fenolik yang memiliki struktur 2,3-dibenzylbutane (struktur C6-C3-C3-C6) (Gambar 3). Mereka berpartisipasi dalam pembentukan blok bangunan untuk pembentukan lignin, yang bertanggung jawab atas kekakuan struktural dinding sel tumbuhan. Biji (biji rami, biji rami), diikuti oleh kacang-kacangan, biji-bijian, sayuran, teh, kopi, dan anggur merupakan sumber lignan yang kaya. Mereka memiliki sifat antikanker, antioksidan, antihipertensi, antivirus, estrogenik, dan insektisida (Grgić et al., 2020).



**Gambar 5.** Struktur kimia stilben dan lignan.

#### f. Sulfur

peran belerang dalam ketahanan tanaman terhadap penyakit jamur menjadi jelas pada akhir tahun 1980-an ketika endapan belerang di atmosfer sangat berkurang oleh tindakan udara bersih sehingga kekurangan belerang menjadi gangguan nutrisi yang

tersebar luas di pertanian Eropa Barat dan infeksi tanaman. penyakit tertentu menjadi semakin jelas (Künstler et al., 2020).

Metabolit sekunder yang mengandung belerang adalah glukosida yang terutama dilaporkan dari Takson tanaman Brassicaceae dan Capparales. Glukosida adalah turunan dari asam amino dan sekitar 120 struktur molekul telah dilaporkan. Prekursor asam amino dari rantai samping biasanya menentukan jenis glukosida. Konsentrasi yang lebih tinggi dari glucosinolate dilaporkan pada daun yang lebih muda dan bagian reproduksi tanaman. Empat berbagai kelompok glukosida termasuk metabolit yang berasal dari metionin (alifatik glucosinolates), glucosinolates berasal dari tryptophan (indole glucosinolates), glucosinolates berasal dari tyrosine atau phenylalanine (aromatic glucosinolates), dan glucosinolates berasal dari asam amino yang berbeda atau satu asam amino yang tidak diketahui. Glukosinolat adalah biasanya hadir dalam vakuola sel dan ditutupi oleh myrosinases (thioglucosidase). Cedera herbivora mengakibatkan gangguan pada sel tumbuhan, akibatnya glukosinolat dipecah oleh myrosinases menjadi metabolit beracun, seperti nitril, tiosianat dan isotiosianat. Produk pemecahan glukosinolat ini sama efektifnya dengan sintesis insektisida dan telah terbukti sangat beracun bagi serangga herbivora dan untuk mengusir mereka dari makan (Divekar et al., 2022).

#### **g. Nitrogen**

Nitrogen (N) adalah salah satu elemen terpenting yang memiliki dampak sentral pada pertumbuhan dan hasil tanaman. Nitrogen juga banyak terlibat dalam respons stres tanaman, tetapi perannya dalam interaksi inang-patogen kompleks karena masing-masing mempengaruhi yang lain (Sun et al., 2020).

Metabolit sekunder yang mengandung nitrogen termasuk alkaloid. Sampai saat ini, sekitar 10.000 turunan alkaloid yang berbeda telah

dilaporkan di seluruh kerajaan tumbuhan. Alkaloid dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan biosintesis [28]:

- (a) alkaloid sejati (misalnya nikotin, morfin, kina, dan atropin);
- (b) pseudo-alkaloid (mis., capsaicin, solanidine dan kafein);
- (c) proto-alkaloid (misalnya, yohimbine, mescaline dan hordenine).

Baik alkaloid sejati maupun proto-alkaloid berasal dari asam amino; Namun, pseudo-alkaloid tidak dihasilkan dari asam amino. Alkaloid sejati diperoleh dari asam amino dan mereka berbagi cincin heterosiklik yang mengandung nitrogen. Mereka sangat reaktif di alam dan memiliki aktivitas biologis yang kuat. Mereka membentuk garam yang larut dalam air dengan konjugasi dengan asam, dan banyak di antaranya bersifat kristal. Hampir semua alkaloid sejati pahitberasa dan padat, kecuali nikotin yang berupa cairan berwarna coklat. Proto-alkaloid mengandung atom nitrogen, yang berasal dari asam amino tetapi bukan bagian dari cincin heterosiklik sistem. L-triptofan dan L-tirosin adalah prekursor utama alkaloid jenis ini. Ini kelompok minor secara struktural terdiri dari alkaloid sederhana. Yohimbine, mescaline, dan hordenine adalah alkaloid utama dari jenis ini. Alkaloid dilaporkan dari gymnospermae, angiospermae dan genera tumbuhan primitif. Toksisitas alkaloid terhadap herbivora disebabkan oleh gangguan transduksi sinyal saraf, dan gangguan dalam replikasi DNA, protein sintesis dan aktivitas enzim (Divekar et al., 2022).

#### **2.4 Tanah Rhizosfer**

Tanah merupakan lingkungan yang kompleks, terdapat berbagai miliaran mikroba yang mendiami di dalamnya yaitu bakteri, protozoa, alga, virus dan lainnya. Unsur hara dalam tanah diperlukan sebagai perkembangan organisme di sekitar. Unsur hara dapat berasal dari jasad renik hewan maupun tumbuhan. Tanpa adanya mikroorganisme di dalamnya jasad dari organisme tidak akan terurai. Adanya mikroorganisme dan jumlah mikroba bergantung pada jenis tanah dan

sifat fisik tanah berupa suhu, kelembaban, dan pH tanah. Tanah merupakan sistem yang sangat beragam yang terdiri dari berbagai jenis komponen organik dan anorganik.

Salah satu penyusun tanah yang paling esensial adalah mikroorganisme dengan kemampuan mendegradasi sejumlah senyawa dan menciptakan lingkungan tanah yang sangat dinamis dari zat-zat hasil transformasi yang bertindak sebagai dekomposer. Aktivitas mereka menghasilkan bioavailabilitas yang lebih tinggi dari unsur-unsur seperti N, C organik, P, Fe, dan zat lain (Zimek & Hanaka, 2021). Peran yang dapat dilakukan tanah adalah kemampuannya untuk bertindak sebagai lingkungan yang memungkinkan budidaya tanaman untuk menghasilkan tanaman yang berfungsi sebagai makanan untuk konsumsi manusia dan hewan. (Odelade & Babalola, 2019).

Istilah rizosfer berasal dari kata rhiza dan sphere yang berarti akar dan lingkungan pengaruh, masing-masing. Pada tahun 1904, istilah itu diciptakan oleh seorang ahli agronomi yang daerahnya spesialisasinya adalah fisiologi tumbuhan, seorang berkebangsaan Jerman bernama Lorenz Hiltner. Rizosfer menggambarkan antarmuka antara tanaman dan akarnya. Hiltner adalah ilmuwan pertama yang menggambarkan rizosfer sebagai daerah dengan kedekatan yang tinggi (tebal 1–2 mm) dengan akar tumbuhan yang dijajah oleh suatu tumbuhan unik jumlah kuantum microbiome dengan kepentingan ekonomi, dan yang dipengaruhi melalui pabrik senyawa organik akar yang dilepaskan selama reaksi kimia. Bagian aktif utama dari tanah yang melibatkan mekanisme reaksi biogeokimia untuk tujuan mempengaruhi inang lanskap dan praktik skala global disebut sebagai rizosfer. Untuk pemeliharaan kesehatan planet yang bijaksana dan pengayaan organisme (mikroba, tumbuhan, hewan dan manusia) yang

menghuninya, pengetahuan yang lebih baik pemahaman proses ini sangat penting (Odelade & Babalola, 2019).

Rhizosfer adalah daerah yang dekat dengan akar tanaman, tempat terjadinya berbagai interaksi. Bukti terbaru menunjukkan bahwa tanaman mempengaruhi komunitas mikroba rizosfer dengan mengeluarkan berbagai metabolit dan, pada gilirannya, mikroba mempengaruhi pertumbuhan dan kesehatan tanaman. Meskipun pentingnya tanaman metabolit yang diturunkan di rizosfer, relatif sedikit yang diketahui tentang distribusi spatiotemporalnya dan dinamika (Sugiyama, 2019). Jamur rizosfer berperan dalam mendorong pertumbuhan tanaman dan melindungi tanaman dari hama dan pathogen (Sun et al., 2022).

## **2.5 Antijamur**

Infeksi jamur adalah patologi serius yang, meskipun pengobatan yang memadai, memiliki tingkat kematian yang tinggi. Selain itu, selain ketahanan alami pada beberapa spesies, resistensi yang didapat terhadap antijamur juga meningkat. Oleh karena itu, diperlukan alternatif terapi baru (Bidaud et al., 2021)

Antifungi merupakan senyawa atau zat yang dapat menekan dan membunuh fungi. Sifat antifungi ada dua yaitu fungisidal dan fungistatik. Fungisidal merupakan suatu senyawa yang mampu membunuh fungi sedangkan fungistatik adalah senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan fungi tanpa membunuhnya (Zulkarnain *et al.*, 2019).

Golongan obat antifungi terdiri atas (BPOM RI, 2015) :

### **1. Golongan Polien**

Amfoterisin dan nistatin merupakan obat yang termasuk dalam golongan ini. Kedua obat ini tidak diabsorpsi secara oral. Obat ini

digunakan untuk infeksi oral, orofaringeal dan perioral yang diberikan secara topikal di mulut.

- a. Infus amfoterisin intravena digunakan sebagai infeksi jamur sistemik dan aktif terhadap sebagian besar jamur dan ragi. Obat ini terikat kuat pada protein plasma dan penetrasinya masuk hingga ke dalam jaringan dan cairan tubuh buruk. Amfoterisin biasanya bersifat toksik dan efek samping sering terjadi. Sediaan amfoterisin dalam lipid bersifat kurang toksik dan direkomendasikan apabila sediaan konvensional dikontraindikasikan karena toksisitasnya, terutama nefrotoksitas atau jika respon terhadap amfoterisin konvensional tidak memuaskan.
- b. Nistatin biasanya digunakan untuk infeksi yang disebabkan *Candida albicans* pada kulit dan membran mukosa, dan kandidiasis pada usus dan esofageal.

## 2. Golongan Imidazol

Contoh obat golongan imidazol yaitu ekonazol, tiokonazol, sulkonazol, ketokonazol dan klotrimazol. Obat-obat ini biasa dikonsumsi dalam terapi lokal kandidiasis vagina dan infeksi dermatofit.

- a. Ketokonazol pada penggunaan oral diabsorpsi lebih baik dibandingkan dengan golongan imidazol lainnya. Namun obat ini banyak dilaporkan dengan kejadian hepatotoksitas yang cukup fatal. Untuk pemberian per oral, risiko dan manfaat ketokonazol sebaiknya dipertimbangkan secara hati-hati terutama yang berkaitan dengan penyakit hepatotoksitas. Karena itu diperlukan pengamatan klinik dan laboratorium. Pemberian per oral tidak disarankan dalam pengobatan infeksi superfisial.

- b. Mikonazol dapat digunakan secara topikal untuk infeksi pada rongga mulut dan efektif untuk infeksi usus. Absorpsi sistemik dapat terjadi pada pengguna mikonazol oral sehingga dapat menimbulkan interaksi obat yang bermakna.

### 3. Golongan Triazol

Contoh obat yang termasuk golongan ini yaitu flukonazol dan itrakonazol.

- a. Flukonazol diabsorpsi sangat baik dalam pemberian oral. Penetrasi obat ini pada cairan serebro spinal cukup baik sehingga bisa digunakan untuk mengatasi meningitis fungal.
- b. Itrakonazol aktif terhadap semua bentuk infeksi dermatofit. Kapsul itrakonazol memerlukan kondisi asam dalam lambung untuk mendapatkan absorpsi yang optimal. Itrakonazol dapat menyebabkan kerusakan hati dan seharusnya dihindari atau digunakan secara hati-hati pada pasien dengan riwayat penyakit hati terkhusus pada pasien anak. Flukonazol lebih jarang menyebabkan hepatotoksisitas. Vorikonazol merupakan antijamur dengan spektrum luas dan diindikasikan untuk infeksi yang mengancam jiwa.

### 4. Anti Jamur Lain

Griseofulvin banyak digunakan dengan efektif dalam mengatasi infeksi dermatofit yang menyebar dan pada kasus penyakit yang sulit diobati, tapi penggunaannya telah banyak digantikan oleh antijamur yang terbaharui, terutama pada infeksi kuku. Obat ini merupakan pilihan utama dan tepat pada infeksi trichophyton yang umumnya terjadi pada anak. Terapi dapat berlangsung berbulan-bulan tergantung pada tempat infeksi. Terbinafin menjadi pilihan obat yang tepat untuk infeksi jamur pada kuku dan juga untuk mengatasi kurap.

Mekanisme kerja antifungi ada 3 yaitu (Saraswati Apsari *et al.*, 2013)

1. Antijamur yang bekerja pada membran sel jamur

Mekanisme kerja antijamur ini adalah membran sterol jamur. Biasanya kelompok obat ini sering kita jumpai sehari-hari antara lain polyenes, alilamin dan derivat azol.

2. Antijamur yang bekerja pada asam nukleat jamur

Mekanisme antifungi ini bekerja menghambat asam nukleat jamur. Contoh obat yaitu flusitosin yang merupakan pirimidin yang telah mengalami fluorinisasi. Flusitosin masuk ke dalam sel jamur dengan bantuan enzim sitosin yang selanjutnya menjadi fluourasil. Tahap selanjutnya 5-fluourasil diubah menjadi 2 bentuk aktif yaitu 5-fluorouridine triphosphate yang menghambat sintesis RNA, dan 5-fluorodeoxyuridine monophosphate yang menghambat thymidylate synthetase dan akhirnya menghambat pembentukan deoxythymidine triphosphate yang diperlukan untuk sintesis DNA

3. Antijamur yang bekerja pada dinding sel jamur

Dinding sel jamur mengandung mannoprotein, kitin serta alfa, dan beta-glucans yang berperan penting sebagai proteksi, menjaga morfologi sel dan metabolisme, pertukaran ion dan pertahanan terhadap fungsi sistem imunitas sel fungi. Contoh obat golongan ini adalah echinocandins yang bekerja dengan menghambat sintesis  $\beta$ -glucan dinding sel jamur. Produk obat dari echinocandins yaitu anidulafungin, micafungin dan caspofungin.

## 2.6 Identifikasi GEN 16S rRNA

Gen pengkode rRNA digunakan untuk menentukan taksonomi, filogeni (hubungan evolusi) serta memperkirakan jarak keragaman antar spesies (rates of species divergence) bakteri. Perbandingan sekuens rRNA dapat menunjukkan hubungan evolusi antar organisme (Rinanda, 2011). Secara konvensional, identifikasi bakteri di laboratorium mikrobiologi klinik dilakukan dengan menggunakan tes

fenotipe, termasuk tes fisiologi, tes Gram dan tes biokimia, dengan sifat kultur dan karakteristik pertumbuhan. Namun, metode identifikasi ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, organisme dengan karakteristik biokimia yang berbeda dari setiap genus dan spesies yang diketahui kadang-kadang ditemui. Kedua, metode ini tidak dapat digunakan untuk organisme yang tidak dapat dikultur. Ketiga, identifikasi dari beberapa kelompok bakteri tertentu, seperti anerob dan mycobacteria, akan membutuhkan peralatan tambahan dan keahlian khusus, yang tidak tersedia di sebagian besar laboratorium dasar pada umumnya. Dengan menggunakan tehnik sekuensing 16S rRNA, masalah ini dapat ditangani dengan satu teknologi, yang juga memfasilitasi penemuan genus dan spesies baru.

Karakteristik Gen 16S rRNA Panjang urutan gen 16S rRNA adalah sekitar 1.550 bp dan terdiri dari daerah yang dilestarikan (conserved regions). Gen ini relatif cukup besar, dengan polimorfisme interspesifik, untuk memperlihatkan perbedaan dan pengukuran yang valid secara statistik. Primer universal biasanya digunakan sebagai pelengkap ke daerah yang dilestarikan pada bagian awal gen dan di kedua wilayah 540-bp atau pada akhir urutan (sekitar wilayah 1.550 bp), dan urutan pada daerah variabel diantaranya digunakan untuk taksonomi perbandingan (Chen, 1989). Meskipun ukuran yang umum digunakan untuk sekuens dan membandingkan adalah 500 dan 1.500 bp, namun urutan dalam database dapat lebih bervariasi.

Gen 16S rRNA bersifat universal untuk bakteri, sehingga hubungan filogeni dapat diukur antar semua spesies bakteri (Woese et al., 1985). Secara umum, perbandingan urutan gen 16S rRNA memungkinkan diferensiasi antar organisme di tingkat genus pada semua filum utama bakteri dengan tujuan mengklasifikasikan galur di berbagai tingkat, termasuk dalam tingkat spesies dan sub spesies

sekuensing 16S adalah apakah perlu untuk mensekuensing keseluruhan urutan sepanjang 1.500 bp atau apakah cukup mensekuensing urutan yang lebih pendek karena hal ini sering dilaporkan dapat memberikan informasi yang sebanding. Terkadang sekuensing keseluruhan 1.500 bp perlu dilakukan untuk membedakan antar taksa atau galur tertentu. Sekuensing keseluruhan juga biasanya diperlukan ketika mendeskripsikan spesies baru. Namun, bagi sebagian besar bakteri klinis, urutan sekuens awal sepanjang 500 bp dapat memberikan diferensiasi dan informasi yang memadai untuk identifikasi bahkan dapat memberikan perbedaan persen lebih besar antar galur. Secara praktis, menggunakan sekuensing sepanjang 500 bp juga lebih mudah dan murah karena memerlukan pereaksi yang tidak terlalu banyak.

Keistimewaan Analisis 16S rRNA Berikut adalah beberapa keistimewaan analisis 16S rRNA untuk identifikasi bakteri yang dirangkum oleh Woo et al. (2008):

1. Mengidentifikasi bakteri langka dan bakteri bakteri yang memiliki profil fenotipik yang unik.
2. Mengidentifikasi bakteri yang memiliki pertumbuhan lambat (seperti *Mycobacterium*) yang mungkin memakan waktu 6-8 minggu untuk tumbuh dalam kultur.
3. Digunakan dalam identifikasi rutin. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membandingkan kegunaan sekuensing 16S rRNA dengan metode konvensional untuk mengidentifikasi berbagai kelompok bakteri medis penting. Secara umum, hasil sekuensing 16S rRNA memiliki persentase spesies yang teridentifikasi lebih tinggi daripada metode konvensional.
4. Berperan dalam penemuan spesies dan genus bakteri baru.

Dengan menggunakan sekuens 16S rDNA, 215 spesies bakteri baru, 29 di antaranya merupakan genus baru, telah ditemukan dari spesimen manusia dalam 7 tahun terakhir dari abad ke-21

#### 5. Mendeteksi bakteri yang tidak dapat dikultur dan mendiagnosis infeksi yang disebabkan.

Pengkulturan bakteri telah menjadi teknik yang paling penting untuk mendiagnosis infeksi bakteri sejak kelahiran mikrobiologi. Teori postulat Koch mengemukakan bahwa patogen harus dapat ditumbuhkan dalam kultur murni. Pernyataan spesifik ini telah diperbarui, setelah disadari adanya bakteri yang tidak dapat dikultur namun memiliki fungsi klinis yang penting seperti *Treponema pallidum*. Di antara berbagai tes molekuler yang tersedia, sekuensing 16S rRNA menjadi teknik yang penting untuk mendeteksi bakteri yang tidak dapat dikultur. Sifatnya yang universal dan urutan gen yang konservatif memudahkan perancangan berbagai primer PCR. Karakteristik ini sangat penting dan praktis untuk mendiagnosis penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

Langkah-Langkah dalam Identifikasi Menggunakan Metode 16S rRNA Secara umum, langkah-langkah yang diperlukan dalam menganalisis daerah 16S rRNA bakteri adalah sebagai berikut:

##### 1. **Ekstraksi DNA Bakteri**

Terdapat beberapa metode ekstraksi DNA yang dapat digunakan untuk sekuensing 16S rRNA. Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada sumber sampel DNA dan tingkat kemurnian yang diinginkan. Saat ini, telah banyak kit yang tersedia di pasaran untuk mencapai hasil yang efisien dan hasil yang murni dalam waktu singkat. Untuk melepaskan DNA dari sel, membran sel harus dihancurkan terlebih dahulu. Metode umum yang digunakan pada bakteri adalah dengan menggunakan enzim lysozyme. Enzim ini memotong peptidoglikan yaitu komponen utama dalam dinding sel

bakteri. Selanjutnya, dilakukan penambahan deterjen Sodium dodecyl sulfate (SDS) bertujuan untuk menghancurkan lapisan lemak pada membran .

Protein merupakan pengotor utama dalam ekstraksi DNA dari bakteri dan dapat dirusak dengan menambahkan proteinase. Fenol digunakan untuk mengekstrak protein sel. Pelarut organik ini dapat mengendapkan protein tetapi membiarkan asam nukleat (DNA dan RNA) tetap dalam larutan

## **2. Amplifikasi gen 16S rRNA**

DNA yang telah diekstraksi digunakan sebagai cetakan untuk mengamplifikasi segmen sekitar 500 atau 1.500 bp dari urutan gen 16S rRNA menggunakan Polymerase chain reaction (PCR). Primer yang umum atau primer universal yang komplementer dengan daerah yang dilestarikan digunakan sehingga daerah tersebut dapat diamplifikasi dari bakteri apa saja. Produk PCR kemudian dimurnikan untuk menghilangkan kelebihan primer dan nukleotida.

## **3. Elektroforesis**

Langkah berikutnya adalah proses visualisasi gen 16S rRNA. Gen yang telah diamplifikasi, dipisahkan dengan menggunakan elektroforesis gel. Visualisasi dilakukan menggunakan pewarna tertentu dan dideteksi dengan sinar UV pada UV-transiluminator. Hasil deteksi ini dapat didokumentasikan menggunakan alat khusus yang disebut gel documentation system (gel-doc).

## **4. Sekuensing**

DNA Setelah kita mengetahui panjang dari basa terminal dari setiap fragmen, urutan basa dapat ditentukan. DNA Sekuensing dapat dilakukan baik dengan Metode Sanger atau dengan menggunakan Sequencers DNA modern. Saat ini, ketersediaan alat di Indonesia masih sangat terbatas, sehingga biasanya untuk melakukan proses sekuensing, laboratorium/peneliti mengirimkan

sampel melalui jasa sekuensing yang terdapat di luar negeri maupun laboratorium terpilih di Indonesia.

## **5. Membandingkan Hasil Sekuensing**

Data Hasil sekuensing kemudian digunakan untuk melakukan pencarian kemiripan sekuen dengan database yang tersedia. Tehnik yang umum digunakan adalah Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) dengan menggunakan (Noer, 2021).

## **6. Blast**

Blast adalah algoritma yang digunakan untuk perbandingan asam amino urutan protein yang berbeda atau nukleotida urutan asam nukleat. BLAST ditemukan pada tahun 1990 dan sejak saat itu menjadi standar de facto di alat pencarian dan penyelarasan. Melalui pencarian BLAST, seseorang dapat membandingkan kueri urutan dengan database urutan, dan sesuai mengidentifikasi urutan perpustakaan yang memiliki kemiripan dengan urutan kueri di atas ambang tertentu. Berdasarkan perbandingan seperti itu, BLAST dapat digunakan untuk mencapai beberapa tujuan termasuk identifikasi spesies, lokasi domain, pemetaan DNA dan anotasi. Ada beberapa jenis BLAST program yang tersedia, dan pilihan BLAST program tergantung pada tujuan seseorang dan jenisnya, Program Jenis urutan kueri Jenis urutan target BLASTP Protein Protein BLASTN Nukleotida Nukleotida BLASTX Nukleotida (diterjemahkan) Protein TBLASTN Protein Nukleotida (diterjemahkan) TBLASTX Nukleotida (diterjemahkan) Nukleotida (diterjemahkan).

Cara kerja BLAST didasarkan pada algoritma heuristic. Algoritma heuristic adalah algoritma yang menyediakan hampir jawaban yang benar atau solusi untuk beberapa contoh masalah.

Melalui pendekatan heuristic, BLAST mengidentifikasi urutan homolog dengan menempatkan pertandingan singkat antara dua urutan sedang dibandingkan. Proses ini disebut sebagai penyemaian,

dan itu setelah pertandingan awal inilah BLAST mulai membuat local keberpihakan. Selama proses penyemaian, BLAST mencoba untuk menemukan semua kata tiga huruf yang umum di antara urutan minat dan urutan hit, atau urutan, dari basis data. Dalam konteks ini, kata itu sederhana didefinisikan sebagai sejumlah huruf. Misalnya, untuk ledakan, ukuran kata default adalah 3  $W=3$ . Jika urutan kueri memiliki ABCDE, kata yang dicari adalah ABC, BCD, CDE. Setelah mensintesis kata-kata untuk urutan minat tertentu, kata-kata tetangga juga dirangkai. Sekali keduanya dibandingkan dengan urutan database untuk menemukan pertandingan. Penyelarasan, yang biasanya 3 residu panjang, diperpanjang di kedua arah oleh BLAST algoritma. Setiap ekstensi menambah atau mengurangi skor keselarasan, dan harus skor lebih tinggi dari ambang batas yang ditentukan sebelumnya, keselarasan akan termasuk dalam hasil yang diberikan oleh BLAST. Namun, harus skor ini jatuh di bawah ambang batas yang telah ditentukan, yaitu penyelarasan akan berhenti memanjang, sehingga memblokir area keselarasan yang buruk untuk dimasukkan dalam hasil BLAST. Itu aspek statistik rinci yang terlibat dalam BLAST algoritma.

Output BLAST dapat dengan mudah dihasilkan dengan mengirimkan urutan permintaan di situs NCBI <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>. Output dari BLAST pencarian terdiri dari empat bagian. Yang pertama adalah tajuk yaitu tentang deskripsi program BLAST digunakan, urutan kueri dan database target; itu bagian kedua dari output adalah daftar urutan yang ditampilkan keberpihakan yang signifikan, bersama dengan kedua skor yang dinormalisasi dan mengharapkan (E) nilai; bagian ketiga merangkum keberpihakan dan informasi statistik terkait, termasuk skor mentah dan bit, nilai E, dan tingkat identitas, untuk setiap penyelarasan skor tinggi. Bagian keempat menampilkan semua parameter yang digunakan

dalam pencarian BLAST. Nilai E mewakili indikator statistik yang lebih baik tentang bagaimana signifikan pertandingan tertentu adalah. Menurut definisi, nilai E setara dengan jumlah urutan yang terjadi di database, yang diharapkan cocok dengan kueri yang diberikan urutan setidaknya sebaik urutan yang tercantum, jika hubungan antara urutan itu acak (Eric et al., 2014).

## **2.7 Karst**

Istilah Karst berasal dari bahasa Slovenia yaitu Kras, yang merupakan suatu daerah di timur laut kota Trieste, Slovenia. Istilah tersebut diberikan oleh seorang geologawan abad ke-19 yang pada saat itu meneliti daerah tersebut dan melihat adanya kekhasan dalam bentang alam di kawasan Kras dan akhirnya mengabadikan kekhasan bentang alam tersebut dengan istilah "Karst". Menurut Ford & William (2007), karst adalah daerah yang memiliki bentang alam dan pola hidrologi khusus yang terbentuk dari kombinasi sifat batuan yang memiliki tingkat kelarutan tinggi dan porositas sekunder yang berkembang dengan baik. Secara umum, kawasan karst terdiri dari bagian eksokarst (bagian atas permukaan karst) dan endokarst (bagian bawah permukaan karst).

Di Indonesia sendiri, kawasan karst tersebar di berbagai daerah, mulai dari Gunung Kidul di Pulau Jawa, Pulau Madura, Pulau Bali, Maros di Pulau Sulawesi, Pulau Papua, serta pulau-pulau lainnya di perairan Indonesia Bagian Timur. Ekosistem Karst terdiri dari bagian-bagian yang unik dan sensitif terhadap kerusakan lingkungan, berupa sungai bawah tanah, gua-gua, serta bagian epikarst. Bagian-bagian unik dan rentan inilah yang membuat Ekosistem Karst perlu dilindungi, disamping fungsi-fungsi lainnya bagi lingkungan hidup.

Ekosistem Karst merupakan sebuah bentang alam dengan keunikan tersendiri dan memiliki sifat yang sangat rapuh atau irreversible. Ekosistem ini memiliki fungsi yang sangat penting baik

dalam kaitannya dengan lingkungan hidup maupun nilai sosial, budaya dan ekonominya. Melihat keunikan dan fungsi strategisnya (Widyaningsih, 2017)