# FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BAKTERI *Streptomyces* sp. RC4

**CANTIKA DYLANI PUTRI**
**H1031191044**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI KIMIA**
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**
**UNIVERSITAS TANJUNGPURA**
**PONTIANAK**
**2025**

# FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BAKTERI *Streptomyces* sp. RC4

**CANTIKA DYLANI PUTRI**
**H1031191044**

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains pada Program Studi Kimia

**PROGRAM STUDI KIMIA**
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**
**UNIVERSITAS TANJUNGPURA**
**PONTIANAK**
**2025**

## LEMBAR PENGESAHAN

| | |
|---|---|
| Judul Tugas Akhir | : Fraksinasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri *Streptomyces* sp. RC4 |
| Nama Mahasiswa | : Cantika Dylani Putri |
| NIM | : H1031191044 |
| Jurusan/Program Studi | : Kimia/S-1 Kimia |
| Tanggal Lulus | : 20 Maret 2025 |
| SK Pembimbing | : No. 3809/UN22.8/TD.06/2023/3 Oktober 2023 |
| SK Penguji | : No. 897/UN22.8/TD.06/2025/18 Maret 2025 |

Dosen Pembimbing

Pembimbing I

Hj. Puji Ardiningsih, S.Si., M.Si.
NIP 197201271998022001

Pembimbing II

Prof. Hj. Risa Nofiani, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP 197411152000122001

Dosen Penguji

Ketua Penguji

H. Afghani Jayuska, S.Si., M.Si.
NIP 197107072000121001

Anggota Penguji

Berlian Sitorus, S.Si., M.Si., M.Sc., Ph.D
NIP 197410102000122006

Pimpinan Sidang
(merangkap anggota penguji)

Hj. Puji Ardiningsih, S.Si., M.Si.
NIP 197201271998022001

Sekretaris Sidang
(merangkap anggota penguji)

Prof. Hj. Risa Nofiani, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP 197411152000122001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Tanjungpura

Prof. Dr. Gusrizal, S.Si., M.Si.
NIP 19710802200031001

## PERNYATAAN INTEGRITAS AKADEMIK

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cantika Dylani Putri

NIM : H1031191044

Program Studi/ Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

dengan ini menyatakan bahwa dokumen ilmiah Tugas Akhir yang disajikan ini tidak mengandung unsur pelanggaran integritas akademik sesuai Peraturan Menteri Pendidikan, Kebudayaan, Riset, Dan Teknologi Republik Indonesia Nomor 39 Tahun 2021. Apabila di kemudian hari dokumen ilmiah Tugas Akhir ini mengandung unsur pelanggaran integritas akademik sesuai ketentuan perundangan tersebut, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Demikian pernyatan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Pontianak, 20 Maret 2025




Cantika Dylani Putri
NIM H1031191044

# FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BAKTERI *Streptomyces* sp. RC4


## Abstrak

Kasus resistensi antibiotik yang meningkat setiap tahunnya mendorong peneliti untuk mencari senyawa metabolit sekunder baru yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian sebelumnya telah mengisolasi Actinomycetes yang teridentifikasi sebagai genus *Streptomyces* sp. RC4 dan menunjukkan aktivitas antibakteri, namun fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri didalam ekstrak tersebut belum diketahui. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan fraksinasi dan uji aktivitas antibakteri dari *Strepromyces* sp. RC4. Produksi dan ekstraksi isolat bakteri *Streptomyces* sp. RC4 dilakukan sebanyak 15 L pada media ISP2 pH 8,4, diekstraksi dengan etil asetat, dipartisi dengan metanol dan n-heksana sehingga diperoleh fraksi metanol dan fraksi n-heksana dengan berat masing-masing 27,51 g dan 9,12 g. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumur menunjukkan fraksi metanol *Streptomyces* sp. RC4 menunjukkan aktivitas terbaik sehingga difraksinasi dengan metode kolom kromatografi gravitasi (KKG) menggunakan fase diam silika gel 60 (0,040-0,063 mm) dengan elusi gradien menggunakan sistem pelarut DCM 100%, DCM:MeOH (rasio tertentu) dan MeOH 100%. Fraksinasi menghasilkan 2.100 fraksi yang dikelompokkan berdasarkan kesamaan nilai Rf dan pola noda menjadi 21 fraksi gabungan. Uji aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* ATCC 9721 (dosis 200 µg/sumur) menunjukkan 7 fraksi aktif antibakteri kategori kuat dengan diameter zona bening ≥ 10 mm yaitu fraksi 2, 6, 9, 13, 14, 16 dan 17. Visualisasi noda menggunakan pereaksi anisaldehid asam sulfat diduga mengandung senyawa terpenoid atau steroid dalam fraksi tersebut. Fraksi 2 dan 14 berpotensi dikarakterisasi lebih lanjut berdasarkan visualisasi noda, aktivitas antibakteri, dan massa yang diperoleh. Penelitian ini diharapkan dapat mendukung eksplorasi sumber antibiotik baru seiring berjalannya resistensi antibiotik.



Kata kunci: *Streptomyces* sp. RC4, antibakteri, terpenoid, steroid

**FRACTIONATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY ASSAY OF THE BACTERIAL ISOLATE *Streptomyces* sp. RC4**

## Abstract

The increasing incidence of antibiotic resistance has driven researchers to discover new secondary metabolites with antibacterial activity. Previous studies isolated *Streptomyces* sp. RC4, which exhibited antibacterial activity. However, the active fractions responsible for this activity were unknown. Therefore, this study aimed to fractionate and evaluate the antibacterial activity of *Streptomyces* sp. RC4. The bacterium was cultured in 15 liters of ISP2 medium at pH 8.4, extracted with ethyl acetate, and partitioned using methanol and n-hexane, resulting in methanol (27.51 g) and n-hexane (9.12 g) fractions. Antibacterial screening by well diffusion showed that the methanol fraction exhibited the strongest activity. This fraction was further separated using gravity column chromatography (GCC) with silica gel 60 (0.040-0.063 mm) as the stationary phase. Gradient elution was performed using 100% DCM, DCM:MeOH at specific ratios, and 100% MeOH. A total of 2,100 fractions were obtained and grouped into 21 combined fractions based on similar Rf values and spot patterns. Antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9721 at 200 µg/well identified 7 active fractions (fractions 2, 6, 9, 13, 14, 16, 17) with inhibition zones ≥ 10 mm. Spot visualization using anisaldehyde-sulfuric acid indicated the presence of terpenoid or steroid compounds. Fractions 2 and 14, which exhibited strong antibacterial activity and were obtained in sufficient quantities, are promising candidates for further characterization. This study supports the search for new antibiotic sources to address antibiotic resistance.

Keywords: *Streptomyces sp.* RC4, antibacterial, terpenoids, steroids

# PRAKATA

*Bismillahirrahmanirrahim, Alhamdulillaahirobbilalamin* puji syukur atas kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**Fraksinasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri *Streptomyces* sp. RC4**". Skipsi ini sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, bimbingan dan nasehat dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Gusrizal, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA, Universitas Tanjungpura.
2. Bapak Dr. Andi Hairil Alimuddin, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Tanjungpura.
3. Ibu Dr. Winda Rahmalia, S.Si., M.Si. selaku Ketua Prodi S-1 Kimia, FMIPA, Universitas Tanjungpura.
4. Bapak Prof. Rudiyansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. dan Bapak Adhitiyawarman, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Kepala Laboratorium Kimia, dan Kepala Laboratorium Bioteknologi dan Riset, Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Tanjungpura.
5. Ibu Hj. Puji Ardiningsih, S.Si., M.Si. dan Ibu Prof, Hj. Risa Nofiani, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing tugas akhir yang telah memberi bimbingan, arahan, serta motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dan skripsi ini.
6. Bapak H. Afghani Jayuska, S.Si., M.Si. dan Ibu Berlian Sitorus, S.Si., M.Si., M.Sc., Ph.D selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan, saran dan motivasi selama penyelesaian skripsi.
7. Ibu Prof. Hj. Risa Nofiani, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan motivasi, nasehat dan

arahan serta sabar membimbing dan mendengarkan keluh kesah penulis selama menjalani perkuliahan.

8. Seluruh Dosen, Staf Laboratorium Kimia, Karyawan, dan Staf Tata Usaha FMIPA atas ilmu, pengalaman, bantuan dan kerjasamanya selama penyelesaian studi di FMIPA, Universitas Tanjungpura.
9. Kedua orang tua tercinta, Ayahanda Ir. Indra Putra, S.T., M.M., dan Ibunda Rahima, serta adik tercinta, Talitha Humaira yang selalu menjadi *support system* utama bagi penulis, yang senantiasa memberikan kasih sayang, semangat dan do'a sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Keluarga di perantauan, Bayu Hari Sutopo, Fittria Abdullah, Syifa Aulia, Rafika Abdullah dan Rayyan Hamzah Sossa yang telah memberikan semangat dan dukungan selama penulis menyelesaikan skripsi.
11. Teman Riset Bioteknologi, Dinda Ayu Amalia, S.Si., Safina Tiara Az Zahra, S.Si., Hafizah, Rifa Rikayati, S.Si., Septiana, S.Si., Muhammad Hanapi, S.Si., Muhammad Arif Al Farizal, Muhammad Wildan, S.Si., dan mahasiswa bimbingan skripsi Ibu Risa Nofiani lainnya yang telah membantu, berbagi ilmu dan pengalaman, menjadi teman lembur serta mendoakan dalam pengerjaan skripsi ini.
12. Sahabat-sahabat terkasih Alintianni Yolla Putri, S.Si., Eliese Sherly Rabty, Sifa Sefirawati, Irsalina Liwa Sabila, S.Si., Syarifah Jubaidah, S.Si., Miratil Hayati Khairiah, S.Si., Desy Dwi Fitria, Aniisa Salsabila, S.Si., dan Fani Indriani, S.Si yang bersedia meluangkan waktunya untuk mendengarkan keluh kesah penulis, memberikan saran dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini.
13. Teman-teman Atomic 2019 yang telah membersamai penulis selama masa perkuliahan.
14. Zain Javadd Malik, Mees Victor Joseph Hilgers, Nathan Noel Romejo Tjoe-A-On, Jude Victor William Bellingham, One Direction, Tim Nasional Sepak Bola Indonesia dan Real Madrid CF yang telah

memotivasi dan memberi semangat kepada saya untuk selalu berusaha menyelesaikan skripsi ini.

15. Terima kasih sebesar-besarnya kepada diri saya sendiri karena telah menghadapi drama kehidupan selama menyelesaikan tugas akhir dengan kerja keras dan bersungguh-sungguh.

Semoga penulisan skripsi ini bermanfaat bagi pembaca sehingga dapat menambah pengetahuan dan wawasan. Kritik dan saran yang membangun penulis perlukan untuk perbaikan kedepannya.

Pontianak, 20 Januari 2025

Penulis

# DAFTAR ISI

Halaman

Abstrak ..... iiv

Abstract ..... v

PRAKATA ..... vi

DAFTAR TABEL ..... viii

DAFTAR GAMBAR ..... xii

DAFTAR LAMPIRAN ..... xiv

BAB I PENDAHULUAN ..... 1

1.1 Latar Belakang ..... 1

1.2 Rumusan Masalah ..... 2

1.3 Tujuan Penelitian ..... 2

1.4 Manfaat Penelitian ..... 2

BAB II TINJAUAN PUSTAKA ..... 3

2.1 Actinomycetes ..... 3

2.2 Antibakteri ..... 3

2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ..... 6

2.4 Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) ..... 8

BAB III METODOLOGI ..... 9

3.1 Waktu dan Tempat ..... 9

3.2 Alat dan Bahan ..... 9

3.3 Prosedur Kerja ..... 10

3.3.1 Preparasi dan Peremajaan Isolat Bakteri *Streptomyces* sp. RC4 ..... 10

3.3.2 Produksi dan Ekstraksi Isolat Bakteri *Streptomyces* sp. RC4 ..... 10

3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Streptomyces* sp. RC4 ..... 10

3.3.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi *Streptomyces* sp. RC4 ..... 11

3.3.5 Fraksinasi dengan Menggunakan Kolom Kromatografi Gravitasi (KKG) ..... 11

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN ..... 13

4.1 Produksi dan Ekstraksi Isolat Bakteri *Streptomyces* sp. RC4 ..... 13

4.2 Aktivitas Antibakteri ..... 14
4.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi *Streptomyces* sp. RC4 ..... 16
4.4 Fraksinasi dengan Menggunakan Kolom Kromatografi Gravitasi (KKG) ..... 17

BAB V SIMPULAN ..... 23
5.1 Simpulan ..... 23
5.2 Saran ..... 23

Daftar Pustaka ..... 24

LAMPIRAN ..... 27

# DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Aktivitas Antibakteri Fraksi *Streptomyces* sp. RC4.....15

Tabel 4.2 Hasil KKG dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Metanol *Streptomyces* sp. RC4.....18

# DAFTAR GAMBAR

Halaman


Gambar 2.1 Senyawa metabolit sekunder dari *Streptomyces* sp. SCA7 .....4

Gambar 2.2 Antibiotik yang berasal dari *Actinomycetes* .....5

Gambar 2.3 Reaksi Uji Dragendorff .....6

Gambar 2.4 Reaksi Uji Ninhidrin .....7

Gambar 4.1 Hasil produksi besar isolat bakteri *Streptomyces* sp. RC4: (a) kultur cair *Streptomyces* sp. RC4 menggunakan media ISP1 pH 8,4 sebelum dilakukan pengocokan; (b) setelah dilakukan pengocokan pada kecepatan 180 rpm, 30°C, selama 7 hari; (c) setelah ditambahkan dengan etil asetat; (d) ekstrak kental *Streptomyces* sp. RC4 fraksi metanol; (e) ekstrak kental *Streptomyces* sp. RC4 fraksi n-heksana.....14

Gambar 4.2 Aktivitas antibakteri ekstrak *Streptomyces* sp. RC4 terhadap bakteri uji (a) BS: *B. subtilis* ATCC 6051; (b) EC: *E. coli* ATCC 11775; (c) PA: *P. aeruginosa* ATCC 9721; (d) SA: *S. aureus* ATCC 12600; (e) SE: *S. enterica* ATCC 14028; (f) SM*: S. mutans*; (g) ST: *S. typhi*; 1: fraksi metanol; 2: fraksi n-heksana; +: Streptomycin; -: metanol.....15

Gambar 4.3 Profil Kromatogram senyawa metabolit sekunder fraksi-fraksi *Streptomyces* sp. RC4 (a) DCM:MeOH (20:1) panjang gelombang 254 nm; (b) DCM:MeOH (20:3) panjang gelombang 254 nm; (c) EA 100% panjang gelombang 254 nm; (d) DCM:MeOH (20:1) panjang gelombang 366 nm; (e) DCM:MeOH (20:3) panjang gelombang 366 nm; (f) EA 100% panjang gelombang 366 nm; 1: fraksi metanol; 2: fraksi n-heksana.....17

Gambar 4.4 Profil Kromatogram senyawa metabolit sekunder fraksi KKG dari fraksi metanol *Streptomyces* sp. RC4 (a) DCM:MeOH (20:2 dan 20:4) panjang gelombang 254 nm; (b) DCM:MeOH (20:2 dan 20:4) panjang gelombang 366 nm; (c) profil kromatogram yang disemprot dengan pereaksi anisaldehid asam sulfat. .....20

Gambar 4.5 Identifikasi Terpenoid dengan Pereaksi Anisaldehid Asam Sulfat.....21

Gambar 4.6 Hasil aktivitas antibakteri fraksi-fraksi KKG fraksi metanol *Streptomyces* sp. RC4 dengan bakteri uji *P. aeruginosa* ATCC 9721 (a) fraksi 1-4; (b) fraksi 5-8; (c) fraksi 9-12; (d) fraksi 13-16 (e) fraksi 17-21; +: kontrol positif (streptomycin); -: kontrol negatif (metanol) .....22

# DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Perhitungan Pembuatan Larutan Stok .....28

Lampiran 2. Komposisi Media yang digunakan ..... 29

Lampiran 3. Komposisi pereaksi yang digunakan ..... 30

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian..... 31

# BAB I
# PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Kasus resistensi antibiotik telah menjadi fokus di bidang kesehatan karena mengalami peningkatan setiap tahunnya. Resistensi antibiotik merupakan suatu keadaan dimana bakteri tetap bertahan hidup meskipun diberikan antibiotik (Blair *et al*., 2014). Angka kematian akibat resistensi antibiotik sampai dengan tahun 2014 diperkirakan sekitar 700.000 orang per tahunnya. Tingginya angka kematian akibat resistensi diprediksi akan mengalami peningkatan pada tahun 2050 (*World Health Organization* (WHO), 2014). Salah satu bakteri patogen yang telah menunjukkan resistensi antibiotik yaitu *Staphylococcus aereus* yang resisten terhadap methicillin (Turner *et al*., 2019). Terdapat 323.700 kasus *S. aureus* yang resisten terhadap methicillin dengan angka kematian sebesar 10.600 pada tahun 2017 (*Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), 2019).

Peningkatan kasus resistensi antibiotik setiap tahunnya mendorong peneliti untuk melakukan pencarian senyawa metabolit sekunder baru yang memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri ialah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau metabolisme dari bakteri (Pelczar *and* Chan, 1986). Senyawa ini dapat diperoleh dari berbagai macam sumber, salah satunya adalah mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang berperan penting dalam proses penemuan dan pengembangan obat antibiotik yaitu *Actinomycetes* (Chaudary *et al*., 2013). *Actinomycetes* merupakan bakteri Gram positif yang tersebar luas di alam (Fatmawati *et al*., 2018). *Actinomycetes* merupakan bakteri yang berfilamen uniseluler yang menghasilkan spora (Ortenberg *and* Telsch, 2003).

*Actinomycetes* merupakan penghasil senyawa metabolit sekunder yang potensial bioaktivitasnya, seperti : antibiotik, agen antikanker, agen anti-inflamasi dan enzim (Selim *et al*., 2021). Hal ini dibuktikan dengan ditemukannya 160 antibiotik yang dipergunakan untuk terapi manusia, 140 diantaranya diproduksi oleh *Actinomycetes* (Apsari *et al*., 2019). Sekitar 70% antibiotik yang telah

ditemukan dihasilkan oleh Actinomycetes terutama berasal dari genus *Streptomyces* (Subramani and Albensberg, 2012). Antibiotik yang berasal dari genus *Streptomyces* yaitu penemuan streptomycin (Procópio *et al*., 2012). Selain itu, erdapat banyak antibiotik komersial yang berasal dari *Actinomycetes*, seperti; tetrasiklin, eritromisin dan vancomisin (Weber *et al*., 2015).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi Actinomycetes yang teridentifikasi sebagai genus *Streptomyces* sp. RC4 menunjukkan aktivitas antibakteri (Nofiani *et al*., 2020). Namun fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri didalam ekstrak tersebut belum diketahui. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan fraksinasi dan uji aktivitas antibakteri dari *Streptomyces* sp. RC4. Adapun tahapan yang dilakukan dalam penelitian meliputi : peremajaan isolat bakteri Streptomyces sp. RC4, produksi dan ekstraksi isolat bakteri *Streptomyces* sp. RC4 serta fraksinasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Ekstrak bakteri *Streptomyces* sp. RC4 menunjukkkan aktivitas antibakteri, tetapi fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri didalam ekstrak tersebut belum diketahui. Oleh karena itu, pada penelitian dilakukan fraksinasi dan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak *Streptomyces* sp. RC4.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu memperoleh fraksi aktif yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak *Streptomyces* sp. RC4 menggunakan metode kolom kromatografi gravitasi.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah dan memberikan informasi terkait senyawa antibakteri dari *Streptomyces* sp. RC4 yang memiliki bioaktivitas berupa antibakteri seiring dengan tingginya kasus resistensi antibiotik.