

SKRIPSI

ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL ANTIBAKTERI DARI TANAH RIZOSFER KAWASAN KARST GOA LEANG-LEANG MAROS.

ISOLATION OF ANTIBACTERIAL- PRODUCING ACTINOMYCETES FROM THE RHIZOSPHERE SOIL IN THE KARST AREA OF LEANG-LEANG CAVE.

Disusun dan diajukan oleh

YULVANI FAULAH GUNTUR

N011 17 1503



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

**ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL ANTIMIKROBA DARI TANAH
KAWASAN KARST GOA LEANG-LEANG MAROS.**

**ISOLATION OF ANTIBACTERIAL- PRODUCING ACTINOMYCETES
FROM THE RHIZOSPHERE SOIL IN THE KARST AREA OF LEANG-
LEANG CAVE.**

SKRIPSI

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

**YULVANI FAULAH GUNTUR
N011 17 1503**

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

**ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL ANTIBAKTERI DARI TANAH
RIZOSFER KAWASAN KARST GOA LEANG-LEANG MAROS.**

YULVANI FAULAH GUNTUR

N011 17 1503

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt


Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si Apt

NIP.19771125 200212 2 003

NIP. 19900602 201504 2 002

Pada Tanggal, 18 Agustus 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI ACTINOMYCETES PENGHASIL ANTIBAKTERI DARI TANAH
RIZOSFER KAWASAN KARST GOA LEANG-LEANG MAROS.

ISOLATION OF ANTIBACTERIAL- PRODUCING ACTINOMYCETES
FROM THE RHIZOSPHERE SOIL IN THE KARST AREA OF LEANG-
LEANG CAVE.

Disusun dan diajukan oleh:

YULVANI FAULAH GUNTUR
N011 17 1503

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 16 Agustus 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

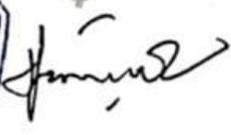
Pembimbing Pendamping,


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


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



Pj. Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasan Hasan, S.Si., M.Si., M. Pharm, Sc., Ph.D., Apt
NIP. 198601162010122009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Yulvani Faulah Guntur
Nim : N011 17 1503
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Isolasi Actinomycetes Penghasil Antibakteri dari Tanah Rizosfer Kawasan
Karst Goa Leang-Leang Kab Maros.

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

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

Makassar, 18 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Yulvani Faulah Guntur

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Tak lupa pula penulis mengirimkan salam dan shalawat kepada Nabi Besar Muhammad SAW yang telah membawa umat Islam ke jalan yang diridhoi Allah SWT.

Skripsi yang berjudul **“Isolasi Actinomycetes Penghasil Antibakteri dari Tanah Rizosfer Kawasan Karst Goa Leang-Leang Kab. Maros”** merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi dan memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi di Universitas Hasanuddin. Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing utama dan Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., Apt selaku pembimbing pendamping saya, yang telah banyak meluangkan waktu untuk penulis menyelesaikan penelitian dan memberikan masukan, bimbingan, dan motivasi yang membangun kepada penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
2. Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. dan Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dan

memberikan masukan dan saran terkait penelitian ini dan dalam proses menyelesaikan skripsi ini.

3. Sumarhaeni, S.Si., M.Sc, Apt selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Seluruh Bapak/ ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah member ilmunya dan memberikan masukan kepada penulis selama masa studi S1 dan juga seluruh staff akademik yang telah melayani dan memberikan fasilitas kepada penulis selama menempuh masa studi dan menyelesaikan penelitian ini.
5. Orang tua dari penulis kepada Bapak Andi Guntur dan Ibu Hj Kasma yang telah memberikan dukungan yang luar biasa kepada penulis, Terima kasih atas kesabaran dan kepercayaannya selama ini dan doa yang selalu dipanjatkan kepada penulis selama masa perkuliahan dan sampai menyelesaikan skripsi ini. Begitu juga dengan Laurah selaku adik penulis terimakasih atas hiburan yang selalu diberikan dan dukungan selama ini, dan keluarga besar penulis terima kasih
6. Sahabat-sahabat penulis, Misna, Zulfa, Tenri untuk setiap dukungan dan semangatnya dan doa yang diberikan kepada penulis.
7. Keluarga penulis, nenek, tante dan sepupu yang banyak memeberikan dukungan di setiap penelitian penulis.

8. Teman-teman Anak Basket dan teman-teman satu penelitian penulis terima kasih atas dukungan dan semangatnya dan bantuan dalam proses penelitian ini.
9. Terima kasih atas semua partisipasi dan dukungan, doa untuk penulis yang tidak sempat disebutkan satu persatu terima kasih.

Penulis berharap agar skripsi ini mampu memberikan manfaat dalam mengembangkan pengetahuan dan penelitian selanjutnya dalam bidang Farmasi dan dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.

Makassar, 18 Juli 2022



Yulvani Faulah Guntur.

ABSTRAK

Yulvani Faulah Guntur. *Isolasi Actinomycetes Penghasil Antibakteri dari Tanah Rizosfer Kawasan Karst Goa Leang-Leang Maros.* (dibimbing oleh Herlina Rante dan Nana Juniarti Natsir Djide).

Kawasan Karst diketahui memiliki potensi besar sebagai sumber isolat Actinomycetes dengan karakteristik yang unik. Hal ini penting untuk meningkatkan diversifikasi metabolit sekunder yang dapat dijadikan sebagai senyawa antimikroba baru di masa depan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan Actinomycetes yang diisolasi dari Tanah *Rhizosfer* di Kawasan *Karst* Goa Leang-Leang Maros dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Isolasi dilakukan menggunakan metode tuang pada medium SNA (Starch Natrium Agar) selama 7x24 jam, dilanjutkan dengan pemurnian dan uji antagonis. Fermentasi dilakukan pada isolat aktif lalu ekstrak hasil fermentasi diuji aktivitas antimikroba dilanjutkan skrining fitokimia. Sebanyak 2 isolat (kode Y1 dan Y2) berhasil diperoleh, kedua menunjukkan aktivitas terhadap *Escherichia coli* ATCC dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada uji antagonis. Ekstrak etil asetat dari kedua isolat menunjukkan aktivitas antimikroba tertinggi pada konsentrasi 10% dengan diameter zona hambat sebesar 15,53 mm *Staphylococcus aureus* ATCC dan 13,12 mm *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil skrining fitokimia pada kedua ekstrak menunjukkan adanya kandungan senyawa Flavonoid dan alkaloid. Dapat disimpulkan bahwa Isolat *Actinomycetes* Y1 dan Y2 dari tanah rizosfer karst Kawasan Leang-leang Maros mampu menghasilkan aktivitas antimikroba bersprektum yang luas terhadap *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923. Kedua isolat diduga merupakan genus *Microbispora* sp.

Kata Kunci: *Actinomycetes*, antibakteri, karst, rizosfer, goa Leang-Leang.

ABSTRACT

Yulvani Faulah Guntur. *Isolation of Antibacterial-Producing Actinomycetes From The Rhizosphere Soil in The Karst Area Of Leang-Leang Cave* (supervised by Herlina Rante dan Nana Juniarti Natsir Djide).

Karst areas are known to have great potential as a source of Actinomycetes isolates with unique characteristics. This is important to improve secondary antimicrobials that can be used as new compounds in the future. This study aims to determine the ability of Actinomycetes isolated from the Rhizosphere Soil in the Karst Area of Leang-Leang Maros Cave to produce antimicrobial compounds. Isolation was carried out by pour-plate method in SNA (Starch Sodium Agar) medium for 7x24 hours, followed by purification and antagonist testing. Fermentation was done using active isolates, followed by extraction and antimicrobial activity testing and phytochemical screening. A total of 2 isolates (coded as Y1 and Y2) were successfully obtained; both showed activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in the antagonist test. The ethyl acetate extract of both isolates showed the highest antimicrobial activity at a concentration of 10%, with an inhibition zone diameter of 15.53 mm for *S. aureus* ATCC 25923 and 13.12 mm for *E. coli* ATCC 25922. The results of phytochemical screening on both extracts indicated the presence of flavonoids and alkaloid compounds. In conclusion, Actinomycetes Y1 and Y2 isolates from karst rhizosphere soil in the Leang-leang Maros area produced broad-spectrum antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923. Both isolates were thought to belong to the genus *Microbispora* sp.

Keywords: Actinomycetes, antibacterial, karst, rhizosphere, Leang-Leang cave.

DAFTAR ISI

| | halaman |
|--------------------------------|---------|
| UCAPAN TERIMA KASIH | vi |
| ABSTRAK | viii |
| ABSTRACT | ix |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| I.1 Latar Belakang | 1 |
| I.2 Rumusan Masalah | 2 |
| I.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| II.1 <i>Actinomycetes</i> | 4 |
| II.2 Tanah | 9 |
| II.3 Kawasan Karst | 9 |
| II.4 Antimikroba | 11 |
| II.5 Bakteri Uji | 13 |
| II.6 Uji Aktivitas Antimikroba | 15 |
| II.7 Kromatografi Lapis Tipis | 17 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 20 |

| | |
|--|----|
| III.1 Alat dan Bahan | 20 |
| III.2 Metode Kerja | 20 |
| DAFTAR ISI | |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 28 |
| IV.1 Isolasi Bakteri <i>Actinomyces</i> | 28 |
| IV.2 Uji Antagonis Isolat <i>Actinomyces</i> | 29 |
| IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi | 30 |
| IV.4 Uji Aktivitas Antimikroba | 33 |
| IV.5 Kromatografi Lapis Tipis dan Skrining Fitokimia | 35 |
| IV.6 Identifikasi <i>Actinomyces</i> | 37 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 40 |
| V.1 Kesimpulan | 40 |
| V.2 Saran | 40 |
| DAFTAR PUSTAKA | 41 |
| LAMPIRAN | 44 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | halaman |
|---|---------|
| 1. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat dan ekstrak air <i>Actinomyces</i> Y1 dan Y2 | 45 |
| 2. Hasil karakterisasi <i>Actinomyces</i> isolat Y1 dan Y2 | 47 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | halaman |
|--|---------|
| 1. Bentuk spora yang diproduksi oleh <i>Actinomyces</i> | 6 |
| 2. Isolat awal <i>Actinomyces</i> | 24 |
| 3. Isolat <i>Actinomyces</i> | 25 |
| 4. Hasil uji antagonis isolat <i>Actinomyces</i> | 26 |
| 5. Grafik hubungan antara diameter zona hambat | 27-28 |
| 6. Hasil uji mikroskopik isolat <i>Actinomyces</i> Y1 dan Y2 | 32 |
| 7. Kromatogram ekstrak air dan etil asetat <i>Actinomyces</i> Y1 | 33-34 |
| 8. Kromatogram ekstrak air dan etil asetat <i>Actinomyces</i> Y2 | 35 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | halaman |
|----------------------------------|---------|
| 1. Skema kerja penelitian | 42 |
| 2. Dokumentasi gambar penelitian | 43 |

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Selain berdampak pada morbiditas dan mortalitas, juga memberi dampak negatif terhadap ekonomi dan sosial yang sangat tinggi (Permenkes RI, 2011). 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 antijamur (Adriani dan Febriwanti Tulak, 2013).

Actinomycetes termasuk bakteri yang berbentuk batang, gram positif bersifat anaerob atau fakultatif. Struktur *Actinomycetes* berupa

filamen lembut yang sering disebut hifa atau miselia sebagai mana yang terdapat pada fungi, memiliki konidia pada hifa yang menegak. Saat ini banyak penelitian yang difokuskan pada *Actinomycetes* yang diindikasikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan antibiotik terbanyak, sekitar 70% dari antibiotik yang telah ditemukan dihasilkan oleh *Actinomycetes* terutama *Streptomyces* (Pujiati, 2014). Temperatur yang cocok untuk pertumbuhan *Actinomycetes* adalah 25-30°C namun pada suhu 55-65°C masih dapat tumbuh dalam jumlah besar, khususnya genus *Thermoactinomycetes* dan *Streptomyces* (Adriani dan Febriwanti Tulak, 2013). *Actinomycetes* merupakan kelompok bakteri penting karena kemampuannya secara luas menghasilkan metabolit sekunder terutama antibiotik (Putri, Lisdiyanti and Kusmiati, 2018).

Tanah secara alamiah terbentuk sebagai hasil dari kombinasi proses fisik, kimia dan biologi. Tanah merupakan media yang baik tempat tumbuh dan berkembangnya beraneka ragam mikroorganisme. Walaupun di tanah yang keras dan kering, mikroba bersifat doman, yang akan tumbuh ketika ada kelembapan (Panagan, 2011). *Actinomycetes* pada *rhizosfer* berguna untuk mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme tanah terutama yang bersifat patogen, sehingga munculnya penyakit yang menyerang tanaman dapat dihindarkan dan tanah lebih sehat (Ecular *et al.*, 2010).

Kawasan *karst* di Sulawesi salah satunya *karst* Bantimurung merupakan *karst* yang berbentuk tipe *karst* tersendiri, yaitu bukit-bukit

belerang terjal. *Karst* adalah sebuah bentuk permukaan bumi yang ada pada umumnya dicirikan dengan adanya depresi tertutup (*closed depression*), drainase permukaan, dan gua. Kawasan *karst* di Indonesia mencakup luas sekitar 15,4 juta hektar dan tersebar hampir di seluruh Indonesia. Perkiraan umur dimulai sejak 470 juta tahun lalu sampai yang terbaru sekitar 700.000 tahun. Maka perlu kiranya dilakukan penelitian di daerah kawasan *karst* untuk menganalisis jenis mikroorganisme didalamnya yang berpotensi sebagai penghasil antibiotik dan antibakteri yang nantinya dapat digunakan dalam pengobatan. Sehingga penelitian ini di fokuskan untuk menemukan *Actinomycetes* yang memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri dari tanah *Rhizosfer* di Kawasan *karst* Bantimurung (Owaga E.E, 2009).

I.2 Rumusan Masalah

Apakah bakteri *Actinomycetes* yang diisolasi dari Tanah *Rhizosfer* di Kawasan *Karst* Goa Leang-Leang Maros mampu menghasilkan senyawa antimikroba?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kemampuan *Actinomycetes* yang diisolasi dari Tanah *Rhizosfer* di Kawasan *Karst* Goa Leang-Leang Maros dalam menghasilkan senyawa antimikroba.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Actinomycetes*

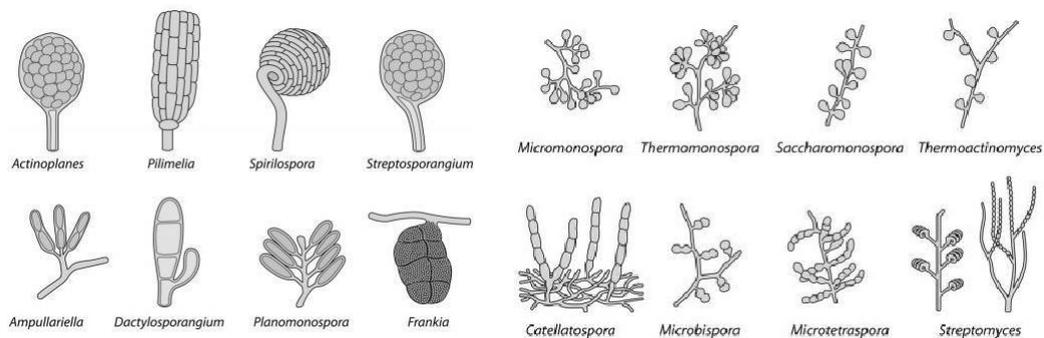
Istilah *Actinomycetes* berasal dari bahasa Yunani, yaitu aktis atau aktin yang berarti ray dan mukes yang berarti jamur. Secara tradisional, *Actinomycetes* dianggap sebagai bentuk transisi antara jamur dan bakteri (Barka *et al.*, 2016). *Actinomycetes* adalah salah satu unit taksonomi terbesar diantara berbagai filum yang terkenal didomain bakteri. *Actinomycetes* dikatakan memiliki relevansi dengan dunia kedokteran manusia dan hewan, bioteknologi, dan ekologi yang mencerminkan keanekaragaman hayati dari *Actinomycetes* (Barka *et al.*, 2016).

Actinomycetes kebanyakan tumbuh dalam bentuk filament yang menyerupai fungi namun merupakan organisme prokariotik. *Actinomycetes* merupakan organisme dominan yang terdapat di tanah dan memiliki peran utama dalam mengurai atau penghancuran sampah-sampah organik (Djide and Sartini, 2016). *Actinomycetes* diklasifikasikan sebagai bakteri gram positif yang diketahui merupakan bakteri berfilamen yang memiliki kandungan guanin dan sitosin yang tinggi (GC). Seperti fungi yang berfilamen, *Actinomycetes* dapat membentuk miselium dan banyak dari *Actinomycetes* yang berkembang biak dengan sporulasi (Barka *et al.*, 2016).

Sebagian besar *Actinomycetes*, terutama *Streptomyces*, adalah saprofit penghuni tanah yang berkembang biak selama siklus hidupnya sebagai spora semidorman, terutama dalam kondisi nutrisi yang terbatas dan kemudian beradaptasi dan dapat hidup pada berbagai lingkungan yang lebih luas. Hingga saat ini, *Actinomycetes* dapat ditemukan di tanah, air tawar maupun air asin, dan juga di udara. *Actinomycetes* hingga saat ini berada di tanah dengan kondisi yang berlimpah, terutama pada tanah dengan kandungan bahan organik terutama pada bagian permukaan atau pada kedalaman 2 meter (Barka *et al.*, 2016). *Actinomycetes* tersebar secara luas bersamaan dengan kelompok mikroorganisme lain terutama yang hidup di tanah. *Actinomycetes* diketahui dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang penting dan memiliki nilai komersial tinggi yang dapat digunakan di dunia industri farmasi (Agdagba, 2014; Kumar *et al.*, 2019).

II.1.1 Spora *Actinomycetes*

Spora merupakan salah satu bagian terpenting dari *Actinomycetes* terutama dalam taksonominya. Langkah awal pembentukan spora dari beberapa bakteri seperti *Actinomycetes* dapat disebut dengan budding atau pembentukan tunas. Spora dapat terbentuk pada bagian miselium substrat dan/atau bagian miselium aerial sebagai sel tunggal atau rantai panjang (Barka *et al.*, 2016). Bentuk dari rantai spora pada *Actinomycetes* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bentuk spora yang diproduksi oleh *Actinomycetes*

II.2 Anti Mikroba

Antimikroba adalah zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri atau fungi yang memiliki khasiat atau kemampuan untuk menghambat hingga mematikan pertumbuhan bakteri atau fungi namun tergolong aman pada manusia. Antimikroba memiliki dua sifat berdasarkan mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroba yaitu bakteriostatik dan bakteriosit. Bakteriostatik merupakan kemampuan antimikroba menghambat pertumbuhan mikroorganisme sedangkan bakteriosit merupakan kemampuan antimikroba membunuh mikroorganisme (Ríos and Recio, 2005).

II.2.1 Mekanisme Anti Mikroba

Anti mikroba khususnya antibiotika memiliki berbagai macam mekanisme antara lain mengganggu serta merusak metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu keutuhan membrane sel mikroba menghambat sintesis protein sel mikroba, dan menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba (Djide and Sartini, 2016).

II.3 Metode Pengujian Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba merupakan salah satu pengujian yang dilakukan untuk mendapatkan penemuan obat baru (*drug discovery*) yang dapat dilakukan secara in vitro. Pengujian aktivitas antimikroba secara in vitro dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain (Balouiri et al., 2016):

II.3.1 Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode pengujian antimikroba yang paling umum digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan berbagai cara atau metode seperti difusi disk agar. Metode difusi disk agar merupakan pengujian yang dapat dilakukan untuk bakteri dan fungi secara akurat. Pengujian dengan metode ini dilakukan dengan menginokulasikan mikroorganisme terstandar pada agar kemudian *paper disk* yang berisi senyawa uji dengan konsentrasi tertentu diletakkan pada permukaan agar kemudian cawan petri tersebut diinkubasi pada kondisi dan lama inkubasi sesuai dengan mikroba uji. Kemudian, senyawa uji akan berdifusi ke agar atau medium kemudian akan menghambat pertumbuhan mikroba uji yang dapat ditentukan dengan diameter zona bening yang terbentuk. Metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum karena konsentrasi senyawa yang berdifusi ke agar atau medium tidak dapat ditentukan. Namun metode ini memiliki berbagai kelebihan dibanding metode lain karena metode ini cukup sederhana, murah,

mampu menggunakan berbagai macam jenis antimikroba serta interpretasi hasil pengujian yang cukup mudah (Balouiri *et al.*, 2016).

II.3.2 Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum secara *in vitro* karena dengan metode ini memungkinkan penentuan jumlah atau konsentrasi senyawa uji yang terdilusi pada medium. Metode dilusi secara umum terbagi menjadi dua yaitu metode *broth dilution* dan metode *agar dilution*. Metode *broth dilution* merupakan metode pengujian aktivitas antimikroba yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara mencampurkan senyawa uji ke dalam medium cair pada tabung tersendiri dari masing-masing konsentrasi kemudian mikroorganisme uji diinokulasikan ke dalam campuran kemudian diinkubasi pada kondisi dan lama inkubasi sesuai dengan mikroba uji (Balouiri *et al.*, 2016).

Metode *agar dilution* merupakan metode pengujian aktivitas antimikroba dengan cara mencampurkan senyawa uji dengan konsentrasi yang beragam pada medium agar sebelum memadat. Kemudian, mikroba uji diinokulasikan pada permukaan medium lalu diinkubasi pada kondisi dan lama inkubasi sesuai dengan mikroba uji (Balouiri *et al.*, 2016). Konsentrasi hambat minimum konsentrasi terkecil dari senyawa uji yang memiliki aktivitas antimikroba dalam menghambat pertumbuhan antimikroba. Penentuan konsentrasi hambat minimum dari suatu senyawa

yaitu dengan melihat penghambatan mikroba setelah inkubasi pada konsentrasi terendah (Balouiri *et al.*, 2016).

II.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi

KLT bioautografi merupakan metode kombinasi antara kromatografi kertas yang berinteraksi dengan bioautografi dalam menentukan senyawa yang terdapat pada kromatografi kertas dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Metode ini dilakukan dengan cara mencelupkan lempeng KLT ke dalam medium yang berisi mikroba yang telah disuspensikan atau disemprotkan ke dalam medium. Kemudian, bioautogram tersebut diinkubasi pada kondisi dan lama inkubasi sesuai dengan mikroba uji.

Metode KLT bioautografi dapat digunakan untuk pengujian mikroba baik bakteri maupun fungi. Untuk pengujian antifungi, metode ini juga dapat memberikan hasil yang akurat pada penghambatan produksi spora dari beberapa fungi (Balouiri *et al.*, 2016).

II.4 Karst

Berdasarkan keputusan Menteri ESDM Nomor 17 Tahun 2012 tentang Penetapan Kawasan Bentang Alam Karst disebutkan bahwa yang dimaksud karst adalah bentang alam yang terbentuk karena pelarutan air pada batugamping dan atau dolomit. Pengertian kawasan bentang alam karst adalah karst yang menunjukkan eksokarts dan endokarts tertentu. Eksokarst merupakan karst pada bagian permukaan sedang endokarst merupakan karst pada bagian bawah permukaan. Eksokarst terdiri dari mata air permanen, bukit karst, dolina, uvala, polje dan telaga. Endokarst

terdiri dari sungai bawah tanah dan speleotem. Istilah karst diperuntukkan bagi suatu kawasan yang mempunyai morfologi tunggal atau kumpulannya yang membentuk bentang alam, yang umumnya merupakan hasil dari proses pelarutan oleh air, yang derajatnya lebih tinggi dari daerah lainnya. Secara sempit istilah tersebut menggambarkan kawasan – kawasan yang diwarnai oleh kegiatan pelarutan. Lebih luas, karst merupakan perpaduan sistem yang dinamis antara bentang alam, kehidupan, energi, air, gas, tanah dan batuan (Maulany *et al.*, 2019) (Zhu *et al.*, 2012).

Topografi karst adalah bentuk bentang alam tiga dimensional yang terbentuk akibat proses pelarutan lapisan batuan dasar, khususnya batuan karbonat seperti batu gamping kalsit atau dolomit. Batu gamping yaitu batuan endapan yang terbentuk di dasar lautan dan disusun oleh berbagai cangkang binatang laut dalam kurun waktu jutaan tahun. Melalui proses geologi, akhirnya endapan batugamping tersebut terangkat ke permukaan laut dan membentuk dataran atau pegunungan batugamping. Selanjutnya dengan adanya kontak antara air atau air hujan yang mengandung senyawa CO₂ dengan batugamping tersebut, terjadilah proses kimiawi hingga membentuk rongga berbagai bentuk dan ukuran dalam kurun waktu ribuan tahun atau lebih. Endapan batugamping yang telah mengalami proses semacam ini disebut batu gamping / Karst (Maulany *et al.*, 2019).

Kawasan karst di Sulawesi, salah satunya karst Bantimurung merupakan karst yang membentuk tipe karst tersendiri, yaitu bukit– bukit berlereng terjal. Sebagian besar genesanya dipengaruhi oleh struktur geologi, sebelum diperlebar dan diperluas oleh proses pelarutan atau karsifikasi membentuk bangun menara yang sangat khas (karst tower). Di antara bukit–bukit tersebut membentang dataran dengan permukaannya yang rata. Kawasan Karst Maros-Pangkep merupakan kawasan karst menara yang memiliki keunikan geomorfologi yang tiada duanya di Indonesia, keindahan panorama alamnya serta potensi biodiversitasnya juga sangat kaya. Gua-gua yang terdapat pada karst bantimurung biasanya ditemukan bacteria, fungi, Actinomycetes. Actinomycetes yang terdapat pada karst membentuk koloni seperti *lichen* menyerupai bubuk dan menimbulkan bau khas tanah. Kebanyakan mikroba penghasil antibiotik diperoleh dari mikroba tanah terutama *Streptomyces* dan jamur. Tanah juga merupakan tempat interaksi biologis yang paling dinamis dan mempunyai lima komponen utama yaitu mineral, air, udara, zat organik dan organisme hidup dalam tanah antara lain bakteri, *Actinomycetes*, fungi, algae, dan protozoa (Benhadj *et al.*, 2019) (Dimri *et al.*, 2020).

II.5 Rizosfer

Rizosfer merupakan suatu kawasan lingkungan yang berada di sekitar perakaran tanaman. Cakupan daerah rizosfer yaitu seluruh wilayah yang masih dipengaruhi oleh aktivitas perakaran tanaman dan aktivitas mikroorganisme yang saling berasosiasi. Daerah rizosfer dapat

memberikan manfaat baik secara fisika, kimia, dan biologi di mana mikroorganisme yang terdapat pada tanah rizosfer berperan sangat penting dalam kasus ini. Mikroorganisme pada daerah rizosfer sangat tinggi dimana populasi bakteri berkisar antara 10^6 - 10^9 μ L bakteri tiap gram tanah rizosfer dan fungi berkisar 10^5 μ L fungi tiap gram tanah rizosfer (Whalley *et al.*, 2005).

Rizosfer tanaman merupakan bagian tanah yang menutupi perakaran tanaman dan menjadi habitat bagi berbagai jenis mikroba khususnya bakteri. Bakteri yang terdapat pada tanah rizosfer dapat memberikan keuntungan bagi tanaman itu sendiri dengan memacu pertumbuhan tanaman atau biasa disebut *plant growth promoting rhizobacteri* (PGPR) (Smalla *et al.*, 2001).

Fungsi mikroba dalam tanah dapat dikategorikan menjadi empat yaitu sebagai penyedia unsur hara dalam tanah, perombak bahan organik dan mineralisasi organik, memacu pertumbuhan tanaman, dan sebagai agen hayati pengendali hama dan penyakit tanaman. Selain berfungsi untuk tanaman dan lingkungannya sendiri, mikroba yang terdapat pada tanah rizosfer dapat dimanfaatkan juga pada dunia kefarmasian. Pemanfaatan mikroba dari tanah rizosfer dapat berupa penghasil antimikroba atau antibiotik (Smalla *et al.*, 2001) (Whalley *et al.*, 2005).

II.6 Uraian Mikroba

II.6.1 *Escherchia coli*

Escherchia coli memiliki klasifikasi sebagai berikut (Rahayu et al., 2018):

Kingdom : Eubacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Orde : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherchia*
Spesies : *Escherchia coli*

Escherchia coli atau *E.coli* merupakan salah satu bakteri koliform dalam famili Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae adalah famili dari bakteri-bakteri enteric atau bakteri yang dapat bertahan hidup dalam saluran cerna. *Escherchia coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan ukuran sekitar 1,0-1,5 μm x 2,0-6,0 μm , bersifat gram negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, tidak motil atau motil dengan flagella, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen dan berupa flora normal dalam usus mamalia. Bakteri *E. coli* memiliki waktu regenerasi sekitar 30-87 menit bergantung pada suhu lingkungan tempat tumbuh. Beberapa strain dari bakteri ini dapat mencegah berkoloninya bakteri patogen pada saluran cerna namun terdapat juga strain lain dari bakteri ini yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan diare. Bakteri *E. coli*

secara umum hidup di saluran cerna mamalia dan juga memiliki kemampuan fisiologis dapat bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang sulit serta pada medium dengan nutrisi yang rendah. *Escherchia.coli* juga tumbuh dengan baik pada air tawar, air laut, dan tanah (Rahayu et al., 2018).

II.6.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus memiliki klasifikasi sebagai berikut (Foster and Geoghegan, 2014):

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacili
Ordo : Cocacceae
Famili : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus atau *S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bullat bergerombol seperti susunan buah anggur berwarna abu-abu hingga kuning, berdiameter 0,8 -1,2 μm , dapat tumbuh dalam kondisi aerob, tidak berspora, tidak bergerak, tumbuh optimum pada suhu 37°C namun dapat membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20°C- 25°C). Bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada tubuh umumnya tidak merugikan yang biasa tumbuh di atas lapisan mukosa kulit dan selaput lendir pada manusia namun dapat memproduksi

toksin dan biasa mengontaminasi makanan bahkan dapat menyebabkan infeksi dan sakit parah (Foster and Geoghegan, 2014).

BAB III METODE

PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan adalah alat – alat gelas, cawan petri, enkas, inkubator (*Memmert*[®]), jangka sorong (*Tricle Brand*[®]), *Laminar Air Flow* (*Envirco*[®]), lemari pendingin, oven (*WTB Binder*[®] type E115), shaker (*Gemmy orbit*[®] model VRN-480) Mikropipet (*FisherBrand*[®]), seperangkat alat KLT, pH meter (*Sartorius*[®]) dan timbangan analitik (*Chyo JL 200*[®]).

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, etanol 70 %, etil asetat, metanol, kertas cakram amoxicillin dimetilsulfoksida (DMSO), NaCL 0,9%, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, medium NA (*Nutrient Agar*) (*Merck*[®]), medium SNA (*Starch Nitrate Agar*), medium SNB (*Starch Nitrate Broth*), silika gel GF254 (*DC*[®]), Standar McFarland 0,5 (*Himedia*[®]).

III.2 Metode Kerja

III.2.1 Sterilisasi Alat

Alat- alat yang akan digunakan harus dilakukan sterilisasi agar tidak terjadi kontaminasi mikroba yang dapat merusak hasil pengerjaan. Alat-alat gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, labu Erlenmeyer dimasukkan kedalam oven (pemanasan kering) dan disterilkan pada suhu 180°C selama ±90-120 menit. Alat dan bahan yang tidak tahan dengan pemanasan kering dan alat-alat yang mempunyai skala seperti pipet tetes,

gelas ukur dapat disterilkan dalam autoklaf (pemanasan basah) pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang telah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan untuk digunakan pada proses selanjutnya namun harus tetap dalam keadaan tertutup baik dan rapat

III.2.2 Pembuatan Medium

III.2.2.1 Medium Starch Nitrate Agar (SNA)

Media SNA dibuat dengan cara menimbang 20 g soluble *starch* 20 g agar, 0,3 g KNO₃, 0,15 g K₂HPO₄, 0,15 g MgSO₄, 0,15 g NaCl, dan 0,01 g FeSO₄. Kemudian, media dilarutkan dengan menggunakan aquadest di dalam labu. Erlenmeyer dan dihomogenkan. Setelah itu, media dipanaskan pada *water bath* hingga larut dan dicukupkan volumenya hingga 300 mL, dan diatur pH media dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Husen *et al.*, 2007).

III.2.2.2 Medium Starch Nitrate Broth (SNB)

Medium SNB ditimbang 20 g soluble *starch*, 1,2 g KNO₃, 0,5 g NaCl, 0,01 g FeSO₄.7H₂O, 0,5 g K₂HPO₄ dan 0,5 g MgSO₄, kemudian didispersikan dengan air suling hingga 1000 mL. media dipanaskan pada *water bath* dan disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm, dan diatur pH 7,0 ± 0,2 (Husen *et al.*, 2007).

III.2.2.3 Medium Nutrient Agar (NA)

Medium NA ditimbang 2,3 g, kemudian didispersikan dengan air suling hingga 100 mL. dipanaskan pada *water bath* dan disterilkan di

autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm, dan diatur pH $7,0 \pm 0,2$ (Zimbro *et al.*, 2009).

III.2.3 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

III.2.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil disekitar Kawasan Karst Leang-Leang, Kab. Maros Bantimurung, dengan menggunakan sendok *stainless steel* yang telah disemprot dengan alkohol 70% pada kedalaman 5 - 15 cm dari permukaan tanah. Sampel dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan dalam *coolbox*, selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk digunakan dalam penelitian.

III.2.3.2 Penyiapan Suspensi Sampel

Sampel tanah ditimbang sebanyak 1 g lalu dimasukkan ke dalam botol pengencer dan dicukupkan dengan air suling steril hingga 10 mL (pengenceran 10^{-1}). Sampel dipanaskan pada suhu 60° C selama 15 menit. Suspensi sampel pengenceran 10^{-1} kemudian dibuat pengenceran 10^{-3} sampai pengenceran 10^{-5} . Tiap pengenceran diambil 0,1 ml lalu disebar menggunakan *spreader* pada media SNA yang telah dituang ke dalam cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 28 - 24 minggu.

III.2.3.3 Isolasi Actinomycetes

Sampel tanah ditimbang sebanyak 1 g lalu dimasukkan kedalam botol pengencer dan dicukupkan dengan air suling steril hingga 10 ml (pengenceran 10^{-1}). Kemudian dipanaskan pada suhu 60°C selama 15

menit. Suspensi sampel pengenceran 10^{-1} kemudian dibuat pengenceran 10^{-3} . Sampai pengenceran 10^{-5} .

Untuk menumbuhkan mikroba hasil pengenceran di dalam cawan Petri dapat dilakukan dengan metode sebar atau metode tuang (*pour plate count*). Metode tuang dilakukan dengan cara menuang medium SNA 15 ml dan dihomogenkan. Media dibiarkan memadat kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28°C di dalam inkubator. Adanya zona bening pada koloni, berfilamen dan menempel erat pada permukaan medium kemudian dimurnikan pada medium SNA dalam cawan petri yang baru. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu 28°C di dalam inkubator. Bentuk, tepi dan permukaan biakan, warna miselium substrat dan udara serta pigmen terlarut dicatat. Kultur koloni mikroba murni kemudian dipindahkan dalam SNA miring (Sharma et al., 2011).

III.2.4 Penentuan Aktivitas Isolat Actinomycetes (Uji Antagonis)

III.2.4.1 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Identifikasi dari actinomycetes menghasilkan senyawa antibakteri dilakukan dengan uji antagonis sebagai berikut pengujian antagonis dilakukan untuk melihat aktifitas bakteri langsung terhadap bakteri uji. pengerjaanya dilakukan dengan menggunakan medium NA (Nutrient Agar) sebanyak 10 ml, ditambahkan 0,1 ml untuk bakteri, kemudian dituang ke dalam cawan petri. Ekstrak ekstrak etil asetat, ekstrak air dan ekstrak methanol masing-masing dipipet sebanyak $20\mu\text{L}$ ke dalam kertas cakram. Setelah medium memadat dimasukkan kertas cakram yang berisi

amoksisilin sebagai control positif dan etil asetat sebagai control negatif. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Daya hambat bakteri uji yang ditandai dengan bentuknya zona bening di sekitar cakram uji diamati.

III.2.5 Fermentasi, Ekstraksi dan Uji Aktifitas Antibakteri Isolat Actinomycetes

III.2.5.1 Fermentasi (Produksi Senyawa Metabolit)

Isolat aktif dibuat perkultur dimasukkan ke dalam 200 ml medium SNB kemudian dilakukan pengojokan dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang. Media fermentasi dicuplik sebanyak 2 ml kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Keasaman media dicek dengan mengambil 1 tetes supernatant lalu diteteskan di atas kertas pH. Filtrat sebanyak 20 µl kemudian diuji dengan menggunakan teknik *Kirby-Bauer*. Bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Kemudian diameter dari zona hambat diukur.

III.2.5.2 Ekstraksi

Sebelum dilakukan ekstraksi, labu erlenmeyer yang berisi 200 ml cairan fermentasi ditambahkan etil asetat 50 ml kemudian disaring ke dalam corong pisah. Bagian supernatant dalam corong pisah ditambahkan 150 ml etil asetat (1;1 v/v) gojok selama 20 menit, didiamkan hingga berbentuk dua lapisan terpisah, kemudian lapisan di atas diuapkan dan disimpan untuk proses selanjutnya. Biomassa dimaserasi dengan metanol

selama 2 x 24 jam kemudian disaring, proses maserasi dilakukan sebanyak dua kali, kemudian bagian supernatan diuapkan dan disimpan.

III.2.6 Penyiapan Mikroba Uji

III.2.6.1 Peremajaan Mikroba Uji

Bakteri uji *S. aureus* ATCC dan *E. coli* ATCC masing-masing diambil 1 ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium NA miring kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

III.2.6.2 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Pembuatan suspensi bakteri uji dengan cara mengambil biakan bakteri dan dilarutkan dalam larutan 0,9% NaCl secara aseptik. Tingkat kekeruhan suspensi dibandingkan dengan standard McFarland 0,5 secara visual dan dilakukan pengukuran absorban dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm (Syafitri, Hidayati and Pristianty, 2016).

III.2.7 Pembuatan Starter

Penyiapan kultur starter dilakukan dengan cara mengambil dua ose koloni *Actinomyces* kemudian diinokulasikan pada 50 ml media SNB dalam labu erlenmeyer 250 ml, lalu diinkubasi pada *rotary shaker* 200-250 rpm selama 5 hari pada suhu kamar (Mulyadi and Sulistyani, 2013).

III.2.8. Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

Mikroba uji diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam 20 ml medium NA yang sudah didinginkan, kemudian dihomogenkan hingga

setengah memadat. Kertas cakram (diameter 6 mm) yang mengandung ampisilin sebagai kontrol positif, etil asetat sebagai control negatif, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol di atas media ditempelkan di atas media. Semua cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati dengan adanya aktivitas antibakteri di sekitar kertas cakram. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong.

III.2.10 Pengamatan Morfologi Actinomycetes

Isolat Actinomycetes kemudian diamati morfologinya secara mikroskopik. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan metode slide kultur untuk melihat morfologi sel. Pada medium SNA *deck glass* diletakkan dengan kemiringan 30° yang berisi peremajaan isolat Actinomycetes setelah berumur 3 hari, kemudian diinkubasi kembali selama 7 hari. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x.

III.2.11 Analisis Data, Pembahasan, dan Kesimpulan

Data hasil penelitian dikumpulkan, kemudian dianalisis dan dibahas, kesimpulan berdasarkan hasil pembahasan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Isolasi *Actinomyces*

Pada penelitian ini dilakukan isolasi *Actinomyces* dari kawasan karst rizosfer tumbuhan meniran (*Phyllanthus urinaria*) yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri. Proses pengambilan sampel dilakukan di kawasan karst yang merupakan kawasan yang tidak akan pernah kehabisan objek penelitian. Menurut Ko (2001), di dalam gua yang gelap itu biasanya ditemukan bakteri, *Actinomyces* dan fungi.

Dalam proses penelitian ini sampel tanah diambil di bagian akar tanah rizosfer. Rhizosfer adalah lapisan tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih dipengaruhi oleh aktivitas akar. Tebal dan tipisnya lapisan rhizosfer setiap tanaman berbeda-beda. Rhizosfer merupakan habitat yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri oleh karena itu, akar tanaman menyediakan berbagai bahan organik yang umumnya menjadi tempat pertumbuhan mikroba (Sumarsih, 2003).

Pada penelitian ini, akar tanaman yang digunakan adalah akar tanaman meniran. Tanaman meniran (*Phyllanthus urinaria*) memiliki aktivitas antibakteri karena memiliki kandungan bahan antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, fenol, dan tannin yang dipercaya berkhasiat sebagai diuretic, antioksidan, antinflamasi, antidiabetes dan antipiretik.

Actinomycetes merupakan bakteri gram positif dan memiliki miselium seperti fungi. Menurut Takahashi (2003), *Actinomycetes* memiliki spora yang tahan terhadap pemanasan kering hingga suhu 120°C, sifat ini dimanfaatkan untuk membunuh sejumlah bakteri kontaminan yang tidak tahan pada pemanasan. Dalam penelitian ini, sampel rizosfer diberi pra-perlakuan berupa pemanasan pada suhu 60°C di dalam oven selama 15 menit untuk menghilangkan sejumlah bakteri kontaminan yang tidak tahan terhadap pemanasan. Menurut Goodfellow *et al.* (1988), pemanasan pada suhu rendah tidak akan mengurangi jumlah *Actinomycetes* secara signifikan, tetapi pemanasan pada suhu rendah ini akan mengurangi jumlah bakteri gram negatif secara signifikan baik secara panas basah maupun panas kering (Lazzarani *et al.*, 2000). Menurut Hayati (2012), bakteri selain *Actinomycetes* rentan pada suhu 60°C, sehingga *Actinomycetes* masih dapat tumbuh dengan baik pada suhu tersebut.

Actinomycetes diisolasi dengan menggunakan medium SNA (*Starch Nitrate Agar*). Medium SNA merupakan medium yang paling umum digunakan untuk isolasi *Actinomycetes*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Shahat *et al.* (2011), medium SNA adalah medium yang paling baik, disusul oleh medium *fish-meal extract*, *inorganic salts starch*, *oat-meal starch*, dan medium *gliserol asparagin*. Media SNA mempunyai kandungan sumber karbon dan mineral. Sumber karbon media SNA berasal dari *Starch Nitrate*. Dua isolat dari pengenceran 10^{-3} (Gambar 1) berhasil diisolasi dan dilanjutkan pada pemurnian.



Gambar 1. Isolat awal *Actinomycetes*

Pemurnian dilakukan menggunakan teknik gores sinambung pada medium ISP2, kemudian isolat murni diberi kode Y1 dan Y2 (Gambar 2).



Gambar 2. Isolat *Actinomycetes*

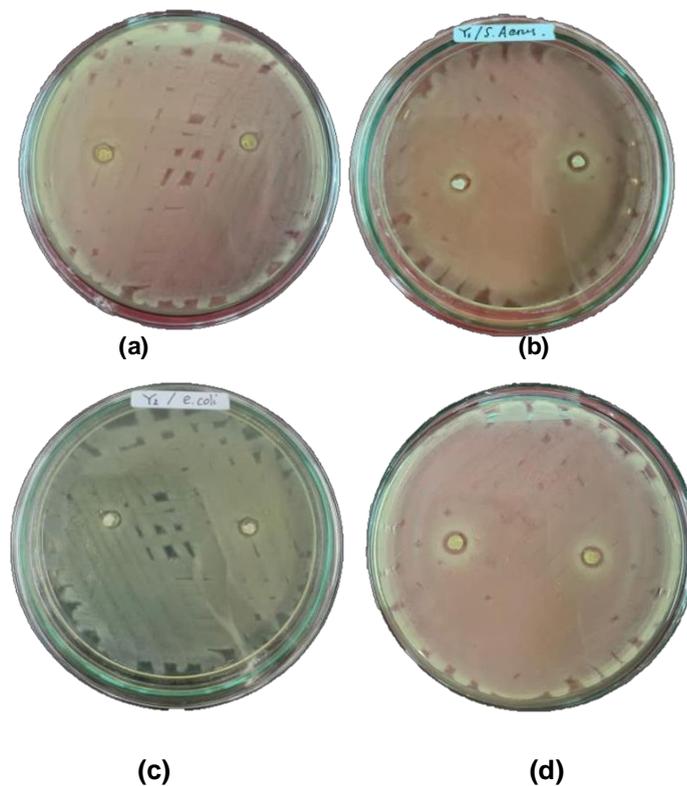
Kedua isolat tersebut memiliki karakteristik yang hampir sama dari segi bentuk (bulat), namun memiliki warna yang berbeda: isolat Y1 berwarna kuning dan isolat Y2 berwarna putih. Karakteristik permukaan kedua isolat menunjukkan karakteristik serupa *Actinomycetes* dengan konsistensi berbutuk dan melekat kuat pada medium serta memiliki

pertumbuhan yang lambat, hal ini berbeda dengan koloni bakteri lain yang memiliki permukaan berlendir dan memiliki pertumbuhan yang cepat (Holt *et. al*, 1994).

IV.2 Uji Antagonis Isolat *Actinomycetes*

Uji antagonis merupakan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari isolat-isolat murni *Actinomycetes* yang telah dimurnikan sebelumnya (Rianty *et al.*, 2010). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *agar block* atau slide kultur untuk mengamati berbagai jenis koloni, metode ini dipilih karena salah satu metode yang paling banyak digunakan dalam penelitian untuk memudahkan pengamatan jenis koloni (Saraswati *et al.*, 2007). Mikroba uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* sebagai perwakilan bakteri gram negatif dan *Staphylococcus aureus* sebagai perwakilan bakteri gram positif. Hasil uji antagonis dapat dilihat pada (Gambar 3).

Kedua isolat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yang ditandai dengan adanya zona bening pada agar yang telah berisi mikroba uji tersebut, dapat dikatakan bahwa isolat *Actinomycetes* kode Y1 dan Y2 memiliki potensi sebagai penghasil antibakteri spektrum luas karena dapat menghambat bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif (Kee *et al.*, 1996).

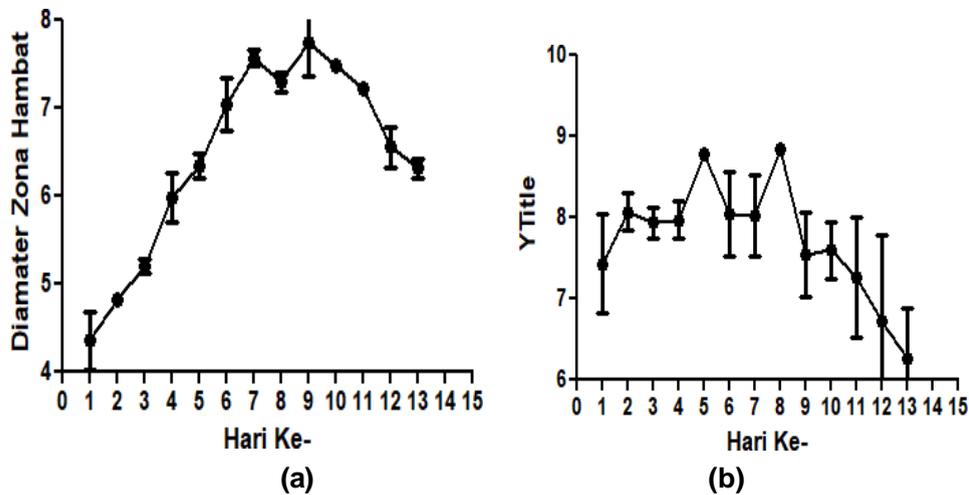


Gambar 3. Hasil uji antagonis isolat *Actinomycetes*: (a) uji antagonis isolat kode Y1 terhadap *E. coli*; (b) uji antagonis isolat kode Y1 terhadap *S. aureus*; (c) uji antagonis isolat kode Y2 terhadap *E. coli*; (d) uji antagonis isolat kode Y2 terhadap *S. aureus*

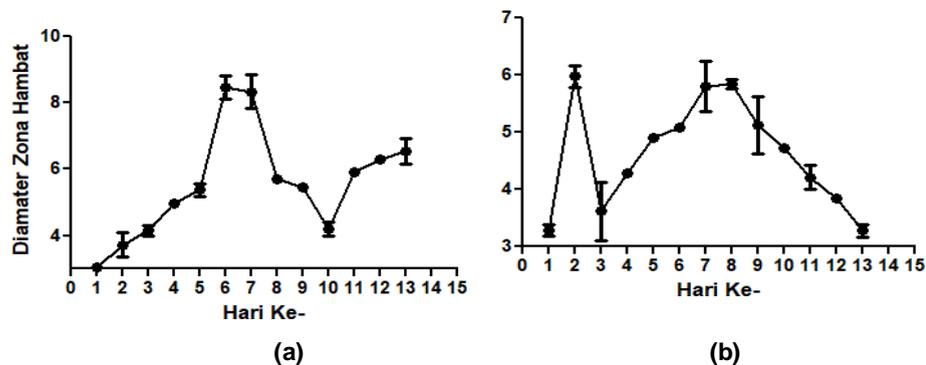
IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi

Fermentasi dilakukan pada isolat aktif dari uji antagonis untuk memperoleh senyawa metabolit sekundernya. Medium produksi yang digunakan dalam fermentasi ini adalah SNB (*Starch Nitrate Broth*) karena medium ini mengandung karbon dan mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan maupun aktivitas bakteri. Sumber karbon media SNB berasal dari *soluble starch* yang mengandung sejumlah C yang beragam dari pati dan gliserol (Pradani *et. al* 2020). Fermentasi dilakukan selama 13 hari menggunakan medium fermentasi sebanyak 150 mL dengan bantuan pengocokan. Setiap hari dilakukan pencuplikan untuk mengecek

aktivitas antimikroba yang menandakan terjadinya produksi metabolit sekunder antimikroba. Hasil pengujian ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik hubungan antara diameter zona hambat (mm) dan lama fermentasi (hari) isolat *Actinomycetes* kode Y1: (a) terhadap bakteri uji *E. coli*, (b) terhadap bakteri uji *S. aureus*



Gambar 5. Grafik hubungan antara diameter zona hambat (mm) dan lama fermentasi (hari) isolat *Actinomycetes* kode Y2: (a) terhadap bakteri uji *E. coli*, (b) terhadap bakteri uji *S. aureus*

Berdasarkan Gambar 4, zona hambat terbesar diamati pada hari ke-9 untuk isolat *Actinomycetes* Y1 untuk bakteri uji *E. coli* dan pada hari ke-8 untuk bakteri uji *S. aureus*. Sedangkan untuk isolat *Actinomycetes* Y2 (Gambar 5), zona hambat terbesar diamati pada hari ke-6 untuk bakteri uji *E. coli* dan pada hari ke-2 untuk bakteri uji *S. aureus*. Song (2012)

mengatakan bahwa bertambahnya waktu fermentasi tidak berarti metabolit sekunder yang dihasilkan semakin banyak. Setiap mikroorganisme memiliki pertumbuhan yang berbeda-beda tergantung dari gen dan sumber nutrisi yang didapatkan (Pratama *et al.*, 2015).

Setelah diamati, hasil fermentasi diekstraksi dengan bantuan sonikasi agar metabolit sekunder yang berada dalam sel biomassa dapat terlepas ke media (Noviana *et al.*, 2018). Setelah sonikasi, biomassa dipisahkan dan ekstraksi pada filtrat dilanjutkan menggunakan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah. Penggunaan pelarut etil asetat yang bersifat semipolar bertujuan untuk menarik komponen senyawa senyawa dengan rentang polaritas lebar dari polar hingga nonpolar (Pratama *et al.*, 2015). Dari proses tersebut, 0,15 g ekstrak etil asetat dan 0,38 g ekstrak air diperoleh dan dilanjutkan ke uji aktivitas antimikroba.

IV.4 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan untuk memastikan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak dengan menggunakan metode *agar diffusion*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 2,5%, 5%, 10%. Selain itu, digunakan pula kontrol positif *disk* amoksisilin dan kontrol negatif pelarut etil asetat. Menurut Sujatha *et al.* (2015), apabila diameter daerah hambatan sebesar 5-9 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, 10-20 mm dikategorikan sedang, dan lebih dari 20 mm dikategorikan kuat. Mikroba uji yang digunakan adalah *S. aureus*

ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 25922. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat dan air isolat *Actinomyces* Y1

| Konsentrasi | Ekstrak | Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) | |
|-----------------|-------------|-------------------------------------|----------------|
| | | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> |
| 2,5% | Etil asetat | - | 12,23 ± 0,32 |
| | Air | - | - |
| 5% | Etil asetat | 6,17 ± 0,09 | 13,12 ± 0,14 |
| | Air | - | - |
| 10% | Etil asetat | 15,53 ± 0,85 | 13,45 ± 0,10 |
| | Air | - | - |
| Kontrol positif | Amoksisilin | 18,60 ± 1,31 | 16,53 ± 1,61 |

Tabel 2. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat dan air isolat *Actinomyces* Y2

| Konsentrasi | Ekstrak | Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) | |
|-----------------|-------------|-------------------------------------|----------------|
| | | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> |
| 2,5% | Etil asetat | 6,8 ± 0,39 | 6,02 ± 0,17 |
| | Air | - | - |
| 5% | Etil asetat | 8,12 ± 0,19 | 6,18 ± 0,01 |
| | Air | - | - |
| 10% | Etil asetat | 7,41 ± 0,28 | 7,00 ± 0,06 |
| | Air | - | - |
| Kontrol positif | Amoksisilin | 16,5 ± 1,69 | 15,12 ± 0,34 |

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat hasil fermentasi isolat *Actinomyces* Y1 dan Y2 memiliki aktivitas penghambatan yang sedang pada konsentrasi 10% dengan spektrum luas (mampu menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*) (Pagarra *et al.*, 2017). Tidak ada aktivitas antimikroba yang diamati pada ekstrak air yang menandakan kemungkinan senyawa aktif bersifat semipolar hingga non-polar. Terdapat korelasi antara konsentrasi ekstrak dengan aktivitas antimikroba.

IV.5 Identifikasi *Actinomycetes*

Identifikasi isolat *Actinomycetes* dilakukan melalui pengamatan makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan secara makroskopik bertujuan untuk mengetahui morfologi *Actinomycetes* meliputi bentuk, elevasi, tepian warna miselium udara dan miselium substrat, serta produksi pigmen terlarut dari *Actinomycetes*. Hasil pengamatan makroskopik ditunjukkan pada Tabel 3.

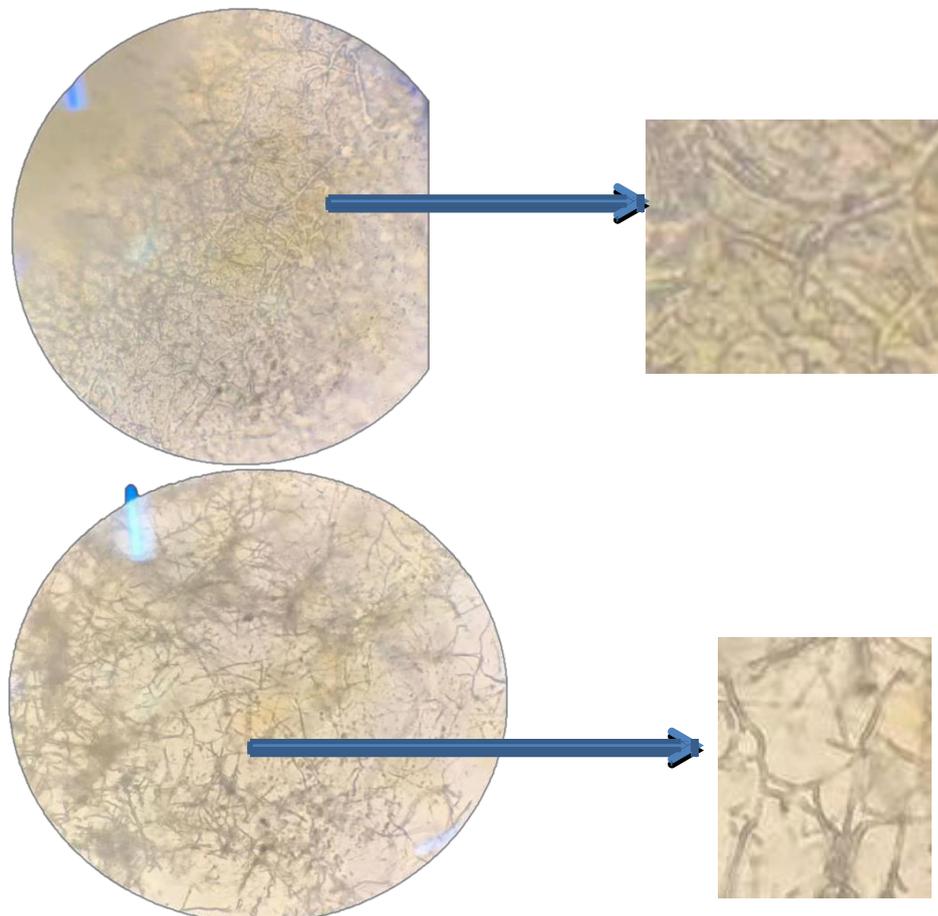
Tabel 3. Hasil Karakterisasi isolat *Actinomycetes* isolat Y1 dan Y2

| Kode Isolat | Miselium Aerial | Miselium Substrat | Pigmen Terlarut | Koloni | | |
|-------------|--------------------|-------------------|-----------------|------------|---------|----------|
| | | | | Bentuk | Elevasi | Tepian |
| Y1 | Kuning keabu-abuan | - | - | Punctiform | Convex | Endulate |
| Y2 | Putih keabu-abuan | Berwarna putih- | - | Punctiform | Convex | Endulate |

Isolat *Actinomycetes* Y1 berbentuk bulat dengan miselia udara berwarna kuning, sedangkan isolat *Actinomycetes* Y2 berbentuk bulat dengan miselia udara berwarna putih. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kumar *et al.* (2010), yang mengatakan bahwa sebagian besar miselium udara berwarna putih. Selain itu warna abu-abu dan putih, ditemukan pula miselium udara berwarna coklat, kuning, krem, dan pink (Kumar *et al.*, 2010).

Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan metode *slide culture*. Metode *slide culture* memiliki keuntungan yaitu metode yang dilakukan sederhana dan mudah serta tidak merusak miselium dari isolat *Actinomycetes* yang akan diamati. Dalam pengamatan ini digunakan

perbesaran mikroskop 100x (okuler 10x dan objektif 10x). Hasil uji mikroskop dapat dilihat pada Gambar 6.



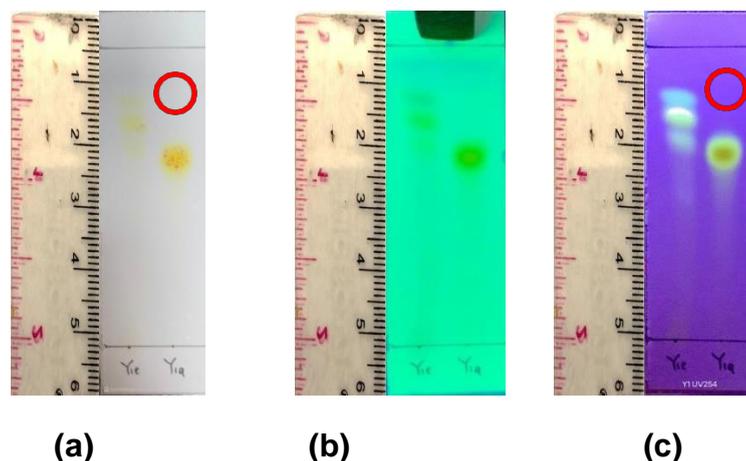
Gambar 6. Hasil uji mikroskopik isolat *Actinomycetes* Y1 dan Y2 dengan perbesaran 100x

Berdasarkan gambar tersebut, isolat Y1 dan Y2 diduga *Actinomycetes* genus *Microbispora* sp. Genus ini dicirikan oleh pembentukan pasangan spora memanjang pada hifa udara. Beberapa spesies *Microbispora* membutuhkan waktu 2-4 minggu untuk membentuk koloni yang terlihat pada media agar dan 4-6 minggu untuk membentuk spora matang (Suwandi,1993).

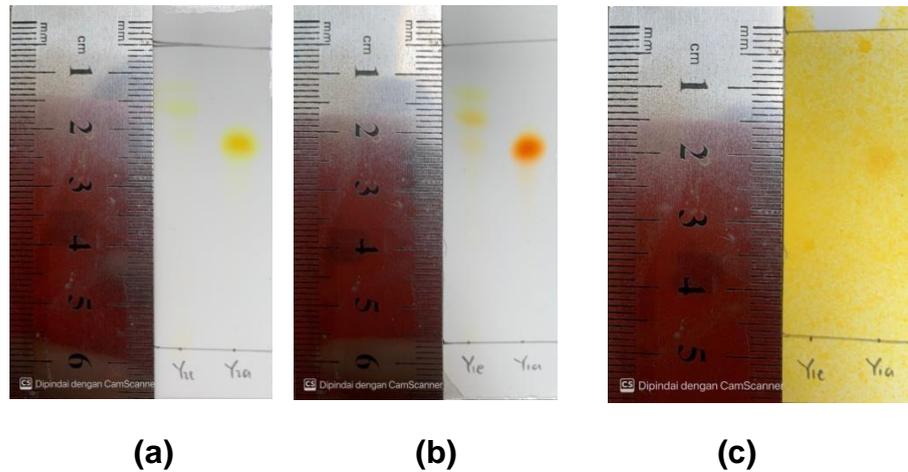
IV.6 Kromatografi Lapis Tipis dan Skrining Fitokimia

Identifikasi golongan senyawa pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode uji fitokimia pada lempeng KLT. Menurut Ambarwati *et al.* (2012), tujuan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) adalah untuk mengetahui jenis senyawa kimia sebagai zat penghasil antibiotik (Ambarwati *et al.*, 2012). Lempeng KLT yang telah diaktifkan dan ditotolkan ekstrak, dielusi menggunakan eluen, setelah dielusi lempeng diamati dibawah lampu UV 254 nm dan 366 nm untuk diamati bercak noda yang terbentuk, lalu disemprot menggunakan pereaksi identifikasi.

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak isolat Y1 dan Y2, yang telah ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi menggunakan eluen Heksan dan Etil asetat dengan perbandingan 1:1, kemudian hasilnya diamati dibawa sinar UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot dengan pereaksi identifikasi. Hasil pengujian KLT dapat dilihat pada Gambar 8.

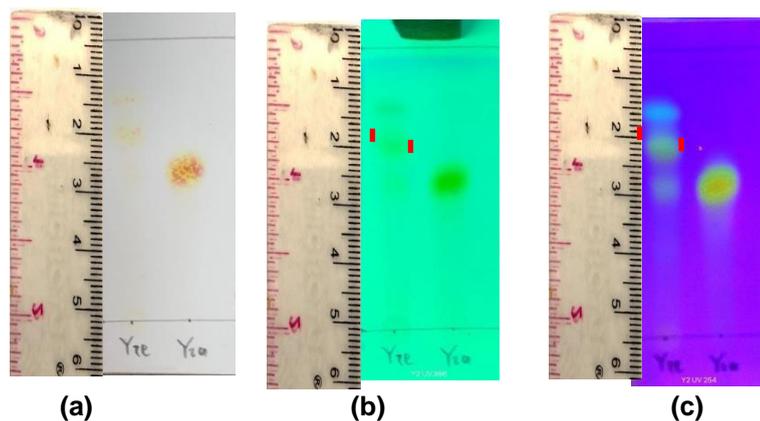


Gambar 8. Kromatogram ekstrak air dan etil asetat dari metabolit sekunder *Actinomycetes* Y1 dengan eluen (heksan : etil asetat 1:1); (a) penampakan noda setelah penyemprotan H_2SO_4 + pemanas; (b) penampakan noda di bawah sinar UV 366 nm; (c) penampakan noda dibawah sinar UV 254 n

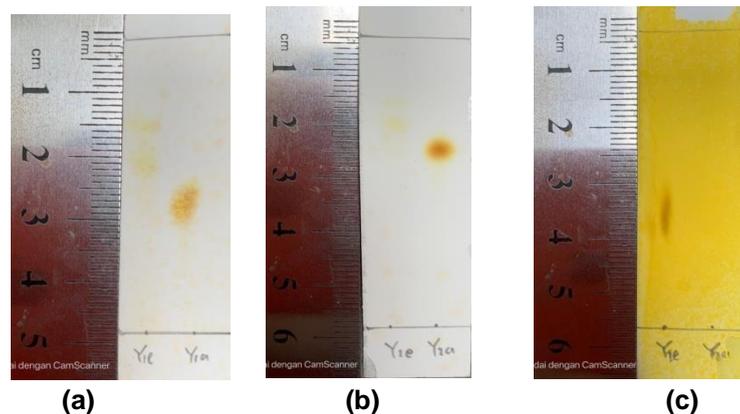


Gambar 9. kromatogram ekstrak air dan etil asetat isolat *Actinomyces* Y1 dengan eluen (heksan : etil asetat 1 :1); (a) penampakan noda menggunakan reagen sitoborat; (b) penampakan noda menggunakan reagen FeCl_3 ; (c) penampakan noda menggunakan reagen Dragendrof.

Pada Gambar 8, terdapat 3 spot noda yang telah terpisah pada ekstrak etil asetat dan terdapat 1 spot noda pada ekstrak air dengan jarak nilai Rf Y1 ekstrak air 0,45 cm, untuk ekstrak etil terdapat tiga noda terpisah dengan jarak nilai Rf Y1 ekstrak etil 0,45 cm, 0,56 cm dan 0,67 cm.



Gambar 10. Kromatogram ekstrak air dan etil asetat dari metabolit sekunder *Actinomyces* Y2 dengan eluen (heksan : etil asetat 1:1); (a) penampakan noda setelah penyemprotan H_2SO_4 + pemanas; (b) penampakan noda di bawah sinar UV 366 nm; (c) penampakan noda dibawah sinar UV 254 nm



Gambar 11. kromatogram ekstrak air dan etil asetat isolat *Actinomyces* Y1 dengan eluen (heksan : etil asetat 1 :1); (a) penampakan noda menggunakan reagen sitoborat; (b) penampakan noda menggunakan reagen FeCl_3 ; (c) penampakan noda menggunakan reagen Dragendroff.

Pada gambar 10, terdapat 3 spot noda yang telah terpisah pada ekstrak etil asetat dan terdapat 1 spot noda pada ekstrak air dengan jarak nilai Rf Y2 0,58 untuk ekstrak etil terdapat tiga noda terpisah dengan jarak nilai Rf Y2 ekstrak etil 0,73 cm, 0,66 cm, 0,6 cm.

Untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung di dalam ekstrak air dan etil asetat isolat *Actinomyces* Y1 dan Y2, dilakukan skrining fitokimia dengan cara menyemprotkan reagen pada lempeng KLT yang telah dielusi. Beberapa reagen yang digunakan adalah reagen Dragendorff untuk mendeteksi senyawa alkaloid, reagen sitoborat dan FeCl_3 untuk mendeteksi senyawa flavonoid (Raihan *et al.*, 2020). Hasil kromatogram fitokimia pada Gambar 9 dan Gambar 11 menunjukkan spot noda pada ekstrak etil asetat dan air isolat *Actinomyces* Y1 dan Y2 terdapat spot noda berwarna kuning sehingga diduga mengandung senyawa Flavonoid setelah diuji menggunakan reagen sitoborat. Pada identifikasi senyawa flavonoid juga didapatkan hasil positif pada ekstrak etil asetat dan air setelah diuji menggunakan reagen FeCl_3 yang ditandai

dengan spot noda berwarna merah. Hasil positif juga didapatkan pada uji alkaloid menggunakan reagen Dragendorff, terdapat spot noda pada ekstrak etil asetat dan terdapat bercak orange sehingga diduga ekstrak etil asetat mengandung senyawa alkaloid.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Isolat *Actinomycetes* Y1 dan Y2 dari tanah rizosfer karst Kawasan Leang-leang Maros mampu menghasilkan aktivitas antimikroba bersprektum yang luas terhadap *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923. Kedua isolat diduga merupakan genus *Microbispora* sp.

V.2 Saran

Sebaiknya dilakukan optimalisasi proses fermentasi dan media fermentasi serta isolasi senyawa antimikroba dari isolat.

DAFTAR PUSTAKA

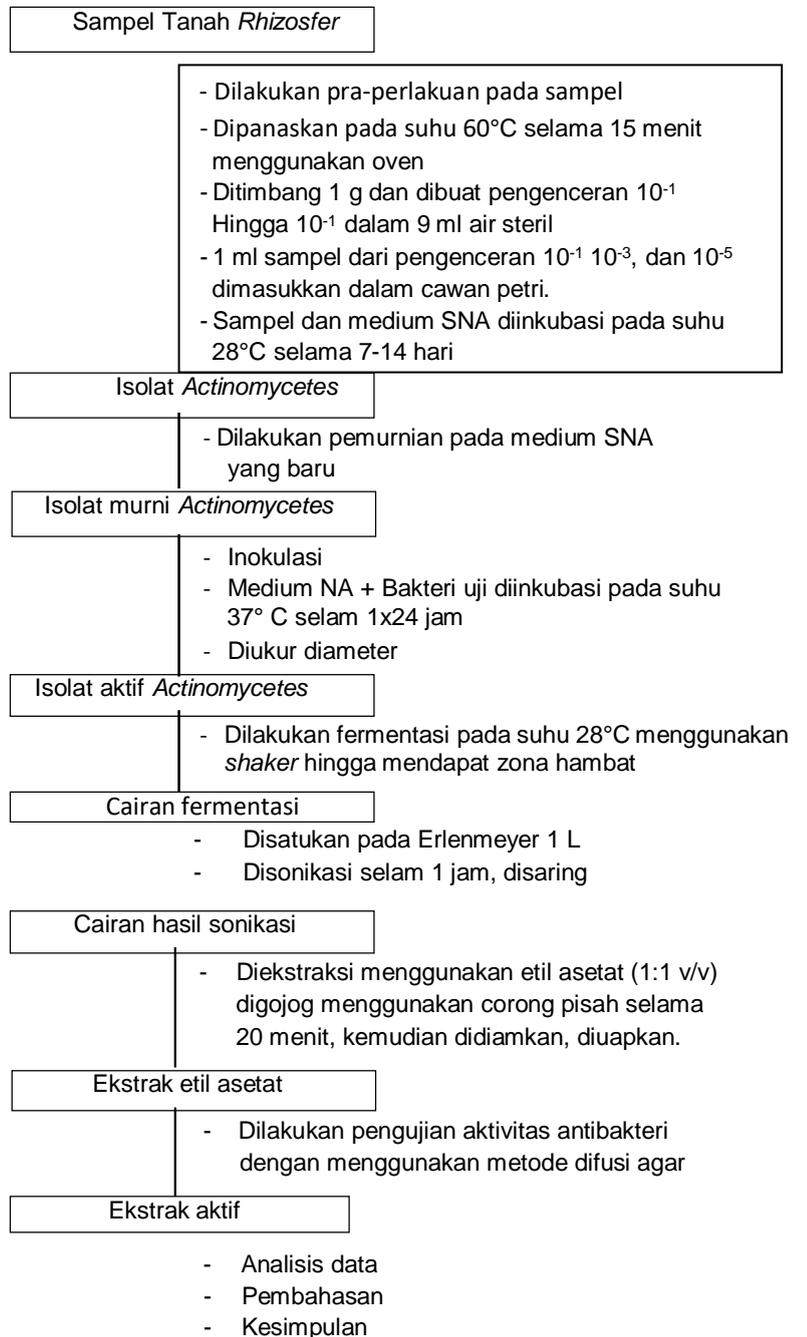
- A.M, K., Fathurahman R, N. and Nur R., M. 2012 'Potensi Actinomycetes Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif Antibiotik Dari Kawasan Karst Bantimurung, Sulawesi Selatan', *Pelita - Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*, 7(1), pp. 59–72.
- Adriani and Febriwanti Tulak, Y. 2013 'Isolasi dan Karakterisasi Actinomycetes Sebagai Penghasil Antibiotik Dari Sampel Tanah Pada Peternakan Sapi di Kecamatan Galesong Kabupaten Takalar', *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 1(2), pp. 97–100. doi: 10.24252/bio.v1i2.454.
- Ambarwati, Tanti A., Langkah S., dan Subagus W. *Uji Aktivitas Antifungi Isolat Actinomycetes Yang Berasosiasi dengan Rhizosfer Padi (Oriza sativa)*. Jurnal Kesehatan, ISSN 1979-7621, Vol. 5, No. 2, Desember 2012: 139-140
- Ecular, M. O. L. *et al.* 2010, pp. 1–18. Husen, E., Saraswati, R. and Simanungkalit, R. D. . 2007 *Soil Biological Analysis Methods*.
- Goodfellow M, William ST, Mordarski M, *Actinomycetes in Biotechnology*. New York : Academic Press, 1988.
- Hayati, R.S. *Populasi actinomycetes dari pasir pantai Krakal Yogyakarta dengan pretreatment yang berbeda*. Skripsi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Biologi. Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2012.
- Kee, J.L., dan Hayes, E.R, *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*, hal 140-145, 435-443. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta. 1996
- Kumar, N., Singh, R.K.K.K., S. Mishra., K. Singh, A, dan C. Pachouri, U, 2010. *Isolation and screening of soil actinomycetes as source of antibiotic active against bacteria*. *Inter J of Micro Research*. 2010. 2(2): pp 12-16
- Lazzarani, A. Cavaletti, L., Toppo G, dan Marinelli F, *Rare general of actinomycetes as potential producer of new antibiotic*. *AntonieVan Leeuwenhoek*, 2000. 78 (3-4); pp. 399-405
- Mutschler, E. *Dinamika obat: Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Edisi Kelima, Alih bahas Widiyanto, M.B., dan Ranti, A.S. Bandung: ITB, 1999

- Panagan, A. 2011 'Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika dari Tanah Kampus Unsri Indralaya Menggunakan Media Ekstrak Tanah', *Jurnal Penelitian Sains*, 14(3), p. 168353.
- Permenkes RI 2011 'Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES/PER/XII', *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*, pp. 34–44.
- Pujiati, P. 2014 'Isolasi Actinomycetes Dari Tanah Kebun Sebagai Bahan Petunjuk Praktikum Mikrobiologi', *Florea: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 1(2), pp. 42–46. doi: 10.25273/florea.v1i2.390.
- Putri, A. L., Lisdiyanti, P. and Kusmiati, M. 2018 'Identifikasi Aktinomisetes Sedimen Air Tawar Mamasa, Sulawesi Barat Dan Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Dan Pelarut Fosfat', *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(2), p. 139. doi: 10.29122/jbbi.v5i2.2953.
- Pradani, *et al.* 2020 Optimasi pertumbuhan isolat bakteri dan uji aktivitas cairan kultur terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal ilmiah Ibnu Sina*, 2503-1902.
- Sharma, D. *et al.* 2011 'Antimicrobial activity of actinomycetes against multidrug resistant staphylococcus aureus, E. coli and various other pathogens', *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10(6), pp. 801– 808. doi: 10.4314/tjpr.v10i6.14
- Shatat, A.S., Abouwarda, A., dan El-Wafa, W.M.A, *Production of Candida albicans by Egyptian. Streptomyces isolates. Inter J of Microbio Research*, 2012. 2(2). pp. 167-171
- Sosilowati, D.N., Hastuti, R.D., dan Yulianti E. *Isolasi dan Karakterisasi Actinomycetes penghasil antibakteri enteropatogen Escherichia coli K1. 1, Pseudomonas pseudomallei 02 05, dan Listeria monocytogenes 5407*, *Jurnal Argo Biogen*, 2007. 3(1), pp. 15-23
- Sujatha, T., Ramadevi, M., Ragini, P.S., and unshasri, K. *Isolation of antagonistic actinomycetes spesies from rhizosphere of non bt-cotton*, *International J f Multidiciplinary Research and Development*. 2015 2(4): pp. 116-112
- Suwandi, U. *Skrining mikroorganisme penghasil antibiotik*, *Cermin dunia kedokteran*, 1993, 89: pp, 46-48
- Syafitri, I. N., Hidayati, I. R. and Pristiany, L. 2016 'Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol. 3 No. 1 Juli 2016 32', 3(1), pp. 32–38.

Takahashi, Y., Satoshi, *Isolation of new actinomycetes galurs for tge screening of new bioactive. J Gwn Appl Microbiol.* 2003. 49; pp 141-154

Utami, E. R. 2012 'Antibiotika, Resistensi, Dan Rasionalitas Terapi', *Sainstis*, pp. 124–138. doi: 10.18860/sains.v0i0.1861.

LAMPIRAN

Lampiran 1
Skema kerja penelitian

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Pengambilan sampel tanah rizosfer kawasan karst



Gambar 2. Dilakukan pengenceran sampel yaitu 10^{-1} 10^{-2} dan 10^{-3}



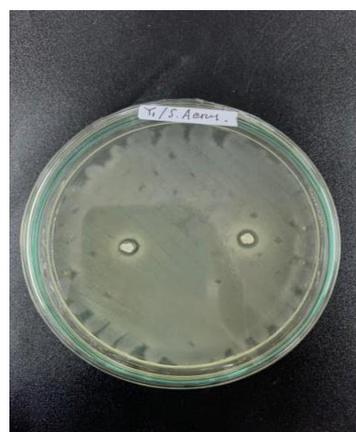
Gambar 3. Hasil isolasi *Actinomycetes* pada tanah rizosfer



Gambar 4. Hasil Pemurnian isolat Y1 *Actinomycetes*.



Gambar 5. Hasil pemurnian isolat Y2 *Actinomycetes*



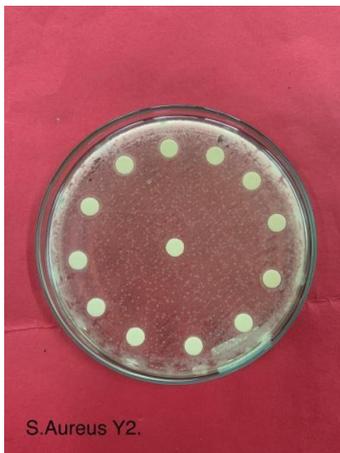
Gambar 6. uji antagonis menggunakan medium NA dengan Bakteri uji *S.aureus* dan *E. coli*



Gambar 7. Pembuatan starter atau perkultur terhadap isolat Y1 dan Y2.



Gambar 8. Hasil fermentasi selama 13 hari



Gambar 9. Hasil uji aktivitas antimikroba Y2



Gambar 10. Hasil uji aktivitas antimikroba Y2



Gambar 11. Hasil fermentasi kemudian Disonikasi



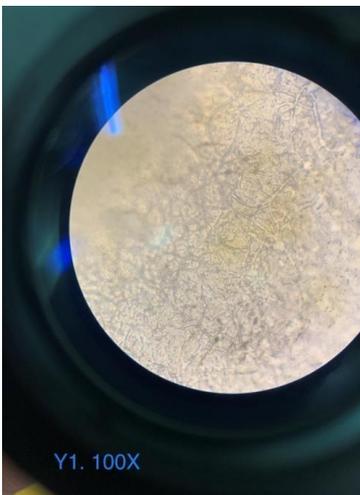
Gambar 12. Proses ekstraksi sampel.



Gambar 13. Proses penimbangan ekstrak etil asetat



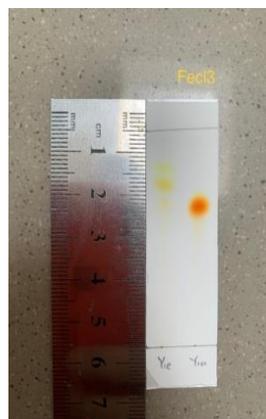
Gambar 14. Hasil pengujian efektivitas antimikroba pada ekstrak etil dan air.



Gambar 15. Dilakukan pengujian mikroskopik Isolat Y1 dan Y2



Gambar 16. Hasil uji KLT dengan eluen heksan eti 1;1.



Gambar 17. Hasil kromatogram dengan berbagai reagen