

**POTENSI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI PENGHASIL  
ANTIBIOTIK DARI RHIZOSFER POHON PINUS DI HUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA (UB FOREST), KARANGPLOSO,  
MALANG**

**SKRIPSI**

**oleh  
ESTI RIZKIANA PRATIWI  
135090101111044**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**POTENSI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI PENGHASIL  
ANTIBIOTIK DARI RHIZOSFER POHON PINUS DI HUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA (UB *FOREST*), KARANGPLOSO,  
MALANG**

**SKRIPSI**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi**

**oleh  
ESTI RIZKIANA PRATIWI  
135090101111044**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI**

**POTENSI *ACTINOMYCETES* SEBAGAI PENGHASIL  
ANTIBIOTIK DARI RHIZOSFER POHON PINUS DI HUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA (UB *FOREST*), KARANGPLOSO,  
MALANG**

**ESTI RIZKIANA PRATIWI  
135090101111044**

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 09 Januari 2018  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui  
Pembimbing

Dr. Suharjono M.Si  
NIP. 196302231988021001

Mengetahui  
Ketua Program Studi S1 Biologi  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Rodliyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., PhD.  
NIP. 197001281994122001

## HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Esti Rizkiana Pratiwi

NIM : 135090101111044

Jurusan : Biologi

Penulis Skripsi berjudul : Potensi *Actinomycetes* sebagai Penghasil Antibiotik dari Rhizosfer Pohon Pinus di Hutan Universitas Brawijaya (UB *Forest*), Karangploso, Malang

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan atau referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung segala resiko.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 10 Januari

2018

Yang menyatakan,

Esti Rizkiana Pratiwi

135090101111044

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

# Potensi *Actinomycetes* sebagai Penghasil Antibiotik dari Rhizosfer Pohon Pinus di Hutan Universitas Brawijaya (UB Forest), Karangploso, Malang

Esti Rizkiana Pratiwi, Suharjono  
Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang  
2018

## ABSTRAK

Antibiotik yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* mampu mengatasi penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari potensi isolat *Actinomycetes* dari tanah rhizosfer Hutan Universitas Brawijaya (UB Forest) sebagai penghasil antibiotik (Anti-MRSA) dan mengetahui spesies *Actinomycetes* yang memiliki potensi penghasil antibiotik (Anti-MRSA) berdasarkan sekuen 16S rDNA. Sampel tanah diambil dari bagian rhizosfer pohon Pinus dan *Actinomycetes* diisolasi menggunakan medium selektif *Starch Casein Agar* (SCA). Skrining dan uji potensi dalam menghasilkan antibiotik dilakukan dengan uji antagonis terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan MRSA menggunakan kultur sel. Uji daya hambat *Extracellular metabolite* (ECM) dilakukan menggunakan *cell-free supernatant* dan diujikan pada 6 bakteri patogen (*E. coli*, EPEC, *Vibrio cholerae*, *S. aureus*, *S. epidermidis* dan MRSA). Data dianalisis ragam dengan  $\alpha \leq 0,05$ . Isolat *Actinomycetes* diidentifikasi secara molekular menggunakan sekuen 16S rDNA. Sebanyak 16 isolat yang diperoleh, ditemukan tiga isolat yang memiliki potensi penghasil antibiotik (Anti-MRSA) dengan zona hambat dari isolat ACT1.6 ( $6,1 \pm 0,8$  mm), ACT3.3 ( $6,03 \pm 0,8$  mm) dan ACT5.2 ( $7,5 \pm 1,1$  mm). Isolat ACT5.2 teridentifikasi sebagai *Streptomyces clavuligerus* LCB69.

Kata kunci: *Actinomycetes*, antibiotik, metabolit sekunder

# Potency of *Actinomycetes* that Produce Antibiotic from Rhizosphere of Pine Trees in Brawijaya University's Forest (UB Forest), Karangploso, Malang

Esti Rizkiana Pratiwi, Suharjono

Biology Department, Mathematic and Natural Sciences Faculty, Brawijaya University, Malang  
2018

## ABSTRACT

The antibiotics produced by *Actinomycetes* are able to overcome the disease that caused by MRSA (*Methicilin-resistant Staphylococcus aureus*) pathogenic bacteria. The aim of this research is to study the potency of *Actinomycetes* isolates from soil in Brawijaya University's forest (UB Forest) as an antibiotic (Anti-MRSA) producers and identify of *Actinomycetes* species that have the potential as an antibiotic (Anti-MRSA) producer based on 16S rDNA sequences. Soil samples were collected from the rhizosphere of pine trees and the isolation of *Actinoymcetes* bacteria is using selective medium Starch Casein Agar (SCA). Screening and potency assays of *Actinomycetes* to produce antibiotics were conducted using the antagonist assay against *Escherichia coli*, *Staphylococcus* and MRSA by cell culture. *Extracellular metabolite* (ECM) Inhibitory assay was conducted using cell-free supernatant and was tested on 6 pathogenic bacteria (*E.coli*, EPEC, *Vibrio cholerae*, *S. aureus*, *S. epidermidis* and MRSA). Data were analyzed using analysis of variance with  $\alpha \leq 0,05$ . *Actinomycetes* isolates was identified by molecular identification based on 16S rDNA sequence. There were 16 isolates was obtained, and three of isolates have a potency as an antibiotic producer (Anti-MRSA) by clear zone (inhibitory zone) from isolates ACT1.6 ( $6,1 \pm 0,8$  mm), ACT3.3 ( $6,03 \pm 0,8$  mm) and ACT5.2 ( $7,5 \pm 1,1$  mm). Isolate ACT5.2 was identified as *Streptomyces clavuligerus* LCB69.

Key words: *Actinoymcetes*, antibiotic, secondary metabolite

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil ‘Aalamiin, dengan ungkapan rasa syukur kepada Allah Yang Maha Kuasa, akhirnya Skripsi yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam Bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang dapat diselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan ini, disampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dr. Suharjono, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah mendampingi dan memberi pengarahan, saran-saran yang berguna dan tambahan ilmu yang sangat bermanfaat.
2. Tri Ardyati, M.Agr., Ph.D dan Irfan Mustafa, S.Si., M.Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik dalam rangka penyempurnaan naskah skripsi ini.
3. Seluruh peneliti dan Laboran di Laboratorium Mikrobiologi, Biologi UB yang senantiasa mendukung dan memberikan fasilitas selama proses penelitian berlangsung.
4. Andry Herawati dan Edy Supriyono, Asti dan Dita yang senantiasa memberikan doa, dukungan, motivasi dan kasih sayang.
5. Risnadia Ramadhani, Aliffia Issabella, Teman-teman Asisten Mikrobiologi dan Melati fitriana, yang turut mendukung dalam pengerjaan laboratorium.
6. Ari Ardiantoro, Mochammad Shobirin, Larasati dan teman teman Himpunan Mahasiswa Biologi, yang senantiasa memberi motivasi selama penelitian ini berlangsung.
7. Biologi Angkatan 2013 dan seluruh civitas akademika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

Skripsi ini merupakan upaya optimal sebagai sarana terbaik dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat.

Malang, 2018

Penulis



# DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN</b> .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Komposisi Mikroorganisme Tanah .....	6
2.2 Peran <i>Actinomycetes</i> di Tanah .....	9
2.3 Produksi Antibiotik oleh <i>Actinomycetes</i> .....	11
2.4 Bakteri MRSA ( <i>Methicilin-resistant Staphylococcus aureus</i> ) .....	17
2.5 Mekanisme Kerja Antibiotik .....	18
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	21
3.2 Pengambilan Sampel Tanah dan Analisis Fisika-Kimia Tanah.....	21
3.3 Isolasi <i>Actinomycetes</i> .....	23
3.4 Skrining dan Uji Potensi <i>Actinomycetes</i> dalam Menghasilkan Antibiotik.....	23
3.5 Kurva Pertumbuhan Isolat <i>Actinomycetes</i> .....	24
3.6 Uji Daya Hambat <i>Extracellular Metabolite</i> (ECM) Isolat <i>Actinomycetes</i> .....	25
3.7 Identifikasi <i>Actinomycetes</i> Berdasarkan Sekuen 16S rDNA .....	26
3.7.1. Isolasi DNA dan Amplifikasi 16S rDNA .....	26

3.7.2. Sekuensing DNA dan Konstruksi Pohon Filogeni .....	28
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
4.1. Faktor Lingkungan Rhizosfer Pohon Pinus di Hutan Universitas Brawijaya .....	29
4.2. Potensi Isolat <i>Actinomyces</i> dalam Menghasilkan Antibiotik .....	32
4.3. Daya Hambat <i>Extracellular Metabolite</i> (ECM) Isolat <i>Actinomyces</i> .....	37
4.4. Spesies Bakteri Penghasil Antibiotik (Anti-MRSA) .....	38
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>42</b>
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>43</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>50</b>

## DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1	Jumlah relatif dan biomassa mikroorganismen pada kedalaman tanah 0-15 cm .....	8
2	Komposisi PCR <i>mix</i> untuk amplifikasi 16S rDNA.....	28
3	Reaksi PCR 16S rDNA .....	28
4	Pengukuran faktor-faktor lingkungan di tanah rhizosfer hutan Universitas Brawijaya .....	30

## DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Komposisi komponen tanah .....	6
2	Aktivitas spektrum antimikrobia .....	15
3	Representasi skematik target antibiotik pada sel .....	19
4	Ilustrasi lokasi pengambilan sampel melalui <i>Google earth</i> ...	21
5	Diameter zona hambat isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap beberapa bakteri patogen .....	35
6	Diameter zona hambat <i>extracellular metabolite</i> isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap bakteri patogen .....	38
7	Pohon filogeni isolat ACT5.2 dengan isolat acuan Berdasarkan algoritma <i>Neighbor-Joining</i> .....	39
8	Metabolit $\beta$ -laktam yang dihasilkan oleh <i>Streptomyces clavuligerus</i> .....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Lokasi pengambilan sampel tanah .....	50
2	Komposisi media SCA ( <i>Starch Casein Agar</i> ) .....	50
3	Analisa kemampuan penghasil antibiotik .....	51
4	Hasil PCR dan matriks nilai similaritas <i>Actinomycetes</i> penghasil Antibiotik .....	56
5	Data karakteristik isolat <i>Actinomycetes</i> .....	57
6	Uji statistik <i>Actinomycetes</i> penghasil antibiotik .....	60

## DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
CA	asam klavunalat
CFU	<i>colony forming unit</i>
ECM	<i>extracellular metabolite</i>
EPEC	<i>enteropathogenic escherichia coli</i>
EtBr	ethidium bromida
MRSA	<i>methicilin-resistant staphylococcus aureus</i>
NaCl	natrium klorida
NA	<i>nutrient agar</i>
NB	<i>nutrient broth</i>
NCBI	<i>national center for biotechnology information</i>
OD	<i>optical density</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
rpm	<i>revolutions per minute</i>
SCA	<i>starch casein agar</i>
SCB	<i>starch casein broth</i>
Aw	aktivitas air ( <i>water activity</i> )

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Nama unit</u>
$\beta$	beta
cm	centimeter
g	gram
mL	mililiter
mm	milimeter
nm	nanometer
$\mu\text{m}$	mikrometer
$\mu\text{L}$	mikroliter