



**ISOLASI DAN UJI POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK ISOLAT
AKTINOMISETES DARI SAMPEL TANAH ASAL TERNATE SERTA
IDENTIFIKASI MOLEKULER ISOLAT AKTIF**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Sains (S.Si) pada Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Diponegoro

Oleh :

Febrianti Listyaningsih

J2B 005 071

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
SEPTEMBER, 2010**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi: Isolasi dan Uji Potensi Antimikroba Ekstrak Isolat Aktinomisetes
Dari Sampel Tanah Asal Ternate serta Identifikasi Molekuler Isolat Aktif.

Nama Mahasiswa : Febrianti Listyaningsih

NIM : J2B 005 071

Tanggal Lulus : 22 September 2010

Menyetujui :

Pembimbing I

Pembimbing II

Pembimbing III

Dra. MG. Isworo Rukmi, MKes Dra. Arina Tri Lunggani, MSi Dr. Heddy Julistiono

NIP. 195607301981092001

NIP. 196806181994032002

NIP. 195709241984031001

Ketua Penguji :

Anggota Penguji :

Anggota Penguji :

Drs. Agung Suprihadi, MSi

NIP. 196109201987031001

Drs. Budi Raharjo, MSi

NIP. 196306051992031003

Dr. Hermin Pancasakti K, SSi., MSi.

NIP. 197002081994032001

Mengetahui:

Jurusan Biologi FMIPA UNDIP

Ketua,

Laboratorium Mikrobiologi

Jur. Biologi FMIPA UNDIP
Kepala,

Dra. Erry Wiryani, MS

NIP. 19560519 198403 2 001

MG. Isworo Rukmi SSi., MKes

NIP. 19560730 198109 2 001

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Isolasi dan Uji Potensi Antimikroba Isolat Aktinomisetes dari Sampel Tanah Asal Ternate serta Identifikasi Molekuler Isolat Aktif”. Tugas akhir ini disusun bertujuan untuk memenuhi syarat ujian kelulusan Strata Satu Sarjana Sains (S.Si) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro serta memberikan informasi ilmiah mengenai potensi antimikroba isolat aktinomisetes dari sampel tanah asal Ternate, dosis dan cara kerja senyawa antimikroba, serta kekerabatan isolat melalui identifikasi molekuler. Hal ini dapat dijadikan sebagai salah satu usaha untuk mendapatkan isolat aktinomisetes yang dapat memproduksi senyawa antibiotik baru yang memiliki potensi menghambat mikroba dengan dosis yang rendah.

Penelitian ini dilakukan dengan melakukan isolasi aktinomisetes dari sampel tanah asal Ternate dengan media SDS-YE, uji antimikroba dengan teknik difusi agar dan mengetahui dosis antibiotik dengan metode MIC. Mekanisme penghambatan antibiotik diketahui melalui uji kebocoran sel dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 260 dan 280 nm. Hubungan kekerabatan isolat diketahui melalui identifikasi molekuler dengan menggunakan 16S rDNA. Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi kesempurnaan laporan ini. Harapan penulis semoga tugas akhir ini bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Semarang, September 2010

Penulis

ABSTRAK

Febrianti Listyaningsih, J2B005071, **Isolasi dan Uji Potensi Antimikroba Ekstrak Isolat Aktinomisetes dari Sampel Tanah Asal Ternate serta Identifikasi Molekuler Isolat Aktif** dibawah bimbingan M.G. Isworo Rukmi, Arina Tri Lunggani, dan Heddy Julistiono.

Ternate merupakan salah satu pulau dari Kepulauan Maluku, Indonesia Timur, dengan keanekaragaman flora dan fauna yang tinggi. Ternate memiliki keanekaragaman mikroorganisme yang tinggi, salah satunya adalah aktinomisetes, yang belum banyak dieksplorasi. Aktinomisetes merupakan mikroorganisme tanah dengan distribusi yang luas dan sebagian besar dapat memproduksi senyawa-senyawa antimikroba. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan isolat aktinomisetes dari sampel tanah asal Ternate yang memproduksi senyawa antimikroba, serta mengetahui hubungan kekerabatan isolat berpotensi melalui identifikasi molekuler dengan pendekatan 16S rDNA. Isolasi dilakukan dengan metode *Sodium Dodecyl Sulfida-Yeast Extract* (SDS-YE) dalam media *Humic Acid Vitamin Agar* (HVA). Uji antimikroba dilakukan dengan metode difusi agar dengan mengukur diameter zona bening disekitar cakram kertas. Isolat aktinomisetes yang berpotensi diidentifikasi secara molekuler dengan menggunakan 16S rDNA. Aktivitas ekstrak isolat aktinomisetes terpilih, diuji lebih lanjut untuk mengetahui *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) dan uji kebocoran sel. Hasil isolasi aktinomisetes mendapatkan 60 isolat, dimana 6 isolat diantaranya menunjukkan hasil positif dalam uji antimikroba, yaitu MG 500 1.1, MG 500.1.4, MG 500.16, A 1.6, MG 10.1.S.8, dan MG 1250.1.2 dengan spektrum penghambatan yang bervariasi. Isolat MG 500.1.1 berkerabat dekat dengan *Streptomyces tendae* strain cfcc3130 (keserupaan 87%) dengan nilai MIC 2 µg/mL terhadap *Escherichia coli* dan 16 µg/mL terhadap *Saccharomyces cerevisiae*, dengan melepaskan protein dan senyawa RNA atau DNA dari dalam sel. Isolat MG 1250.1.2 berkerabat dekat dengan *S. rubidus* strain 13C15 (keserupaan 90%) memiliki nilai MIC 16 µg/mL terhadap *Aspergillus niger* dengan melepaskan protein sel tanpa melepaskan RNA atau DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat aktinomisetes asal Ternate memiliki potensi yang besar sebagai antibiotik, sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai produsen antibiotik.

Kata kunci : *Aktinomisetes, isolasi, antibiotik, 16S rDNA, uji kebocoran sel, MIC.*

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Sampul.....	i
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Prakata.....	iii
Abstrak.....	iv
Daftar Isi.....	v
Daftar Gambar.....	vi
Daftar Tabel.....	vii
Daftar Lampiran.....	viii
I. PENDAHULUAN	1
Latar Belakang.....	1
Permasalahan.....	3
Tujuan.....	3
Manfaat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
Ternate	4
Aktinomisetes.....	5
Isolasi Aktinomisetes.....	7
Antibiotika.....	8
Bakteri, Khamir dan Jamur Uji	11
Identifikasi Molekuler	16
Uji Kebocoran Sel	20
III. METODE PENELITIAN	22
Waktu dan Tempat.....	22
Alat dan Bahan.....	22
Cara Kerja.....	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
Isolasi Aktinomisetes	33
Produksi dan Ekstraksi Senyawa Antibiotik Aktinomisetes	35
Uji Antimikroba	37
Identifikasi Molekuler	41
Uji <i>Minimum Inhibitor Concentration</i>	49
Uji Kebocoran Sel	51
V. KESIMPULAN	54
DAFTAR PUSTAKA	55
UCAPAN TERIMAKASIH	58
LAMPIRAN	61
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Peta Ternate (Indra, 2006)	4
Gambar 2.2. Foto <i>S. coelicolor</i> , 8000x (Hoskisson, 2001)	5
Gambar 2.3. Bakteri <i>E. coli</i> Gram Negatif (1000x)	11
Gambar 2.4. Bakteri <i>M. luteus</i> Gram Positif (Kaiser, 2004)	12
Gambar 2.5. Bakteri <i>S. aureus</i> Gram Positif (1000x)	13
Gambar 2.6. Bakteri <i>B. subtilis</i> Gram Positif (1000x).....	13
Gambar 2.7. Kapang <i>A. niger</i>	15
Gambar 2.8. Khamir <i>C. albicans</i> (Maebashi, 2001)	16
Gambar 2.9. Khamir <i>S. cerevisiae</i> (400x)	16
Gambar 2.10 Perubahan suhu dalam proses PCR (Reynolds, 2007)	17
Gambar 3.1. Bagan <i>plate</i> MIC.	31
Gambar 4.1. Foto Isolat Aktinomisetes	35
Gambar 4.2. Zona bening di sekitar cakram kertas.....	37
Gambar 4.3. Pohon Filogenetik Isolat MG 500.1.1.	41
Gambar 4.4. Pohon Filogenetik Isolat MG 500.1.4.	44
Gambar 4.5. Pohon Filogenetik Isolat MG 500.1.6.	45
Gambar 4.6. Pohon Filogenetik Isolat A 1.6.	46
Gambar 4.7. Pohon Filogenetik Isolat MG 1250.1.2.	47
Gambar 4.8. Pohon Filogenetik Isolat MG 10.1.S.8.	48
Gambar 4.9. Grafik pengukuran kebocoran sel.	52

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Tabel Penghitungan <i>Total Plate Count</i> Aktinomisetes.	3
Tabel 4.2 Berat Ekstrak Kasar Hasil Evaporasi Isolat Aktinomisetes.	36
Tabel 4.3. Uji Antimikroba Senyawa Metabolit Hasil Ekstraksi.	38
Tabel 4.4 Hasil Uji MIC Ekstrak Aktinomisetes.	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kode sampel dan keterangan lokasi sampling	58
Lampiran 2	Gambar Pemisahan Larutan Menjadi Dua Fase pada Tahapan Ekstraksi.	59
Lampiran 3	Hasil Elektroforesis 6 Isolat Aktinomisetes Aktif.	60
Lampiran 4	Urutan Basa Hasil <i>Sequencing</i>	61
Lampiran 5	Foto Hasil Uji MIC.	62

Isolation and Test of Potential Antimicrobial Extracts Actinomycetes Isolates from Soil Sample of Originally Ternate and Identification of Active Molecular Isolate under the guidance of M.G. Isworo Rukmi, Arina Tri Lunggani, dan Heddy Julistiono.

Ternate is one of the islands of the Moluccas, East Indonesia, with a diversity of flora and fauna is high. Ternate had a high diversity of microorganisms, one of which is the actinomycetes, which has not been widely explored. Actinomycetes are soil microorganisms with a wide distribution and most able to produce antimicrobial compounds. The research aims to obtain isolates of actinomycetes from soil samples Ternate origin that produces antimicrobial compounds, as well as knowing kinship through the identification of potential molecular isolates by 16S rDNA approach. Isolation was done by the method of Sodium Dodecyl Sulfate-Yeast Extract (SDS-YE) in humic acid Vitamin media Agar (HVA). Antimicrobial test was done by agar diffusion method by measuring the diameter of clear zone around the paper disk. Actinomycetes isolates identified the molecular potential by using 16S rDNA. Activity of extracts of selected actinomycetes isolates were tested further to determine the Minimum Inhibitor Concentration (MIC) and the cell leakage test. The isolated actinomycetes get the 60 isolates, which is 6 isolates showed positive results in antimicrobial tests, namely MG 500 1.1, MG 500.1.4, MG 500.1.6, A 1.6, MG 10.1.S.8, and MG 1250.1.2 with a varied spectrum of inhibition. MG 500.1.1 isolates closely related strains of *Streptomyces tendae* cfcc3130 (similarity 87%) with MIC value of 2 µg / mL against *Escherichia coli* and 16 µg / mL against *Saccharomyces cerevisiae*, with the release of proteins and RNA or DNA compounds of the cell. MG 1250.1.2 isolates closely related to *Streptomyces rubidus* 13C15 strains (similarity 90%) had a MIC value of 16 µg / mL against *Aspergillus niger* with the release of cells without releasing protein RNA or DNA. The results showed that isolate the origin aktinomietes Ternate has great potential as an antibiotic, so it can be further developed as a producer of antibiotic.

Key words :*Actinomycetes, isolation, antibiotics, 16S rDNA, cell leakage test, MIC.*