

**UJI AKTIVITAS ISOLAT *ACTINOMYCETES* DARI SAMPEL
PASIR GUNUNG SLAMET TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli DAN *Bacillus subtilis***

SKRIPSI



Oleh:

**MIFTA RIZKI UTAMI
K100120090**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS ISOLAT *ACTINOMYCETES* DARI SAMPEL
PASIR GUNUNG SLAMET TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli DAN *Bacillus subtilis***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana
Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi Universitas
Muhammadiyah Surakarta
di Surakarta**



**Oleh:
MIFTA RIZKI UTAMI
K100120090**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :

**UJI AKTIVITAS ISOLAT *ACTINOMYCETES* DARI SAMPEL
PASIR GUNUNG SLAMET TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli DAN *Bacillus subtilis***

**Oleh:
MIFTA RIZKI UTAMI
K100120090**

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada tanggal : 13 Desember 2016**

**Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,**


Azis Saifudin, Ph.D., Apt

Pembimbing Utama


Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Penguji :

- 1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt**
- 2. Ratna Yuliani, M.Biotech.St**
- 3. Rima Munawaroh, M.Sc., Apt**


1. _____

2. _____

3. _____

DEKLARASI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini 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.

Saya bersedia dan sanggup menerima sanksi sesuai peraturan yang berlaku apabila terbukti melakukan tindakan pemalsuan data dan plagiasi.

Surakarta, 13 Desember 2016

Peneliti



(Mifta Rizki Utami)

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuh

Alhamdulillahirobbil 'alamin, dengan nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Segala puji hanya milik Allah. Puji syukur kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini yang berjudul “Uji aktivitas isolat *Actinomyces* dari sampel pasir Gunung Slamet terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*” yang disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Bapak Azis Saifudin, Ph.D, Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
2. Ibu Mariska Sri Harlianti, S.Farm. selaku pembimbing akademik.
3. Ibu Rima Munawaroh, M. Sc., Apt. selaku pembimbing skripsi.
4. Kedua orang tua Bapak Amad Sidik dan Ibu Munjiyah dan semua keluarga yang selalu mendukung dan mendoakan.

Penulis mengharapkan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan kemajuan ilmu pengetahuan khususnya bidang farmasi.

Wassalamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuh.

Surakarta, 13 Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN Sampul.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
HALAMAN DEKLARASI	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Tinjauan Pustaka.....	3
1. <i>Actinomyces</i>	3
2. <i>Escherichia coli</i>	4
3. <i>Bacillus subtilis</i>	5
4. Uji Aktivitas Antibakteri	5
5. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Bioautografi	6
E. Landasan Teori	7
F. Hipotesis	8
BAB II. METODE PENELITIAN.....	8
A. Kategori Penelitian	8
B. Alat dan Bahan	9
C. Tempat Penelitian	9
D. Jalannya Penelitian	9

1. Pengambilan Sampel dan Pra-perlakuan Sampel	10
2. Sterilisasi Alat dan Bahan.....	10
3. Pembuatan Media.....	10
4. Tahapan Isolasi <i>Actinomyces</i>	12
5. Pewarnaan Gram Isolat <i>Actinomyces</i>	13
6. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat <i>Actinomyces</i>	14
7. Penumbuhan Isolat pada Media <i>starch casein broth</i>	15
8. Identifikasi Senyawa Kimia	15
E. Teknik Analisis Data	16
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
A. Pengambilan Sampel dan Pra-perlakuan Sampel Pasir	17
B. Isolasi dari Sampel Pasir <i>Actinomyces</i>	17
C. Uji Pewarnaan Gram pada Bakteri Uji	23
D. Uji Aktivitas Antibakteri isolat <i>Actinomyces</i>	23
E. Uji Kromatografi Lapis Tipis dan Bioautografi	25
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN	26
A. Kesimpulan	26
B. Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Actinomycetes</i>	3
Gambar 2. Skema Jalannya Penelitian	10
Gambar 3. Hasil Penanaman Isolat <i>Actinomycetes</i> pada Media <i>starch casein agar</i> (SCA) dengan konsentrasi 10^{-1} hingga 10^{-3}	19
Gambar 4. Hasil Pengecatan Gram Bakteri Uji <i>Escherichia coli</i> (A) dan <i>Bacillus subtilis</i> (B) secara Mikroskopik.....	23
Gambar 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> (A) dan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> (B)	24
Gambar 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dari Filtrat Isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> (A) dan <i>Bacillus subtilis</i> (B).....	25
Gambar 7. Hasil KLT dengan fase diam silika GF ₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksan (2:3). (A) deteksi visual (B) deteksi UV 254 nm (C) deteksi UV 366 nm (D) deteksi dengan reagen semprot anisaldehyd-H ₂ SO ₄ secara sinar tampak.....	25
Gambar 8. Hasil Uji Bioautografi pada Bakteri <i>Escherichia coli</i> (A) dan <i>Bacillus subtilis</i> (B)	26

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Identifikasi menurut Waksmundzka-Hajnos <i>et al.</i> ,(2008).....	16
Tabel 2. Hasil Penanaman Isolat <i>Actinomyces</i> pada Media <i>oatmeal agar</i>	20
Tabel 3. Identifikasi Makroskopik Isolat <i>Actinomyces</i> pada Media <i>oatmeal agar</i>	22
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat <i>Actinomyces</i> dengan kode A4, A10, A10b.....	24
Tabel 5. Hasil Pengamatan warna lempeng KLT kode Isolat A10.....	26

DAFTAR SINGKATAN

BHI	: <i>Brain Heart Infussion</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
HPLC	: <i>High Perfomance Liquid Chromatography</i>
KLT	: <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
LAF	: <i>Laminar Air Flow</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
SCA	: <i>Starch Casein Agar</i>
SCB	: <i>Starch Casein Broth</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Hasil Uji Bakteri.....	30
---	----

ABSTRAK

Resistensi bakteri terhadap obat antibakteri, merupakan salah satu permasalahan yang serius terhadap kesehatan masyarakat. Berdasarkan permasalahan tersebut sangat penting untuk mencari senyawa antibakteri baru terutama dari mikroorganisme. *Actinomycetes* merupakan mikroorganisme yang memiliki potensi tinggi sebagai penghasil senyawa bioaktif termasuk senyawa antibakteri. Tanah adalah habitat *Actinomycetes*. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui jumlah isolat *Actinomycetes*, potensi antibakteri yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* dari sampel pasir Gunung Slamet terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*, serta mengetahui golongan senyawa antibakteri.

Isolasi *Actinomycetes* dari pasir Gunung Slamet dilakukan dengan pengambilan sampel pasir pada 5 titik lokasi, pra-perlakuan sampel pasir, estimasi sampel pasir dengan tingkat pengeceran 10^{-1} hingga 10^{-3} , isolasi pada media selektif. Media yang digunakan adalah *starch casein agar*, *starch casein broth*, *Bennet agar*, *oatmeal agar*. Identifikasi isolat *Actinomycetes* menggunakan *colouring grup* dan pewarnaan Gram. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode agar blok. Kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat (2:3). Uji bioautografi menggunakan metode bioautografi kontak.

Isolasi *Actinomycetes* dari sampel pasir Gunung Slamet diperoleh 5 isolat *Actinomycetes* dengan kode isolat A4, A6, A8, A10, A10B. Isolat *Actinomycetes* kode A10 mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 18 mm dan *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat 26 mm. Hasil uji kromatografi lapis tipis dan bioautografi menunjukkan bahwa bercak pada Rf 0,97 mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* yang merupakan senyawa golongan terpenoid dan propilpropanoid.

Kata Kunci : Pasir Gunung Slamet, *Actinomycetes*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*.

ABSTRACT

Bacterial resistance to antibacterial drugs, is one serious problem to public health. Based on these problems, it is very important to search for new antibacterial compounds mainly from microorganisms. Actinomycetes are microorganisms which have a high potential as a producer of bioactive compounds including antibacterial compounds. Soil is the habitat of Actinomycetes. The purpose of this study was to determine the number of the isolate of Actinomycetes, the potential of antibacterial produced by Actinomycetes of sand from Mount Slamet on the growth of Escherichia coli and Bacillus subtilis, and to find out the classification of the antibacterial compounds.

The isolation of Actinomycetes of the sand from Mount Slamet was done by taking some samples of sand at 5 points of location, pre-treatment of sample sand, the estimation of sample sand was done by using dilution rate of 10^{-1} to 10^{-3} , isolation on selective media. The media used are Starch casein agar, Starch casein broth, Bennet agar, Queker oatmeal agar. The identification of Actinomycetes isolates were done using coloring groups and Gram staining. The antibacterial activity was tested by using agar block methods. Thin Layer Chromatography used silica gel GF₂₅₄ as stationary phase and n-hexane: ethyl acetate (2:3) as mobile phase. The bioautografi test was done by using the contact bioautography method.

The isolation of Actinomycetes of Mount Slamet sample sand obtained 5 isolates of Actinomycetes coded A4, A6, A8, A10, A10b. The Actinomycetes isolate of code A10 has indicated to be able to inhibit the growth of Escherichia coli with diameter of inhibitory zone of 18 mm and Bacillus subtilis with diameter of inhibitory zone of 26 mm. The result of Thin Layer Chromatography and bioautography test indicated that compound having antibacterial activity was of Rf value of 0.97 on Escherichia coli and Bacillus subtilis, are classified as the compounds of terpenoids and propylpropanoids.

Keywords: *Mount Slamet sands, Actinomycetes, Escherichia coli, Bacillus subtilis*