

**ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI DARI RIZOSFER TUMBUHAN DAERAH
KARST DITAMAN WISATA BANTIMURUNG**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES PRODUCING
ANTIBACTERIAL COMPOUNDS FROM RIZOSPHERE
OF PLANTS IN THE AREA OF KARST AT
BANTIMURUNG TOURISM PARK**

**EKSA DIANTI
N111 15 325**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



Optimization Software:
www.balesio.com

**ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI
DARI RIZOSFER TUMBUHAN DAERAH KARST DITAMAN WISATA
BANTIMURUNG**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES PRODUCING ANTIBACTERIAL
COMPOUNDS FROM RIZOSPHERE OF PLANTS IN THE AREA OF
KARST AT BANTIMURUNG TOURISM PARK**

SKRIPSI

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

**EKSA DIANTI
N111 15 325**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



**ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI
DARI RIZOSFER TUMBUHAN DAERAH KARST SITAMAN WISATA
BANTIMURUNG**

EKSA DIANTI

N111 15 325

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


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


Prof. Dr. M. Natsir Diide, MS., Apt.
NIP.19500817 197903 1 003

Pada tanggal : 9 Mei 2019



SKRIPSI

**ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI
DARI RIZOSFER TUMBUHAN DAERAH KARST DITAMAN WISATA
BANTIMURUNG**

**ISOLATION OF ACTINOMYCETES PRODUCING ANTIBACTERIAL
COMPOUNDS FROM RIZOSPHERE OF PLANTS IN THE AREA OF
KARST AT BANTIMURUNG TOURISM PARK**

Disusun dan diajukan oleh :

**EKSA DIANTI
N111 15 325**

**Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 9 Mei 2019
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
2. Sekretaris : Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt.
3. Anggota : Dra. Aisyah Fatmawati, M.Si., Apt.
4. Anggota : Ismail, S.Si., M.Si., Apt



**Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin**



**Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 1999002 1 005**



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

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

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

Makassar, 9 Mei 2019

Yang menyatakan,

METERAI
TEMPEL

0DDFFAFF818046811

6000
ENAM RIBU RUPIAH


Eksa Dianti

N11115325



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbilalamin. Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi Actinomycetes Penghasil Senyawa Antibakteri dari Rizosfer Tumbuhan Karst Ditaman Wisata Bantimurung” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin ini dapat terselesaikan. Shalawat serta salam tidak lupa selalu tercurahkan kepada Rasulullah Shalallahu ‘Alaihi Wasallam yang telah membawa umat islam ke jalan yang diberkahi Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini sangat banyak tantangan yang dihadapi. Namun berkata adanya bantuan dan doa dari berbagai pihak, sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini. Oleh sebab itu, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si.,Apt selaku penasehat akademik penulis yang telah memberikan banyak nasehat selama mengikuti perkuliahan. Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan partisipasi dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa hormat, syukur, dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si.,Apt selaku pembimbing utama

dan bapak Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt. selaku pembimbing
penyempit atas keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu



dan pikirannya dalam memberikan pengarahannya, bimbingan, saran, nasehat serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Satbar dan Ibu Dyah selaku orang tua penulis, yang memberikan banyak kasih sayang, doa, motivasi, dan pengorbanan serta selalu bersabar dalam mendidik penulis dari kecil hingga sekarang ini. Juga buat adikku tercinta Muhammad Ackhwan yang selalu memberikan semangat dan dukungan meskipun berada jauh dari penulis sehingga penulis bisa untuk menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan rasa terima kasih kepada :

1. Dekan dan Wakil Dekan Fakultas Farmasi, seluruh staf pengajar dan staf pegawai dan laboran Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam proses menyelesaikan studi kami.
2. Tim penguji ibu Dra. Aisyah Fatmawati, M.Si., Apt. dan bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt atas waktu, saran dan arahan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Laboran Laboratorium Mikrobiologi dan Farmasetika Fakultas Farmasi kepada Ibu Haslia, S.Si. dan Ibu Sumiati, S.Si yang selalu banyak membantu selama penelitian berlangsung hingga selesai.
4. Juspidayanti sebagai rekan penulis dalam penelitian yang selalu membantu penulis selama melaksanakan penelitian.



5. Sahabat-sahabat penulis Inna, Yusti, Cece, Risda, Juspida, Ummi, Sinni, Julio yang selalu memberikan semangat dan bantuan selama ini
6. Korps Asisten Mikrobiologi Farmasi yang selalu memberikan doa dan semangat kepada penulis
7. Keluarga Besar Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH), khususnya saudaraku angkatan 2015 (PO15ON) yang telah banyak memberikan keceriaan, kenangan dan kebersamaan dalam menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
8. Teman rantau seperjuangan penulis Giscka, Sarah, Risda, Yayan, dan Ifa yang senantiasa memberikan semangat, motivasi dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman seperjuangan KKN Desa Towata Kec.Polongbangkeng Utara Kab. Takalar Saudara Ali, Rifqi, Andul, Mia, Kak zaenab, Ningsih, Orin, Uni, Tuti.
10. Serta berbagai pihak yang telah membantu penulis yang tidak sempat disebutkan namanya satu per satu.

Penulis menyadari akan segala keterbatasan yang penulis miliki sehingga skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan dalam penyusunannya. Oleh karena

penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai



pihak. Dengan demikian penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin yaa Rabbal'alaamiin.

Makassar, 9 Mei 2019

Eksa Dianti



ABSTRAK

EKSA DIANTI ISOLASI *ACTINOMYCETES* PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI DARI RIZOSFER TUMBUHAN DAERAH KARST DITAMAN WISATA BANTIMURUNG

(dibimbing oleh Herlina Rantedan M. Natsir Djide)

Actinomycetes merupakan bakteri Gram positif yang memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa bioaktif dan diketahui berpotensi sebagai agen penghasil antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat *actinomycetes* yang telah diperoleh dari tanah tempat tumbuh karst yang berada di area bantimurung. Sampel disolasi dengan metode tuang menggunakan medium SNA (*Starch Nitrate Agar*) Dan diinkubasi selama 8 x 24 jam . Sebanyak 3 isolat *actinomycetes* telah berhasil di isolasi yang diberi kode T1, T2a, dan T2b. Tiap isolat dimurnikan dengan metode gores sinambung, hingga diperoleh isolat murni yang dilanjutkan dengan uji antagonis. Hasil uji antagonis dari 3 isolat, diperoleh hanya 2 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *S.aureus* dan *E.coli* yakni isolat T1 dan T2b. Kedua isolat murni *actinomycetes* difermentasi selama 7 hari (Isolat T1) dan 3 hari (Isolat T2b), yang kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat (1/1). Biomassa yang dihasilkan, kemudian dimaserasi menggunakan metanol. Ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol yang telah diperoleh dilanjutkan pada uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar terhadap bakteri uji *S.aureus* dan *E.coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 2,5%; 5%; 10% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *S.aureus* dan *E.coli* yang lebih baik dari ekstrak metanol. Berdasarkan hasil pengujian mikroskopik diperoleh bahwa kedua isolat diduga merupakan genus *Streptomyces* sp spora rantai panjang dengan tipe *closed spiral* (isolat T1) dan tipe *flexeous* (Isolat T2b).

Kata Kunci : *Actinomycetes*, Aktivitas Antibakteri, Karst, Rizosfer



ABSTRACT

EKSA DIANTI ISOLATION OF ACTINOMYCETES PRODUCING ANTIBACTERIAL COMPOUNDS FROM RIZOSPHERE OF PLANTS IN THE AREA OF KARST AT BANTIMURUNG TOURISM PARK
(Supervised by Herlina Rante and M. Natsir Djide)

Actinomycetes is a gram-positive bacteria which has the ability to produce bioactive compounds and known as potential agents in producing antibiotics. The aim of the study is determining antibacterial activity of actinomycetes isolates collected from soil where karst plant grew in the area of Bantimurung. Samples then isolated using pour plate method with SNA (*Starch Nitrate Agar*) media and incubated for 8 x 24 hours. Three isolates of *actinomycetes* were successfully isolated, encoded as T1, T2a, and T2b. Each isolate was purified by a continuous streaks method. After pure isolates were obtained, the research continued to an antagonist test. The result showed that, from 3 isolates, only 2 isolates were able to inhibit the growth of *S.aureus* and *E.coli*, both are known as T1 and T2b isolates. The pure isolates are fermented in 7 days for T1 and 3 days for T2b, furthermore they were extracted using ethyl acetate (1:1). Biomass produced from extraction process are macerated using methanol. The ethyl acetate extract and methanol extract obtained were tested for antibacterial activity using diffusion method against *S.aureus* and *E.coli*. The results showed that ethyl acetate extract with a concentration of 2.5%; 5%; 10% had antibacterial activity against *S.aureus* and *E.coli* bacteria better than those isolate extracted with methanol. Based on microscopic results it was found that the two isolates were thought to be in the genus of *Streptomyces* sp, identified from the long chain spores with closed spiral type (T1 isolate) and flexuous type (T2b Isolate).

Keywords : *Actinomycetes*, Antibacterial activity, Karst plants, Rhizosphere



DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Actinomycetes	5
II.1.1 Karakteristik dan lingkungan actinomycetes	5
II.1.2 Klasifikasi Actinomycetes	9
II.1.3 Fase Pertumbuhan	10
II.2 Klasifikasi Tumbuhan	12
II.3 Kawasan Karst	13
Kawasan Karst Bantimurung Bulusaraung	14
Antimikroba	14



II.5	Bakteri Uji	17
II.6.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	17
II.6.2	<i>Escherichia coli</i>	17
II.7	Pengujian Aktivitas Antibiotika	18
II.7.1	Metode Difusi	18
II.7.2	Metode Dilusi	19
BAB III	METODE PENELITIAN	20
III.1	Alat dan Bahan	21
III.2	Metode Kerja	21
III.2.1	Sterilisasi Alat	21
III.2.2	Pembuatan Medium	22
III.2.2.1	Pembuatan Medium NA (<i>Nutrient Agar</i>)	22
III.2.2.2	Pembuatan Medium SNA (<i>Starch Nitrate Agar</i>)	22
III.2.2.3	Pembuatan Medium SNB (<i>Starch Nitrate Broth</i>)	22
III.2.3	Pengambilan dan Penyiapan Sampel	23
III.2.3.1	Pengambilan Sampel	23
III.2.3.2	Penyiapan Suspensi Sampel	23
III.2.4	Isolasi <i>Actinomycetes</i> dan Pemurnian <i>Actinomycetes</i>	23
III.2.5	Penyiapan Mikroba Uji	24
III.2.6	Uji Antagonis	24
III.2.7	Fermentasi Isolat <i>Actinomycetes</i>	25
8	Ekstraksi Hasil Fermentasi	25
9	Pengujian Aktivitas Antibiotika	25



III.2.10	Pengamatan Morfologi Mikroba	25
III.2.11	Pengumpulan dan Analisis Data	26
III.2.12	Pengambilan kesimpulan	26
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	27
IV.1	Isolasi Bakteri Actinomycetes	27
IV.1.1	Uji Antagonis isolat Actinomycetes	29
IV.1.2	Fermentasi Dan Ekstraksi Isolat Actinomycetes	30
IV.1.3	Uji Aktivitas Antimikroba	33
IV.1.4	Identifikasi Actinomycetes	38
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	41
V.1	Kesimpulan	41
V.2	Saran	41
	DAFTAR PUSTAKA	42
	LAMPIRAN	44



DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil Pengukuran Zona Hambat Isolate <i>Actinomyces</i> T2b	34
2. Hasil Pengukuran Zona Hambat Isolate <i>Actinomyces</i> T1	36



DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Pertumbuhan Isolat <i>Actinomycetes</i> Pada Media Kultur	7
2. Struktur Spora Dari Genus <i>Streptomyces</i>	8
3. Tumbuhan Karst Bantimurung	27
4. Hasil Isolasi Bakteri <i>Actinomycetes</i>	28
5. Isolat Murni Bakteri <i>Actinomycetes</i>	29
6. Hasil Uji Antagonis	30
7. Kurva Pertumbuhan T2b	31
8. Kurva Pertumbuhan T1	32
9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder T2b	35
10. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder T1	37
11. Hasil Uji Mikroskopik T2b	38
12. Hasil Uji Mikroskopik T1	39
13. Jenis Struktur Spora Pada <i>Streptomyces</i>	39
14. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Isolat T1	46
15. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Isolat T2b	47
16. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Isolat T1 Dan T2b	48
17. Hasil Fermentasi Isolat T1 Dan T2b	48



DAFTAR LAMPIRAN

Gambar	halaman
1. Skema kerja penelitian	44
2. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Isolat T1	46
3. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Isolat T2b	47
4. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Isolat T1 Dan T2b	48
5. Hasil Fermentasi Isolat T1 Dan T2b	48
6. Hasil Determinasi	49



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara kepulauan di Asia Tenggara yang memiliki kawasan karst terbesar yang mencakup area sekitar 400.000 kilometer persegi (km²) (Clements *et al.*, 2006). Secara umum kawasan karst di Indonesia dan kawasan karst lainnya memiliki berbagai jenis flora dan fauna endemik yang hanya diperoleh didalam kawasan karst tersebut. Flora dan fauna yang berada dikawasan karst tersebut memanfaatkan kawasan karst sebagai salah satu ekosistem yang sangat penting. Kawasan karst tersebut juga memiliki potensi lain yang tidak kalah penting yakni lahan yang dimanfaatkan oleh sebagian besar masyarakat setempat sebagai lahan pertanian, sebagai Objek wisata, pertambangan, dan memiliki peranan untuk menyimpan dan mengatur kebutuhan air bersih penduduk dunia (Ahmad, A. and Hamzah, 2016)

Beberapa peneliti menjadikan kawasan gua karst sebagai target utama untuk pengambilan sampel penelitian, studi sebelumnya menunjukkan bahwa *actinomyces* dapat berkembang biak dengan baik didalam gua karst tersebut. Hal tersebut memungkinkan para peneliti untuk mengisolasi mikroba yang mampu menghasilkan zat atau isolate yang bermanfaat di bidang farmasi (Siew yap, 2015). Penelitian lainnya juga yang dilakukan oleh fhahri (2017) yang mendapatkan isolate *actinomyces* yang berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman



karst Bantimurung didapatkan 2 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji yang digunakan yakni *S. aureus*, *E.coli*, *S. mutans*, *Sallmonella tyhpi*.

Groth dan Saiz-Jimenez (1999) melaporkan bahwa didalam gua terdapat populasi bakteri heterofilik dan *actinomyces*. Menurut Laiz al (2000) didalam gua kawasan karst pertumbuhan *actinomyces* sangat baik dikarenakan kelembaban yang relatife tinggi dan suhu yang rendah. Northup dan rekannya melakukan studi penelitian yang menunjukkan bahwa bakteri yang berada didalam gua lebih rentan terhadap adanya radiasi ultraviolet (UVR) dibandingkan dengan bakteri yang berada di permukaan gua. Hal itu menyebabkan bakteri tersebut kehilangan sifat-sifat yang memungkinkan bakteri untuk menahan adanya UVR dengan tujuan untuk bertahan hidup ketika berada dilingkungan dengan kondisi terbatasnya sumber nutrisi dan sumber daya. Dengan kondisi lingkungan yang seperti itu bakteri ini akan memperoleh jalur yang berbeda dengan bakteri yang berada diluar permukaan gua hal ini berkaitan dengan bagaimana metabolisme fisiologis bakteri tersebut sehingga hal ini dapat dijadikan sumber untuk menemukan obat baru bagi para peneliti (Siew yap, 2015)

Metabolit sekunder yang berasal dari mikroba terus dikembangkan dan menjadi sumber yang beragam secara kimia untuk pengembangan

obat baru didalam dunia farmasi. Beberapa tahun terakhir sekitar 70-
metabolit sekunder telah diperoleh dari *actinomyces* yang diisolasi



dari tanah dan merupakan salah satu penghasil antibiotic terbanyak(Khanna, Solanki and Lal, 2011). *Actinomycetes* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki morfologi menyerupai jenis jamur yang bercabang-cabang, diantara *Actinomycetes* sekitar 7600 senyawa dihasilkan oleh anggota genus *Streptomyces*. Sebagian besar senyawa bioaktif berpotensi sebagai antibiotik, sehingga *Streptomyces* merupakan organisme penghasil antibiotik utama yang dieksploitasi untuk kepentingan industri farmasi (Kumar and Jadeja, 2016) (Gorontalo *et al.*, 2014).

Kumalasari dkk(2012) melakukan penelitian dengan menggunakan sampel rizosfer tanaman karst dan menunjukkan bahwa isolat *Actinomycetes* yang berhasil diisolasi memiliki potensi sebagai penghasil antibiotik sebanyak 14 isolat atau 19,18% dari total isolat yang berhasil isolasi. Dari hasil penelitian tersebut isolat *actinomycetes* mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji yang digunakan yakni *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida utilis* dan *Candida albicans*, *S. cereviseae*, *Sacharomices acetobutylicum*, *Escherichia coli*, dan *Aspergillus flavus* (Kumalasari, R and R, 2001)

Bais et al (2006) mengemukakan bahwa banyak mikroorganisme yang tertarik pada nutrisi yang dihasilkan oleh eksudat dari system perakaran suatu tanaman. Sehingga populasi mikroorganisme yang

pada rizosfer jauh lebih banyak dibandingkan pada bagian tanah (wulan purwati, 2013)



Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi actinomycetes yang berasal dari gua karst Bantimurung sebagai sumber senyawa bioaktif. Oleh sebab dengan merujuk pada alasan tersebut, maka akan dilakukan penelitian yang mengangkat potensi *actinomycetes* dari rizosfer tanaman karst dalam gua Bantimurung sebagai penghasil antibakteri dengan menggunakan pathogen uji yakni *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah hasil isolat *actinomycetes* yang diisolasi dari tanaman karst Bantimurung memiliki aktivitas antibakteri

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat *actinomycetes* yang telah diperoleh dari tumbuhan karst Bantimurung



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Actinomycetes*

II.1.1 Karakteristik dan Lingkungan *Actinomycetes*

Actinomycetes merupakan kelompok bakteri morfologi yang mirip dengan kelompok fungi (Wijaya, 2018). *Actinomycetes* termasuk kedalam bakteri gram positif, bersel satu, dan memiliki miselium, dimana didalam DNA nya terdapat kandungan guanine dan sitosin yang tinggi. *Actinomycetes* dapat ditemukan dalam beberapa jenis tanah, air tawar, dan laut. *Actinomycetes* memiliki peran penting dalam penguraian suatu bahan organik seperti selulosa dan kitin, memberi nutrisi pada tanah, dan merupakan bagian penting dalam proses pembentukan humus. Pada media kultur koloni *actinomycetes* memiliki konsistensi berbubuk, memiliki hifa dan menempel kuat pada permukaan agar (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016).

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



Beberapa antibiotik komersial seperti eritromisin, streptomycin, vancomisin, dan tetrasiklin merupakan hasil dari metabolit sekunder *actinomycetes* (Weber *et al.*, 2015)

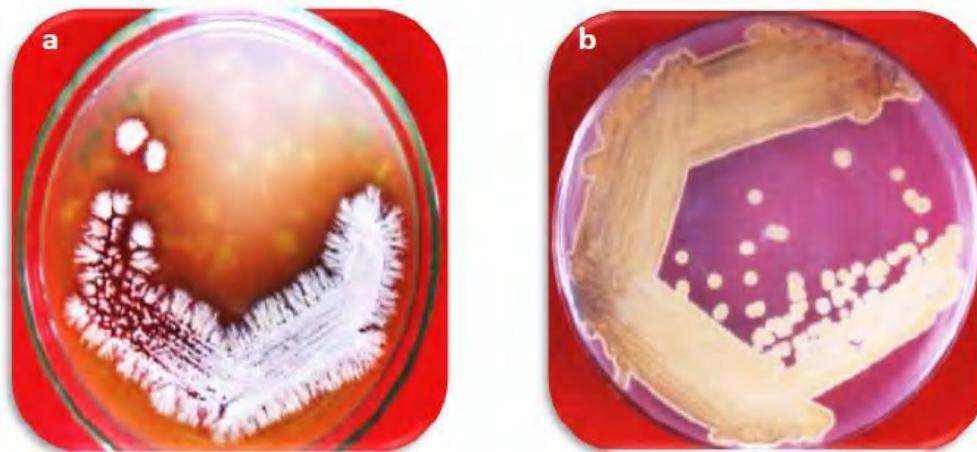
Actinomycetes banyak tersebar luas di tanah dan mampu hidup dengan pH rendah serta sensitivitas yang tinggi terhadap asam (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016). Temperatur yang cocok untuk pertumbuhan *actinomycetes* yakni berkisar pada suhu 25°C - 30°C, namun pada suhu 55 °C - 65 °C masih dapat tumbuh dalam jumlah yang banyak, khususnya pada genus *Streptomyces* dan *Thermoactinomyces* (Hikmawati, 2018). Umumnya kelompok *actinomycetes* tumbuh seperti filamen – filament yang tipis seperti halnya kapang bersel tunggal. Sehingga *actinomycetes* diduga sebagai fungi (Cendawan). Meskipun memiliki kesamaan antara keduanya, tetapi *actinomycetes* bukan lah fungi. *Actinomycetes* termasuk prokariotik sedangkan fungi termasuk eukariotik (Djide dan Sartini, 2014).

Actinomycetes berproduksi dengan pembelahan biner atau dengan memproduksi spora atau konodia. *Actinomycetes* merupakan mikroorganisme uniseluler bercabang yang sebagian besarnya terdiri dari miselium pembenturan aerobik yang lebih dikenal sebagai substrat dan udara. (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016)

Miselium substrat dari *actinomycetes* sangat bervariasi dari segi ukuran, bentuk dan ketebalan. (Gambar 1) Warna dari miselium tersebut

berwarna putih atau hamper tidak berwarna, agak kekuningan, merah, merah muda, orange, hijau, dan hitam.



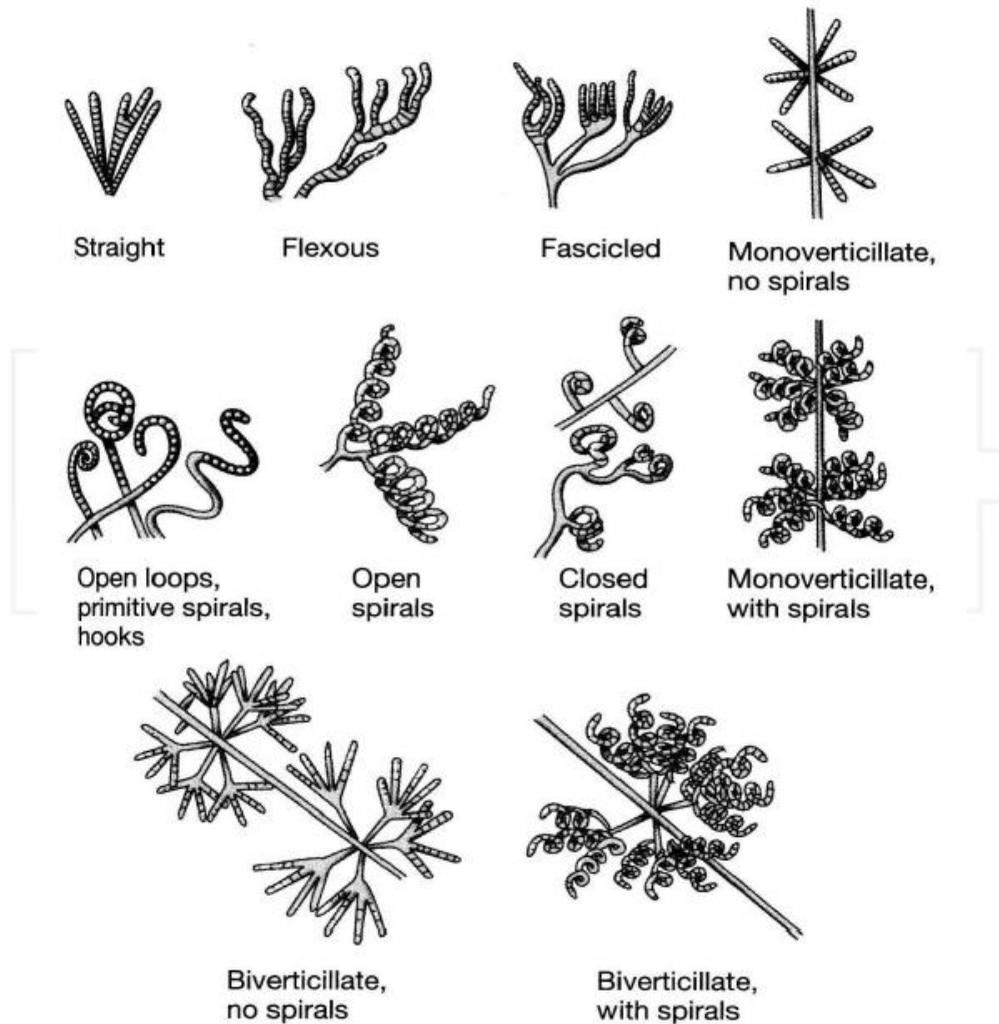


Gambar 1. Pertumbuhan isolat actinomycetes pada media kultur (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016).

Miselium udara dari *actinomycetes* juga merupakan hifa miselium substrat yang dapat berkembang ke tahap tertentu dan tumbuh ke udara. Terkadang antara keduanya susah dibedakan, tetapi dapat dibedakan dengan adanya preparasi pada *cover slip*, yaitu dengan cara dilihat pada mikroskop cahaya dengan bentuk morfologi hifa substrat berbentuk ramping, transparan, dan gelap. Sedangkan miselium udara morfologinya lebih kasar, berwarna terang, dan refraktif. Miselium udara ditandai dengan selubung yang berserat, kecuali pada kedua genus *Pseudonocardia* dan *Amycolata* (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016)

Morfologi *actinomycetes* telah menjadi karakteristik yang penting untuk mengidentifikasi isolate actinomycetes. Gambar dibawah ini merupakan deskripsi spora dari spesies *Streptomyces* (Gambar 2)





Gambar 2. Struktur spora dari genus *Streptomyces* (Ranjani, Dhanasekaran and Gopinath, 2016)

Actinomycetes merupakan organisme heterotrop yang efektif dalam menggunakan substrat. *Actinomycetes* membutuhkan bahan-bahan organik sebagai sumber karbon bagi kelangsungan hidupnya dan beberapa diantara jenis *actinomycetes* dapat mendegradasi inulin dan chitin. Media pilihan untuk kultur *actinomycetes* adalah *Starch nitrate agar* (SNA). Beberapa jenis *actinomycetes* yang digunakan untuk mengisolasi *actinomycetes*. SNA adalah

medium yang paling baik disusul dengan medium *fish-meal extract*, *inorganik salts starch*, *oat meal extract*, dan medium gliserol asparagine (Shahat, 2011).

II.1.2 Klasifikasi *Actinomyces*

Kingdom : Prokariot
 Subkingdom : Cyanobacteria
 Divisi : Bacteria
 Phylum : Firmicutes
 Class : Actinobacteria
 Subclass : Actinobacteridae
 Orde : Actinomycetales
 Famili : Mycobacteriaceae
 Actinomycetaceae
 Sterptomyceae
 Actinoplanaceae (Gurung *et al.*, 2010)

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

a. Suku *Mycobacteriaceae*

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

b. Suku *Actinomycetaceae*

Membentuk miselium, spora terbentuk dalam fragmen-fragmen

n. Contoh : *Actinomyces bovis*, patogen penyebab penyakit mulut dan kuku pada ternak.



c. Suku *Streptomycetaceae*,

Membentuk miselium, miselium vegetative tidak terbagi-bagi. Contoh :

- *Streptomyces aureofaciens*, menghasilkan aureomisin
- *Streptomyces griseus*, menghasilkan streptomision
- *Streptomyces fradiae*, menghasilkan neomisin dan fradisin
- *Streptomyces rimosus*, menghasilkan teramisin
- *Streptomyces venezuelae*, menghasilkan kloromisetin

II.1.3 Fase pertumbuhan

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

1. Fase Permulaan

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

2. Fase Pertumbuhan yang Dipercepat

Pada fase ini mikroorganisme mulai melakukan pembelahan diri, tetapi waktu generasinya masih panjang. Pada pertumbuhan

dipercepat bersama-sama dengan fase permulaan sering disebut dengan fase lag.



3. Fase Pertumbuhan Logaritma

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

4. Fase Pertumbuhan Mulai Terhambat

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

5. Fase Stasioner atau Fase Konstan

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

jumlah mikroorganisme yang hidup.



6. Fase Kematian yang Dipercepat dan Fase Kematian Logaritma

Kedua fase ini sering disebut sebagai fase penurunan kematian. Pada fase ini kecepatan kematian meningkat terus menerus sedangkan kecepatan pembelahan menjadi nol. Setelah sampai ke fase kematian logaritma kecepatan kematian mencapai maksimum. Jumlah selnya menurun menurut deret ukur, tetapi penurunan jumlah sel tersebut akan mencapai keadaan yang minimum. Secara teoritis keadaan ini dapat bertahan untuk waktu yang sangat lama dalam medium tersebut. Sebagai contoh adalah *Escherichia coli* dapat bertahan sampai beberapa bulan, sedangkan *Pneumococcus* sp hanya 2 sampai 3 hari saja. Jadi sangat tergantung pada spesies mikroorganisme.

II.2 Klasifikasi Tumbuhan

II.2.1 *Sellaginella plana* (Desv. Ex Poir) Hieron

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Divisi : Lycopodiophyta

Class : Lycopodiopsida

Order : Selagnellales

Family : Sellaginellaceae

Genus : *Sellaginella* P. Beauv



: *Sellaginella plana* (Desv. Ex Poir) Hieron



Sellaginella plana (Desv. Ex Poir) Hieron memiliki akar serabut, batang merayap atau menjalar dengan diameter 0,5 - 1 cm, warna coklat kekuningan dan sedikit beralur, memiliki daun berwarna hijau dengan ukuran kecil (lebih kecil dari *Sellaginella* sp1.), duduk daun bersilangan, permukaan daun halus. Sorus : Terdapat pada ujung terminalia, tanaman ini berhabitat teresterial di bawah naungan pada ketinggian 158 m dpl (Kinho, 2009)

II.3 Kawasan Karst

Karst merupakan suatu bentukan bentang alam pada batuan karbonat yang memiliki bentuk yang sangat khas berupa bukit, lembah, dolina, dan gua. Permukaannya cenderung kering dan gersang, namun dibawahnya terdapat beberapa aliran air yang berbentuk sungai-sungai kecil di bawah permukaannya. Batuan karbonat merupakan penyusun utama lahan karst yang berbentuk seperti spon, berpori, dan berbentuk rekahan di permukaan.

Kawasan karts adalah kawasan batuan karbonat (batu gamping dan dolomit) yang memperlihatkan morfologi karst, berupa hamparan batu kapur yang mengandung karbonat kalsium, terbentuk dari proses alam yang menyebabkan terbentuknya karst. Proses Karstifikasi melalui waktu yang panjang atau berjuta tahun dicirikan dengan keanekaragaman jenis pohon yang lebih kecil dibandingkan dengan hutan dataran rendah. Hampir semua habitat dan vegetasi yang berada di sistem ekologi karts bersifat endemic dan besaran yang spesifik (Fatinaware, 2016)



II.3.1 Kawasan karst Bantimurung Bulusaraung

Kawasan karst Bantimurung Bulusaraung adalah kawasan karst yang membentang dari utara ke selatan wilayah Maros dan Pangkep dengan luas sekitar \pm 40.000 ha. Kawasan ini secara umum terdiri dari hutan bukit kapur (forest over limestone) dengan formasi hutan tebing dan lereng. Geomorfologi yang tidak ada duanya di Indonesia, memiliki flora dan fauna, air terjun, nilai-nilai ilmiah dan social budaya yang tinggi. Dapat dikembangkan sebagai laboratorium alam untuk penelitian ilmiah dan konservasi alam, serta ekowisata. Oleh UNESCO menganggap kawasan ini pantas diusulkan sebagai kawasan warisan dunia (A world Heritage Site). Kawasan karst Maros Pangkep sudah dikenal secara internasional sejak Alfred Russel Wallace (naturalis asal Inggris) mempublikasikan jurnal perjalanannya berjudul *The Malay Archipelago* (1869) (Fatinaware, 2016)

II.4 Antimikroba

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

Obat-obat yang digunakan untuk membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan ataupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat sangat

terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad inang atau hospes (Djide dan Sartini, 2008)



Antimikroba dapat bersifat :

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

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

Mekanisme kerja Anti mikroba:

1. Penginaktifan enzim tertentu

Penginaktifan enzim tertentu adalah mekanisme umum dari senyawa antiseptika dan disinfektansia, seperti turunan aldehida amida, karbanilida,



etilen-oksida, halogen, senyawa-senyawa merkuri dan senyawa ammonium kuarterner.

2. Denaturasi protein

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

3. Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri

Cara ini adalah model kerja dari turunan amin dan guanidin, turunan fenol dan senyawa ammonium kuarterner. Dengan mengubah permeabilitas membrane sitoplasma bakteri, senyawa-senyawa tersebut dapat menyebabkan bocornya konstituen sel yang esensial, sehingga bakteri mengalami kematian.

4. Penghambatan terhadap sintesa dinding sel

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

5. Intekalasi kedalam DNA

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

perangka mutasi pada sintesis protein.



II.6 Bakteri Uji

II.6.1 *Staphylococcus aureus*

Divisi : Protophyta (schizophyta)

Kelas : Schyzomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bola dengan diameter 0,5 - 1,5 μm tidak mempunyai alat gerak dan tidak tahan asam. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 37⁰C. pada tubuh biasanya terdapat pada kulit, saluran pernafasan bagian atas, saluran air kemih, mulut, hidung, luka yang erinfeksi, selaput lendir dan tempat-tempat lainnya (Shabrina dan Bani, 2012).

II.6.2 *Escherichia coli*

Divisi : Protophyta

Kelas : Schyzomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam bakteri gram negatif, berbentuk yang pendek dengan diameter 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , mempunyai



flagella peritrik yang digunakan sebagai alat untuk bergerak dan ada juga yang tidak bergerak. Bakteri ini bersifat anaerobik fakultatif dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas. Bakteri ini biasa ditemukan disaluran pencernaan manusia maupun hewan vertebrata. Di alam bebas biasa terdapat dalam air, tanah, dan bahan organik. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah suhu 37°C (Shabrina dan Bani, 2012)

II.7 Uji Aktivitas Antimikroba

Metode pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro* terbagi atas dua yaitu metode difusi dan metode dilusi.

1. Metode Difusi

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

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

interpretasikan hasil yang diperoleh. (Balouri *et al.*, 2015).



2. Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Metode dilusi terbagi dua yaitu metode dilusi cair dan metode dilusi padat.

2.1. Metode Dilusi Cair

2.1.1 Mikrodilusi

Metode ini dilakukan dengan volume kecil menggunakan well plate. Pada metode mikrodilusi dilakukan pengenceran bahan antimikroba terlebih dahulu kemudian dimasukkan dalam well plate. Setelah itu diinokulasikan mikroba yang telah disesuaikan dengan standar McFarland 0.5. Setelah tercampur, well plate tersebut diinkubasi dengan kondisi yang sesuai.

Kelebihan dari metode mikrodilusi yaitu penggunaan reagen yang lebih sedikit dan membutuhkan ruang yang lebih kecil dalam pengerjaannya (Balouri *et al.*, 2015).

2.1.2 Makrodilusi

Metode ini dilakukan dengan volume yang lebih besar menggunakan tabung dengan medium cair minimum sebanyak 2 mL, Kemudian tabung diinokulasikan dengan mikroba telah disesuaikan dengan standar McFarland 0.5 dan diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Kerugian metode makrodilusi secara umum yaitu pengerjaannya yang melelahkan, pengerjaan yang manual, risiko terjadinya kesalahan dalam pembuatan larutan antimikroba

tiap uji dan ruang yang cukup untuk melakukan metode ini (Balouri 2015).



2.2 Metode Dilusi Padat

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan senyawa antimikroba dengan berbagai konsentrasi ke dalam media agar, biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat. Kemudian diinokulasikan mikroba uji pada permukaan media. KHM dideteksi sebagai konsentrasi terendah dari senyawa antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroba setelah diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Metode ini direkomendasikan sebagai metode standar untuk organisme yang cepat seperti bakteri dan anaerob. Metode ini cocok untuk pengujian sensitivitas antibakteri dan antifungi (Balouri *et al.*, 2015).

