

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI SAMPEL LUMPUR SUNGAI KAMPAR RIAU

Musyirna rahmah Nst<sup>1</sup>, Akmal Djamaan<sup>2</sup>, Gustina<sup>3</sup>

<sup>1,3)</sup> Sekolah Tinggi Farmasi Riau, UNAND<sup>2)</sup>

### Abstract

Isolation of microbes that produce antibiotic found in the sludge of Kampar river has been carried out using crowded plate method. The sludge were inoculated in PDA and NA, and incubated for 24 hours. Microbes showing clear zone were observed, this indicated the microbes produce antibiotics. The microbes were isolated and identified. The result showed there were three species *Bacillus* sp of which potential to produce antibiotic compound.

Key words: *microbe, isolation, antibiotic*

### I. PENDAHULUAN

Indonesia sampai sekarang belum mampu memproduksi bahan baku antibiotika, karena penelitian kearah ini belum banyak dikembangkan. Akibatnya untuk memenuhi kebutuhan pelayanan kesehatan pada masyarakat, Indonesia mengimpor bahan baku antibiotika dari negara lain. Biaya yang harus dikeluarkan pemerintah Indonesia untuk mengimpor bahan baku antibiotika sebahagian besar menyedot biaya untuk obat-obatan. Untuk mengurangi ketergantungan Indonesia perlu dilakukan penelitian untuk memanfaatkan kekayaan alam yang dimiliki (Dhanutirto, 1987).

Dewasa ini penyakit infeksi masih menjadi salah satu penyebab kematian terbesar di dunia, terutama di negara berkembang dengan jumlah populasi penduduk yang tinggi, sanitasi lingkungan yang tidak sehat dan tingkat gizi yang rendah. Antibiotika masih digunakan untuk mengobati berbagai infeksi, misalnya kloramfenikol untuk mengobati penyakit tipoid (*Salmonella thypi*) dan streptomisina untuk tuberculosis (*Mycobacterium*

*tuberculosis*). Beberapa antibiotika juga digunakan dalam terapi kanker seperti daktinomisin, antrasiklin dan bleomisin (FKUI, 1995). Beberapa tahun terakhir ini timbul berbagai penyakit infeksi baru seperti AIDS (HIV), flu burung, sapi gila, yang sampai sekarang belum ditemukan obatnya. Di samping itu juga ditemukan berbagai strain mikroba patogen yang telah resisten terhadap berbagai antibiotika.

Mikroba penghasil antibiotika di Indonesia sudah mulai diteliti, seperti sampel pada daerah hutan tropis atau penumpukan sampah (Romita A, 1993). Rene Dubos pada tahun 1939 telah berhasil mengisolasi dari tanah New Jersey yaitu kultur *Bacillus brevis* yang menghasilkan suatu senyawa antibiotik yang mampu mematikan banyak bakteri Gram positif. Bahan aktif dari *Bacillus brevis* tersebut sekarang dikenal dengan nama gramisidin dan tirosin (Case L and Johnson, 1984). Sejauh ini belum pernah ditemukan laporan mengenai mikroba yang diisolasi dari sampel lumpur daerah sungai yang diambil dari Sungai Kampar. Diduga dalam lumpur Sungai Kampar banyak mengandung

mikroba pengurai (dekomposer) zat-zat organik sehingga kemungkinan ada menghasilkan antibiotika.

Oleh karena itu pada penelitian ini akan diisolasi dan diidentifikasi mikroba penghasil antibiotika dari lumpur Sungai Kampar, Riau. Teknik isolasi yang digunakan adalah metoda *Crowded Plate*, yaitu dengan menumbuhkan sampel lumpur dalam cawan petri yang mengandung media agar. Kemudian koloni yang memperlihatkan adanya zona bening (*clear zone*) di sekelilingnya dimurnikan dan selanjutnya diidentifikasi genusnya (Cappucino and Natalie, 1986).

## II. METODE DAN BAHAN

### 2.1. Alat

Alat-alat yang dipergunakan adalah: tabung reaksi, cawan petri, gelas erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pipet ukur, pipet tetes, kertas cakram, jarum ose, corong, lampu spiritus, timbangan, pinset, spatel, kaca objek dan kaca penutup, mikroskop, kapas steril, inkubator, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF).

### 2.2. Bahan

Bahan-bahan yang dipergunakan adalah: Medium potato dextrose agar (Oxoid), medium nutrien agar (Oxoid), alkohol 96%, larutan NaCl 0,9 % steril, air suling steril, media agar (kits) siap pakai untuk identifikasi mikroba.

### 2.3. Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah lumpur Sungai Kampar, yaitu di Desa Pulau Birandang, Kecamatan Kampar, Riau. Metode pengambilan sampel secara *multistage sampling* (*multiple sampling*), yaitu pengambilan sampel dengan banyak tingkatan. Lokasi pengambilan dibagi dalam 2 stasiun, yaitu stasiun bagian pinggir kiri dengan kedalaman 15 cm

dari permukaan air dan stasiun pinggir kanan dengan kedalaman 15 cm dari permukaan air. Pada setiap stasiun diambil sampel lumpur sebanyak 5 lokasi, sehingga total sampel 10 sampel. Jarak pengambilan sampel adalah  $\pm 200$  meter. Sampel diambil dengan menggunakan alat "*Hand auger*", berupa pipa paralon dengan diameter yang disesuaikan dengan tempat pengambilan sampel yang dilengkapi dengan batang penekan dari kayu dengan diameter sama dengan lubang paralon (Case L. C and Johnson T. R, 1984). Sampel disimpan dalam suatu kantong plastik yang kemudian dibawa ke laboratorium untuk dianalisa.S

### 2.4. Penyiapan sampel

Penyiapan sampel lumpur di laboratorium dilakukan secara aseptis. Masing-masing sampel lumpur dibersihkan dari sampah dan batubatuan yang ikut terbawa. Sebanyak 10 gram sampel lumpur padat yang diaduk homogen dicukupkan volumenya 100 ml dengan NaCl 0,9 % steril dalam labu ukur 100 ml, ini adalah konsentrasi 1 : 10. Dari konsentrasi 1 : 10 tersebut dipipet dengan pipet steril sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan dicukupkan dengan NaCl 0,9 % steril menjadi 10 ml, kemudian dihomogenkan, pengenceran 1 : 100. Dari pengenceran 1 : 100 dipipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan di cukupkan volumenya dengan NaCl 0,9 % hingga 10 ml dan dihomogenkan, pengenceran 1 : 1000. Dari pengenceran 1: 1000 dipipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan dicukupkan volumenya dengan NaCl 0,9 % dan dihomogenkan, pengenceran 1: 10000. Masing-masing konsentrasi sampel ditanam dalam medium Nutrien agar (NA) dan pada medium Potato Dekstrosa Agar (PDA). Total cawan Petri yang digunakan adalah 80 cawan Petri.

## **2.5. Pembiakan mikroorganisme dalam medium pembenihan Potato Dextrose Agar (PDA) dan Nutrient Agar (NA).**

Tiap sampel hasil pengenceran dipipet 1 ml kedalam cawan Petri, kemudian ditambahkan Nutrient Agar cair dan Potato Dextrose Agar 15-20 ml. Cawan digoyang dan diputar diatas meja datar hingga bercampur merata, kemudian dibiarkan membeku. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35-37 °C untuk perbenihan NA selama 24 jam dan 20-25 °C untuk perbenihan PDA selama 5 hari.

## **2.6. Seleksi biakan penghasil antibiotika**

Setelah biakan tumbuh dengan baik dikeluarkan dari inkubator. Untuk bakteri satu hari saja sudah terlihat jelas koloninya, sedangkan untuk actinomycetes dan jamur akan terlihat setelah 3-7 hari. Dari koloni mikroorganisme yang tumbuh diamati setiap hari, apakah diantara koloni yang tumbuh ada yang memberikan daerah hambatan berupa daerah bening yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme di sekelilingnya sebagai indikator bahwa mikroba tersebut menghasilkan zat yang bersifat antibiotika (Dwidjoseputro, 1988).

## **2.7. Isolasi dan pemurnian mikroba penghasil antibiotika.**

Mikroorganisme yang tumbuh dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain di sekelilingnya dipindahkan kedalam medium agar lain dengan bantuan jarum ose secara aseptis, kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 3-5 hari. Pemindahan ini dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh isolat murni. Setiap biakan murni yang diperoleh ditanam pada media agar miring dalam tabung reaksi steril yang berisi medium PDA dan NA sebagai stok kultur

## **2.8. Pengamatan morfologi dan identifikasi isolat penghasil antibiotika.**

Pengamatan morfologi dilakukan secara organoleptis dengan mengamati bentuk koloni yang terbentuk, warna, tepi koloni, dan bentuk permukaan koloni. Pengamatan secara mikroskopis yaitu dengan melihat morfologi sel mikroorganisme tersebut setelah pewarnaan Gram. Dimana pengamatan dilakukan dengan penentuan jenis bakteri Gram positif atau Gram negatif yaitu kaca objek dibersihkan dari lemak dengan alkohol 96%, kemudian dipanaskan di atas nyala spiritus, ditetesi 1-2 tetes NaCl 0,9 %. Satu Ose bakteri diletakkan di atas tetesan NaCl 0,9 %, diratakan dan difiksasi, setelah dingin warnai dengan kristal violet sebanyak 2-3 tetes biarkan selama 1 menit, bilas dengan air, kering anginkan. Hilangkan warna dengan penambahan alkohol 96%, biarkan selama 10-20 detik, bilas dengan air dan kering anginkan. Teteskan safranin sebanyak 2-3 tetes, biarkan selama 1 menit, bilas dengan air. Hilangkan kelebihan air dengan cara kering anginkan. Lakukan pengamatan dibawah mikroskop, didapatkan bakteri gram positif berwarna ungu atau bakteri gram negatif berwarna merah (Sub seksi bakteriologi, 2001).

Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan uji biokimia dengan menggunakan kit (reagensia) yang sudah standar.

Uji biokimia bakteri dilakukan dengan menginokulasikan koloni bakteri yang telah dimurnikan pada medium biokimia yang telah disiapkan, inkubasi pada suhu 35-37°C, selama 24 jam. lakukan pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada medium biokimia (Sub seksi bakteriologi, 2001). Uji biokimia meliputi:

1) Uji Katalase

- Koloni bakteri sebanyak 1 Ose diletakkan diatas objek glass, kemudian ditetesi dengan larutan hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3%. Dengan terbentuknya gelembung udara disekitar permukaan bakteri berarti bakteri tersebut menghasilkan enzim katalase dan apabila tidak menghasilkan enzim katalase maka gelembung udara tidak akan terbentuk.
- 2) Uji Pembentukan Indol  
Satu Ose bakteri diinokulasikan pada medium kaldu tripton kemudian diberi pereaksi kovaks (terdiri dari pDAB, n-amyl alkohol, dan HClp), jika terbentuk warna merah muda berarti indol positif, jika tidak terbentuk warna merah muda berarti uji indol negatif.
  - 3) Uji Hidrolisis Urea  
Satu Ose bakteri diinokulasikan pada medium Urea Agar (berwarna kuning), apabila terjadi perubahan warna pada medium menjadi merah keunguan berarti pembentukan urea positif
  - 4) Uji Penggunaan sitrat  
Satu Ose bakteri diinokulasikan pada medium Simmon Sitrat Agar (berwarna hijau), apabila terjadi perubahan warna menjadi biru berarti positif.
  - 5) Uji pewarnaan Methyl Red.  
Satu Ose bakteri diinokulasikan pada medium MR-VP, kemudian ditambahkan 5 tetes methyl red, bila terbentuk warna merah berarti MR positif, apabila tidak terbentuk warna merah berarti negatif.
  - 6) Uji Voges Proskauer (VP)  
Satu Ose bakteri diinokulasikan pada medium MR-VP, kemudian ditambahkan 1 ml KOH 10 % dan 1 ml Alfa naftol, jika terjadi perubahan warna berarti VP positif, bila tidak terjadi perubahan warna berarti negatif.
  - 7) Uji Hidrogen Sulfida  
Satu Ose bakteri diinokulasikan pada medium TSIA(Triple Sugar Iron Agar) yang telah diberi kertas Pb asetat. Bila pada kertas tersebut tampak warna hitam kecoklatan artinya terbentuk  $H_2S$ .
  - 8) Uji Fermentasi Karbohidrat (Laktosa, Glukosa, Sukrosa dan Manitol)  
Dilakukan inokulasi pada medium kaldu glukosa. Amati biakan dengan indikator merah fenol, bila warna medium berubah menjadi kuning berarti positif .
  - 9) Uji Oksidasi Fermentasi (OF)  
Satu koloni bakteri masing-masing ditotolkan pada permukaan medium OF yang ditutup dengan paraffin dan permukaan medium yang tidak ditutup dengan paraffin. Oksidasi ditandai dengan perubahan warna pada medium OF yang tidak ditutup paraffin menjadi kuning orange. Sedangkan fermentasi ditandai dengan perubahan perubahan warna pada kedua medium menjadi kuning orange.
  - 10) Uji Oksidasi  
Satu koloni bakteri pada cawan Petri yang dilapisi kertas saring, lalu teteskan reagen uji oksidase pada koloni tersebut. Uji ini positif jika koloni tersebut ungu dan negatif jika tidak berwarna ungu.
  - 11) Uji Reduksi Nitrat  
Dilakukan inokulasi bakteri dalam medium kaldu nitrat, kemudian tambahkan 1 ml asam sulfanilat dan 1 ml alpha-naftilamin ke dalam biakan. Uji ini positif pada medium menjadi merah/merah muda.
  - 12) Uji Dekarboksilasi Lisin  
Dilakukan inokulasi bakteri pada medium Kaldu Dekarboksilase Lisin (KDL). Uji ini positif jika terjadi perubahan warna medium dari ungu menjadi kuning.

13) Uji Dekarboksilasi Ornitrin

Dilakukan inokulasi bakteri pada medium Kaldus Dekarboksilasi Ornitrin (KDO). Uji ini positif jika terjadi perubahan warna medium dari ungu-merah menjadi kuning.

14) Uji KCN

Dilakukan inokulasi pada medium KCN Broth, jika medium berubah menjadi keruh maka uji ini positif.

mampu tumbuh pada medium (Warsa U. C, 1993).

Untuk menghasilkan biakan murni dari sampel, alat-alat dan bahan harus steril sebelum inokulasi yaitu tidak ada organisme hidup yang berada dalam medium jika diinokulasi. Metoda yang sering digunakan untuk mensterilkan media adalah dengan menggunakan autoklaf (Case L and Johnson T. R, 1984).

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

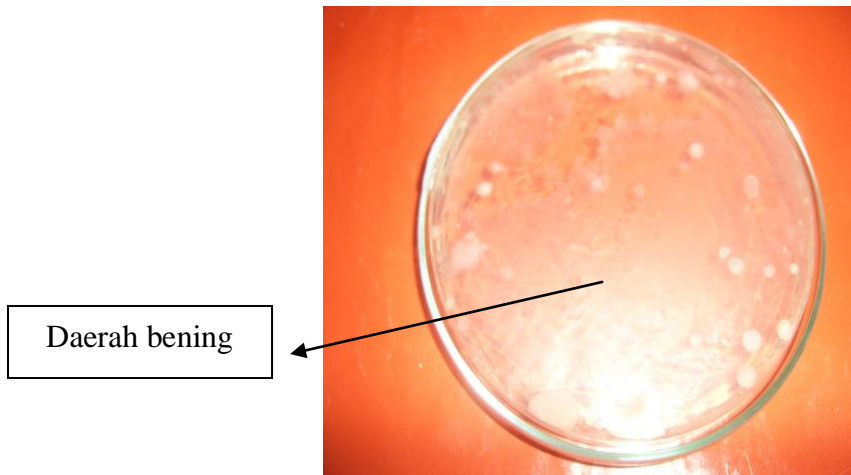
Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah Lumpur sungai Kampar yang diambil di desa Pulau Birandang, Kecamatan Kampar, karena pada daerah ini lingkungannya belum banyak tercemar oleh kegiatan manusia. Lumpur digunakan sebagai sampel karena memiliki populasi bakteri yang cukup besar hal ini ditunjukkan dengan banyaknya jumlah bakteri yang berasal dari Lumpur yang

Dalam satu gram lumpur dapat mengandung ratusan juta bakteri, jutaan aktinomycetes, ratusan ribu spora-spora jamur, puluhan ribu protozoa dan ratusan nematode (Sastramihardja, 1988). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengenceran bertingkat yaitu dari pengenceran 1:10 sampai pengenceran 1 :10000, sehingga pertumbuhan koloni tidak terlalu rapat dan memudahkan pengamatannya.

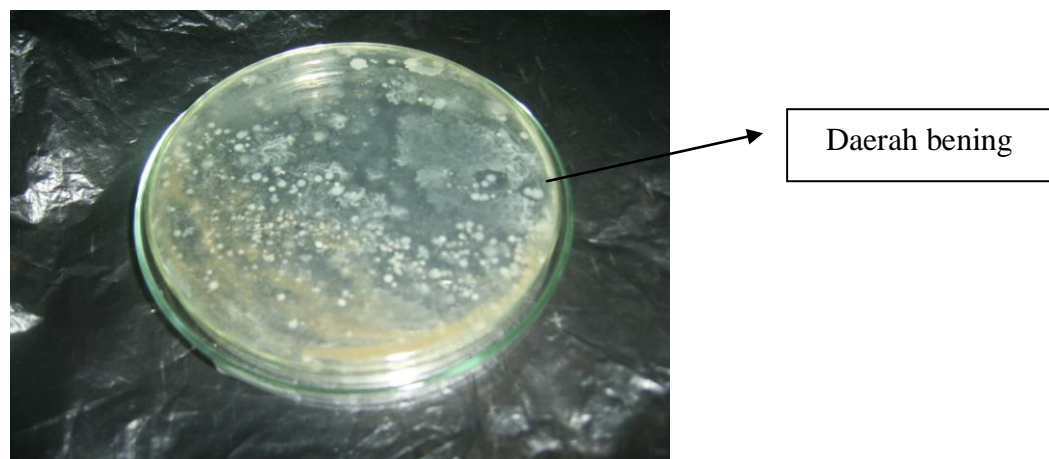


Daerah bening

Gambar 1: Contoh profil daerah bening (*clear zone*) di sekeliling koloni bakteri yang dapat menghasilkan antibiotika pada sampel A<sub>1</sub>



Gambar 2: Contoh profil daerah bening (*clear zone*) di sekeliling koloni bakteri yang dapat menghasilkan antibiotika pada sampel A<sub>5</sub>



Gambar 3: Contoh profil daerah bening (*clear zone*) di sekeliling koloni bakteri yang dapat menghasilkan antibiotika pada sampel B<sub>2</sub>

Pemilihan metode “*crowded plate*” bertujuan untuk mendapatkan mikroorganisme yang lebih banyak dan lebih spesifik dibandingkan dengan metoda lain dan tidak perlu menggunakan mikroba indikator. Sebagai mikroba indikatornya langsung dari populasi sampel bakteri sendiri. Selain itu metoda ini dalam pengerjaannya juga lebih mudah karena dapat dilakukan pengenceran sampel sebelum ditumbuhkan. Larutan yang dipakai untuk pengenceran adalah NaCl 0,9 %, karena larutan tersebut tidak

menyebabkan terjadinya plasmolisis pada sel mikroba. Di samping itu NaCl 0,9% membuat lingkungan sekitar sel menjadi isotonik sehingga cairan di dalam sel tidak akan keluar. (Cappucino G and Natalie, S, 1986).

Sampel yang ditanam pada medium PDA dan NA terlihat jelas banyak terdapat pertumbuhan koloni mikroba. Dari banyak koloni-koloni bakteri yang tumbuh tersebut tidak semuanya memberikan zona bening (*clear zone*) di sekelilingnya tetapi hanya 10 koloni yang tumbuh dan

memberikan *clear zone* pada medium NA dan PDA. Dari 10 koloni yang tumbuh hanya tiga isolat yang dilakukan identifikasi yaitu isolat A<sub>1</sub>, isolat A<sub>5</sub>, isolat B<sub>2</sub> yang memberikan daerah hambat paling besar. Profil daerah bening koloni bakteri dapat dilihat pada gambar 1, 2, dan 3.

Identifikasi dilakukan meliputi pengkulturan pada medium NA menghasilkan reaksi positif pada isolat A<sub>1</sub>, A<sub>5</sub> dan B<sub>2</sub>. Ini menunjukkan bahwa bakteri dapat tumbuh dan berkembang

biak dengan baik dalam medium tersebut. Persyaratan medium yang baik adalah di dalam medium tersebut harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba, medium mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba, medium harus dalam keadaan steril, artinya sebelum ditanam mikroba yang dimasukkan tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan (Dwidjoseputro, 1988).



Gambar 2 : Bentuk *Bakteri Bacillus Sp* Setelah Pewarnaan Gram yang dilihat di bawah Mikroskop.

Uji kedua, bentuk koloni adalah batang berantai yang berwarna krem, berlendir, menyebar. Beberapa sel bakteri seperti *Pneumococcus* yang menyebabkan pneumonemia dikelilingi oleh suatu lapisan bahan pengental yang disebut kapsul atau lapisan lendir. ukuran kapsul sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya bakteri itu. Kapsul bakteri penting artinya baik bagi bakteri maupun organisme lain.

Bagi bakteri kapsul merupakan penutup lindung dan juga berfungsi untuk menambah kemampuan bakteri tersebut untuk menginfeksi. Bila bakteri itu kehilangan kapsulnya sama sekali, maka ia dapat kehilangan kemampuan virulensinya dan dengan demikian kehilangan kemampuannya menyebabkan infeksi (Pelezer M. J. O and E. S. S Chan, 1986).

Tabel 1. Data Identifikasi Bakteri *Bacillus Sp A<sub>1</sub>*, *Bacillus Sp A<sub>5</sub>*, dan *Bacillus Sp B<sub>2</sub>* yang Diisolasi dari Sampel Lumpur Sungai Kampar Riau

No	Perlakuan/ uji biokimia	Koloni yang diproses		
		B <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>5</sub>
2	Pewarnaan Gram (morfologi)	(+) batang berantai	(+) batang berantai	(+) batang
3	Aerob/Anaerob	A	A	A
4	TSIA	Merah/Kuning	Kuning/kuning	Merah/merah
5	Gas	-	-	-
6	H <sub>2</sub> S	-	-	-
7	Katalase	+	+	+
8	Motilitas	+	+	+
9	Indol	-	-	-
10	Urease	-	-	-
11	Citrate	-	-	-
12	Laktosa	-	-	-
13	Glukosa	-	-	-
14	Sukrosa	-	-	-
15	Mannitol	-	-	-
16	MR	-	+	-
17	VP	-	-	-
18	OF	-	-	-
19	Oksidasi	-	-	+

Bakteri ini termasuk gram positif dimana bakteri yang dapat mengikat zat warna utama (komplek ungu kristal iodum) pada pewarnaan gram dan dapat menahan zat warna tersebut dengan kuat setelah proses pencucian, sehingga tidak dapat diwarnai oleh zat warna berikutnya. Hal ini disebabkan karena dinding sel Gram positif tebal dan mengandung peptidoglikan yang lebih banyak (Pelezer M.J.O and E.S.S Chan, 1986). Mikroba ini hidup dalam suasana aerob yaitu mikroba ini untuk tumbuhnya memerlukan oksigen. Bakteri aerob dapat tumbuh dengan mudah pada suasana alam bebas. Bakteri aerob obligat yaitu organisme yang tumbuh hanya dengan adanya oksigen. Mereka memperoleh energinya melalui respirasi aerob. Sedangkan bakteri mikroaerofilik yaitu organisme yang membutuhkan konsentrasi oksigen yang rendah (2-10 %) untuk pertumbuhan.

Pada uji katalase memberikan reaksi positif karena bakteri ini bersifat aerob yang menggunakan oksigen akan menghasilkan hydrogen peroksida yang bersifat racun terhadap sistem enzimnya, tetapi bakteri ini dapat bertahan hidup karena dihasilkannya enzim katalase yang akan merubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Cowan and Steel's, 1974).

Ketiga bakteri ini juga menunjukkan reaksi yang positif terhadap uji motilitas. Ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu melakukan pergerakan, yang biasa bergerak adalah bakteri yang mempunyai flagel. Flagellum terdiri dari tiga bagian yaitu tubuh dasar, sturuktur seperti kait, dan sehelai filamen panjang diluar dinding sel (Chatim A, 1991). Selanjutnya pada isolat A<sub>1</sub> menunjukkan hasil yang positif pada uji *metyl red*. Uji ini untuk menguji kemampuan organisme dalam



menghasilkan dan mempertahankan hasil akhir asam yang stabil dari fermentasi glukosa dalam medium yang menghasilkan asam laktat, asam asetat, asam suksinat, asam formiat, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, dan etanol. Akumulasi dari asam-asam ini dapat menurunkan pH sampai 5 atau kurang yang akan memberikan perubahan warna pada media setelah ditambahkan 1-2 tetes indikator merah metil (Cappucino G and Natalie, S, 1986).

Pada uji TSIA isolat A<sub>1</sub> memberikan warna kuning-kuning. Pada isolat A<sub>5</sub> memberikan warna merah-kuning, dan pada isolat B<sub>2</sub> memberikan warna merah-merah. Uji ini memberikan hasil yang negatif karena tidak terbentuk warna hitam pada dasar media (Cappucino G and Natalie, S, 1986).

Untuk uji oksidasi yang memberikan reaksi yang positif hanya pada isolat A<sub>5</sub> sedangkan pada isolat yang lain memberikan reaksi yang negatif. Uji oksidasi untuk menentukan apakah bakteri mempunyai aktivitas oksidase sitokrom. Enzim oksidase berperan penting dalam transfer elektron selama proses pernafasan aerobik. Sitokrom oksidase mempercepat pengurangan sitokrom oleh molekul O<sub>2</sub> yang menghasilkan H<sub>2</sub>O (Cappucino G and Sherman Natalie, 1986).

#### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

##### Kesimpulan

Mikroba yang mempunyai aktivitas antibiotika yang diisolasi dari Lumpur Sungai Kampar, Riau dengan menggunakan metoda *crowded plate*, yaitu : *Bacillus sp* A<sub>1</sub>, *Bacillus sp* A<sub>5</sub> dan *Bacillus sp* B<sub>2</sub>. Ketiga bakteri tersebut termasuk gram positif, aerob. Ketiga bakteri tersebut bereaksi positif dengan uji katalase dan mortalitas dan bereaksi negatif dengan uji gas, H<sub>2</sub>S,

indol, urease, sitrat, glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, VP, OF.

##### Saran

Dari hasil yang diperoleh maka disarankan pada peneliti selanjutnya untuk mengidentifikasi mikroorganisme sampai diketahui spesiesnya, fermentasi, pengujian aktivitas dan penentuan struktur kimia antibiotika yang dihasilkan

#### DAFTAR PUSTAKA

- Berghe, D. A.V. and A. J. Vlientic, *Screening Method for Antibacterial and Antiviral Agent From Higher Plant*, in *Methods in Plant Biochemistry*, Harborne, J. B. (Ed), Vol.6, 1991.
- Buchanan, R. E, *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*, Eight Edition, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1974..
- Byrom., "Plastic From Microbes: Microbial Synthesis of Polymers and Polymers Precursor", In *Polyhydroxyalkanoate*, (Ed. Mobley, D. P.), 1994, 5-3.
- Case L, C, and Johnson, T. R., *Laboratory Experiments in Microbiology*, The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc, Sydney, California, 1984.
- Cappuccino G. James and Sherman Natalie, *Microbiology a Laboratory Manual*, Rockland Community Collage State University of New York, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, 1986.
- Chatim, A., Penuntun Praktikum Mikrobiologi Kedokteran,

- Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1991.
- Cowan and Steel's, *Manual For The Identification of Medical Bacteria*, Combridge University Prss, London, New York, Melbourn, 1974.
- Cowen, David, L. and Alvin B. Segelmon, *Antibiotic in Historical Perspective*, Merck And Co . Inc, Usa,1981.
- Dhanutirto, H., *Produksi Antibiotika di Indonesia*, Kumpulan Makalah Seminar Nasional Antibiotik, Bandung, 1987.
- Dwidjoseputro, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta, 1988.
- Enefiok, J. N, and Hagerdorn., *Detection of Antibiotic Producing Streptomyces Inhibiting Forest Soil, Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, Volume 14, 1978, 51-54 Fa Fardiaz. S., *Penuntun Praktek Mikrobiologi*, IPB Bandung, 1989.
- Fardiaz. S., *Penuntun Praktek Mikrobiologi*, IPB Bandung, 1989.
- Fardiaz, S., *Analisa Mikribiologi Pangan*, PT. Grafindo Persada, Jakarta, 1993.
- Hanlon, G.W. and Hodges N.A, *Bacitrasin and Protease Production in Relation Tosporulation During Exsponential Growth of Bacillus Licheniformis Onpoorly Utilized Carbon and Nitrogen Source*, *Journal of Bacteriology*, 1981.
- Hadiotomo, R. S., *Microbiologi Dasar Dalam Praktek*, Laboratorium Mikrobiologi Institute Pertanian Bogor, Jakarta, 1990.
- Jewetz, E. J, L. Melnik and E. A. Adelberg, *Review of Medical Microbiology*, 10<sup>Th</sup> Ed, California., 1972.
- Katzung G., *Farmakologi dasar dan Terapi*, Edisi V1, Alih Bahasa Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Jakarta, 1995..
- Lay, B. W., *Analisis Mikroba di Laboratorium*, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta, 1994.
- Nurwanto dan Djarijas AS, *Mikrobaiologi Pangan Hewani-Nabati*, Kanisus, Yogyakarta, 1997
- Philp, L. C, "Micobiology", 3<sup>th</sup> Ed, Sounders Company, Philadelphia, 1972.
- Pelczer, M. J. O., & E. S. S., Chan, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1, Diterjemahkan : R.H.Oetomo, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1986.
- Romita, A., *Penapisan Mikroorganisme Tanah Penghasil Antibiotika pada Daerah Penumpukan Sampah di Kecamatan Koto Tengah Kotamadya Padang*, FMIPA Unand, Padang, 1993.
- Satramihardja I, *Isolasi dan Skrining mikroba Penghasil Antibiotik*, PAU Bioteknologi, ITB, 1988.
- Suriawiria, U., *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Edisi 3, Angkasa, Bandung, 1995.

Suwandi, U , *Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotik*, “Jurnal Cermin Dunia Kedokteran”, No 89, 1993.

Staf Pengajar Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, *Farmakologi dan Terapi*, Ed IV, Gaya Baru, Jakarta, 1995.

Storm, D. R. and Toscano. W. A., “*Bacitracin* “, in Hahn F. E., Ed. Eed. Antibiotik I, Springer-Verlag, Berlin, Germany,1979.

Sub Seksi Bakteriologi, *Uji Penunjang dan Uji Biokimia yang Dipakai untuk Pemeriksaan Bakteriologi*, Balai Laboratorium Kesehatan Padang, Sumatra Barat, 2001

Tarigan J, *Pengantar Mikrobiologi*, DEPDIKBUD, Jakarta, 1998.

Volk, W. A, and M. F, Wheeler, *Mikrobiologi Dasar*, Edisi V, Jilid 1, Diterjemahkan oleh Sumarto Adisumartono, Erlangga, Jakarta, 1990.

Warsa, U. C, *Mikrobiologi Kedokteran*, Bina Rupa Aksara, Jakarta, 1993.

Yulinah, Ed, *Mekanisme Antibiotika*, Pusat Penelitian Antar Universitas Bioteknologi, ITB, Bandung, 1991.