

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanah merupakan salah satu habitat bagi mikroorganisme, dalam satu gram tanah terdapat jutaan mikroorganisme. Populasi mikroorganisme per gram tanah yang subur meliputi : bakteri (2.500.000.000), *Actinomycetes* (700.000), fungi (400.000), algae (50.000) dan protozoa (30.000) (Budiyanto, 2004). *Actinomycetes* memiliki habitat didalam tanah. Mikroorganisme terutama *streptomycetes* 70% berada di tanah (Rao *et al.*, 2001). *Actinomycetes* juga ditemukan di tempat-tempat ekstrim seperti di daerah bekas letusan gunung berapi (Rahayu, 2010).

Actinomycetes adalah salah satu mikroorganisme yang banyak dikaji potensinya karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi. *Actinomycetes* sebagai penghasil antibiotik. Dari 10.000 jenis antibiotik yang ditemukan sekitar 75% dihasilkan oleh *Actinomycetes* (Nurkanto *et al.*, 2008). *Actinomycetes* merupakan suatu penghasil senyawa aktif terbanyak dibanding dengan bakteri atau kapang, baik itu senyawa antimikroba, antikanker, antivirus, maupun antikolesterol (Budiyanto *et al.*, 2012). Beberapa antibiotik yang dihasilkan dari jenis *streptomyces* yaitu bleomisin, eritromisin, josamisin, kanamisin, neomisin, dan tetrasiklin (Suwandi, 2010).

Actinomycetes dapat dihasilkan dari pasir Gunung Merapi. Pada penelitian sebelumnya Rahayu (2010), berhasil mendapatkan 10 isolat *Actinomycetes* yang diisolasi dari sampel pasir Gunung Merapi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Sementara penelitian yang dilakukan oleh Ambarwati *et al.*, (2014), berhasil mendapatkan 8 isolat dari tanah pekarangan, 6 isolat mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dengan perincian isolat yang berpotensi lemah dengan diameter zona hambat 5,00-8,00 mm, yang berpotensi sedang dengan diameter zona hambat 12,00 mm dan 2 isolat yang berpotensi kuat dengan diameter zona hambat 28,00-30,00 mm.

Ceylan *et al.*, (2008) berhasil menemukan isolat *Actinomycetes* yang mampu menghambat biakan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Stenotrophomonas maltophilia*. *Actinomycetes* merupakan sumber terbesar antibiotika alami (Waluyo and Lud, 2009), dan mempunyai kemampuan memproduksi senyawa bioaktif termasuk senyawa antibiotik yang bermanfaat (Nord *et al.*, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah isolat *Actinomycetes* dari sampel pasir Gunung Slamet yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dan mengetahui golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan pada penelitian ini yaitu:

1. Berapa jumlah isolat *Actinomycetes* yang dihasilkan dari sampel pasir Gunung Slamet ?
2. Bagaimana potensi antibakteri yang dihasilkan oleh isolat *Actinomycetes* dari sampel pasir Gunung Slamet terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*?
3. Senyawa golongan apa yang terkandung dalam isolat *Actinomycetes* yang dari sampel pasir Gunung Slamet memiliki potensi antibakteri?

C. Tujuan Penelitian

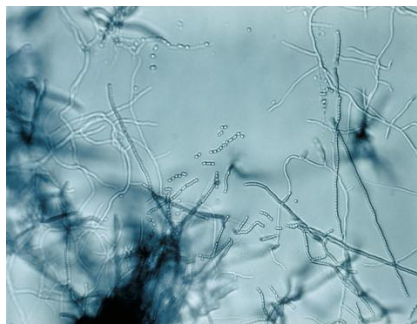
Berdasarkan perumusan masalah yang telah diuraikan maka tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui jumlah isolat *Actinomycetes* dari sampel pasir Gunung Slamet.
2. Mengetahui potensi antibakteri isolat *Actinomycetes* dari sampel pasir Gunung Slamet terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.
3. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam isolat *Actinomycetes* sampel pasir Gunung Slamet yang memiliki potensi antibakteri.

D. Tinjauan Pustaka

1. *Actinomycetes*

Actinomycetes merupakan jenis mikroorganisme yang sangat berpotensi sebagai metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi sebagai antimikroba (Kelecom and Alphonse, 2002). *Actinomycetes* termasuk bakteri Gram positif, filamentus dan membentuk spora, dan dibandingkan dengan kelompok bakteri lain mempunyai perbedaan yang istimewa yaitu mengalami pembelahan yang kompleks dan menghasilkan produk senyawa bioaktif. Bakteri ini banyak ditemukan di tanah, air dan berasosiasi dengan tanaman tingkat tinggi. *Actinomycetes* merupakan suatu penghasil senyawa aktif baik itu senyawa aktif sebagai antimikroba, antikanker, antivirus, maupun antikolesterol (Budiyanto *et al.*, 2012).



Gambar 1. *Actinomycetes* (Rahman *et al.*, 2011)

Ordo Actinomycetales dikelompokkan menjadi 4 familia, yaitu Mycobacteriaceae, Actinomycetaceae, Atreptomycetaceae dan Actinoplanaceae. Genus yang paling banyak dijumpai dari *Actinomycetes* adalah *Streptomyces* (20%), kemudian secara berturut-turut genus *Nocardia* dan *Mikromonospora* (Rao *et al.*, 2001). *Streptomyces* mempunyai kemampuan memproduksi senyawa antimikrobia yang bermanfaat, seperti streptomisin dihasilkan dari *Streptomyces griseus* untuk menyembuhkan tuberkulosis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Kurang lebih 95%, antibiotik dihasilkan *Actinomycetes* berasal dari genus *Streptomyces*, misalnya streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol (Sembiring, 2002).

2. *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil),

mempunyai flagel, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , dan mempunyai simpai (Radji, 2010). *Escherichia coli* merupakan bakteri anaerobik fakultatif dan terdiri dari sel dengan batang pendek, motil atau non motil, dan sel-selnya peritrikus yaitu flagela secara merata tersebar di seluruh permukaan sel (Pelczar and Chan, 2007).

Klasifikasi *Escherichia coli* sebagai berikut :

Kingdom : Prokaryote
 Divisi : Gracilicutes
 Kelas : *Scotobacteria*
 Ordo : *Eubacteriales*
 Family : *Enterobacteriaceae*
 Genus : *Escherichia*
 Species : *Escherichia coli* (Jawetz *et al.*, 2005).

Escherichia coli merupakan flora normal yang terdapat dalam usus. Manifestasi klinik infeksi *Escherichia coli* dengan bakteri enterik lain tergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala atau tanda dari proses-proses yang disebabkan oleh bakteri lain. Bakteri ini dalam saluran intestinal secara normal berfungsi untuk absorpsi makanan, pembusukan hasil sisa makanan dan memproduksi vitamin K (Gupta *et al.*, 2015). Infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* seperti infeksi saluran kencing, diare, sepsis, dan meningitis (Jawetz *et al.*, 2005). *Escherichia coli* sensitif terhadap streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan menghasilkan toksin berupa endotoksin dan eksotoksin (Gupta *et al.*, 2015).

3. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri yang memiliki kemampuan membentuk endospora. Kebanyakan spesiesnya banyak yang berbentuk batang dan bersifat aerobik (genus *basillus*) dan yang lainnya anaerobik (genus *clostridium*). Bakteri ini beserta endosporanya tersebar luas dalam tanah, tumbuh-tumbuhan, air dan terbawa oleh partikel-partikel debu di udara. Endosporanya, karena resistensinya tinggi terhadap panas, dapat bertahan hidup lama. Morfologi selnya batang, kecuali satu spesies mempunyai sel-sel bulat dan dalam bentuk paket, motil karena flagela atau nonmotil (Pelczar and Chan, 2007).

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah :

Kingdom : Prokariote
 Phylum : Firmicutes
 Class : Bacilli
 Order : Bacillales
 Family : Bacillaceae
 Genus : *Bacillus*
 Species : *Bacillus subtilis* (Chon,1872).

Bacillus subtilis memiliki kemampuan memfermentasi glukosa menghasilkan asam dan asetoin, selain itu juga mampu menghidrolisis pati. *Bacillus subtilis* diketahui sebagai penyebab kontaminasi dan kerusakan produk makanan, dapat menyebabkan infeksi pada mata dan paru-paru. *Bacillus subtilis* mempunyai sifat yang lebih menguntungkan daripada mikroorganisme lain karena dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhannya. *Bacillus subtilis* memiliki sifat pertumbuhannya mesofilik (Ryan dan Ray, 2004). *Bacillus subtilis* sensitif terhadap vankomisin, daptomisin, eritromisin, dan tetrasiklin (Andrews dan Wise, 2002).

4. Uji aktivitas Antibakteri dan Antibiotik

Metode uji antimikroba terdiri dari 2 yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode yang paling sering digunakan adalah difusi agar. Metode difusi terdiri dari:

- a. Metode Kirby and Bauer.

Metode Kirby and Bauer menggunakan cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, zona hambatan sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Pratiwi, 2008).

- b. Metode sumuran.

Metode sumuran ini serupa dengan metode Kirby and Bauer, pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme dibuat sumur. Kemudian media yang telah ditanami dengan mikroorganisme diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

c. *Metode agar block.*

Metode *agar block* ini hampir sama dengan metode sumuran. metode ini dilakukan dengan cara meletakkan potongan yang berbentuk silindris dari medium yang merupakan tempat tumbuh *Actinomycetes* ke dalam petri yang sebelumnya telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam inkubasi (Nedialkova dan Naidenova, 2005).

5. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Bioautografi

Kromatografi adalah teknik pemurnian biomolekul berdasarkan atas perbedaan interaksi molekul antara fase diam dan fase gerak (Sherma *et al.*, 2003). Metode kromatografi dapat dilakukan untuk proses pemisahan komponen-komponen dari suatu senyawa. Salah satu metode kromatografi yang dapat digunakan untuk proses pemisahan adalah kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis memisahkan komponen-komponen dari suatu senyawa berdasarkan berat molekul dan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan (Sharma *et al.*, 2009). Fase diam pada kromatografi lapis tipis menggunakan plat silika sedangkan fase gerak menggunakan pelarut maupun campuran pelarut yang disebut eluen (Sherma *et al.*, 2003).

Bioautografi merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antimikroba (Choma, 2005). Metode bioautografi terbagi menjadi bioautografi kontak, bioautografi *agar overlay*, dan bioautografi langsung. Bioautografi kontak dilakukan dengan meletakkan hasil kromatogram suatu senyawa ke permukaan media agar yang sudah mengandung mikroorganisme uji. Bioautografi *agar overlay* menggunakan lempeng kromatogram yang dilapisi medium agar cair yang berisi mikroorganisme uji. Bioautografi langsung dilakukan dengan menyemprot lempeng kromatogram dengan mikroba uji, dan selanjutnya diinkubasi. Zona hambat yang terbentuk divisualisasikan dengan menyemprotkan pewarna tetrazolium klorida (Choma, 2005).

E. Landasan Teori

Penelitian eksplorasi isolat *Actinomycetes* dari pasir Gunung Merapi yang diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dari sampel pasir gunung Merapi

menggunakan metode *agar block* memperoleh 10 isolat menunjukkan zona hambat radikal antara 7-12 mm (Wulandari dan Rahayu, 2015). Ambarwati *et al.*, (2014) mendapatkan 6 isolat yang diambil dari tanah pekarangan menunjukkan mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus Subtilis*. Sebanyak 6 isolat *Actinomycetes* dengan isolat kode STP13 dan RTP10 dengan kemampuan menghambat kuat (28,00-30,00), isolat kode RTP1 dengan kemampuan menghambat sedang (12,00 mm), isolat kode RTP2, RTP3, RTP4, dengan kemampuan menghambat lemah (5,00-9,00 mm). *Actinomycetes* merupakan jenis mikroorganisme yang sangat berpotensi sebagai penghasil metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi sebagai antibakteri (Kelecom and Alphonse, 2002). *Actinomycetes* menghasilkan beberapa komponen senyawa biologis aktif yang memiliki aktivitas sebagai antibiotik antara lain komponen senyawa poliketida, terpenoid, dan diterpen (Tiwari and Gupta, 2012).

F. Hipotesis

Sampel pasir Gunung Slamet berpotensi menghasilkan isolat *Actinomycetes* dan memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Golongan senyawa Isolat *Actinomycetes* menghasilkan senyawa golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri antara lain terpenoid, poliketida, dan diterpen.