

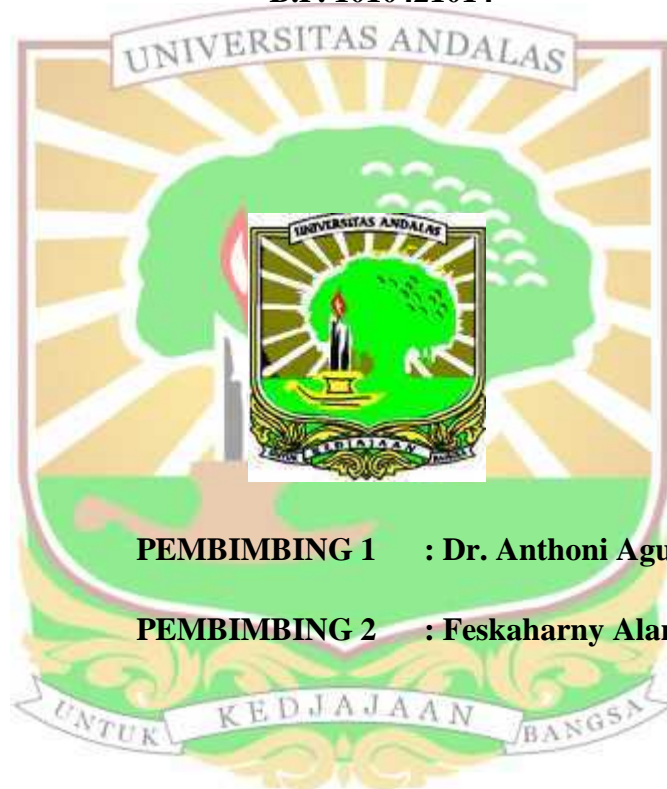
**PENGARUH pH DAN SUHU TERHADAP PRODUKSI ANTIBIOTIKA DARI
ISOLAT BAKTERI ENDOFITIK PADA TUMBUHAN ANDALAS**

(Morus macroura Miq.)
SKRIPSI SARJANA BIOLOGI

OLEH: RISKI

BUDI YANI

B.P. 1010421014



PEMBIMBING 1 : Dr. Anthoni Agustien

PEMBIMBING 2 : Feskaharny Alamsjah MS.i

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG, 2016

PENGARUH pH DAN SUHU TERHADAP PRODUKSI ANTIBIOTIKA DARI
ISOLAT BAKTERI ENDOFITIK PADA TUMBUHAN ANDALAS
(*Morus macroura* Miq.)

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi

OLEH:

RISKI BUDI YANI
B.P. 1010421014

Padang, 21 Oktober 2016

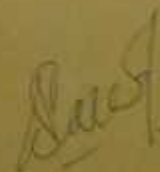
Disetujui oleh :

Pembimbing I



Dr. Anthoni Agustien
NIP. 196208121988111001

Pembimbing II



Fekaharny Alamsjah, MSI
NIP. 196407141990012001

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang
pada hari tanggal 21 Oktober 2016

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. phil.nat. Nurmiaati	Ketua	
2.	Dr. Anthoni Agustien	Sekretaris	
3.	Feskaharny Alamsjah, MSi	Anggota	
4.	Dr. Nasril nasir	Anggota	
5.	Muhammad Nazri Janra M.Si, M.A	Anggota	

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Saya mahasiswa/dosen/tenaga kependidikan* Universitas Andalas yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama lengkap : Riski Budiyan
No. BP/NIM/NIDN : 1010421014
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Tugas Akhir : TA D3/Skripsi/Tesis/Disertasi/.....**

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Andalas hak atas publikasi *online* Tugas Akhir saya yang berjudul:

**PENGARUH pH DAN SUHU TERHADAP PRODUKSI ANTIBIOTIKA DARI
ISOLAT BAKTERI ENDOFITIK PADA TUMBUHAN ANDALAS (*Morus macroura*
Miq.)**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Universitas Andalas juga berhak untuk menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola, merawat, dan mempublikasikan karya saya tersebut di atas selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Padang, 28 Desember 2016

Yang menyatakan,



(Riski Budiyan)

* pilih sesuai kondisi

** termasuk laporan penelitian, laporan pengabdian masyarakat, laporan magang, dll

*Dengan rasa syukur, kupersembahkan kado kecil ini untuk
Alm. Ayahandaku Zainal, danAlmh. Ibundaku Asni yang semasa hidup beliau
selalu berdo'a dan menyanggahi ku hingga akhir hidupnya. Kepada ibundaku
Lery Amoy dan pamanku Pardi, saudaraku (Dede, Rafi dan Rani), serta keluarga
besar ku yang telah memberikan do'a, kasih sayang, dukungan dan pengorbanan
yang tulus kepadaku hingga perjuangan ini dapat kuselesaikan.*



Riski Budi Yani S.Si

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis sampaikan kehadiran Allah SWT, Sang Penguasa Alam Semesta yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh pH dan suhu terhadap produksi antibiotika dari isolat bakteri endofitik pada tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.)” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada program studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

Skripsi ini dapat diselesaikan tidak terlepas dari motivasi dan bantuan secara langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan. Dengan rasa hormat penulis sampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Dr. Anthoni Agustien dan Feskaharny Alamsjah, M.Si selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, memberikan banyak masukan dan meluangkan waktunya mulai dari penyusunan proposal hingga selesai skripsi ini.
2. Dr.phil.nat. Nurmiati, Muhammad Nazri Janra M.Si dan Dr. Nasril Nasir, selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dan arahan untuk penyempurnaan skripsi ini.
3. Dr. Resti Rahayu selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan bimbingan kepada penulis selama mengikuti kegiatan perkuliahan.
4. Ketua Jurusan Biologi dan Dosen staf pengajar di lingkungan Biologi, FMIPA Universitas Andalas.
5. Seluruh karyawan dan karyawan di lingkungan Jurusan Biologi, FMIPA Unand.
6. Rekan-rekan sepenelitian di Laboratorium Riset Mikrobiologi, teman seperjuangan angkatan 2010.

7. Para sahabat: Monic, Hezy, Sari, Miftha, Mitha, Diana, Izza, Rina, Rere, Dini, Lana, Putri, Yaya, Meri, Oshin, Yeni, Mella, Anugrah, Ami, Leo, Riki, Fadil, Ridho, Adek, kak Ati dan yang selalu ada memberikan semangat Randa.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini menjadi karya yang berarti dan bermanfaat bagi semua pihak, serta memberikan kontribusi bagi ilmu biologi umumnya. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat-NYA kepada kita semua, Amin.

Padang, 21 Oktober 2016



Penulis

ABSTRAK

Penelitian “Pengaruh pH dan suhu terhadap produksi antibiotika dari isolat bakteri endofitik pada tumbuhan Andalus (*Morus macroura* Miq.)” telah dilaksanakan dari bulan Januari sampai Juni 2016 di Laboratorium Riset Mikrobiologi FMIPA Unand, Padang. Penelitian ini dilakukan dengan metoda eksperimen data yang dianalisa secara deskriptif. Seleksi bakteri penghasil antibiotika dilakukan dengan metode kertas cakram menggunakan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian telah berhasil didapatkan pH optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah pH 7,0 sedangkan, suhu optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah suhu 37⁰C.

Kata Kunci: pH, Suhu, Antibiotika, Bakteri Endofitik dan Andalus



ABSTRACT

The study about “Effect of pH and temperature to production antibiotic from isolate bacteria endophytes of Andalus plant (*Morus macroura* Miq.)” had been conducted from January until June 2016 at Riset Microbiology Laboratory, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Science, Andalas University. The study used survey method and the data were analysed descriptively. The selection of the bacteria which produce antibiotic had been with paper disk method and used *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as the sample bacteria. This result showed pH 7,0 was successful optimum pH antibiotic produced for *Bacillus* sp.1 and *Bacillus* sp.2. and thirty seven degrees celcius was the optimum temperature to antibiotic produced from *Bacillus* sp.1 and *Bacillus* sp.2.

Keyword: pH, Temperature, Antibiotic, Endophytes bacteria, and Andalus,



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mikroba Endofitik.....	5
2.2 Tumbuhan Andalas.....	6
2.3 Antibiotika.....	9
2.4 <i>Bacillus</i> spp.....	11
2.5 Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.....	12
2.5.1 Suhu.....	12
2.5.2 pH.....	13
2.6 Mikroorganisme uji.....	14
2.6.1 <i>Escherichia coli</i>	14
2.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
III. PELAKSANAAN PENELITIAN	17
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17

3.2 Metode Penelitian.....	17
3.3 Alat dan Bahan.....	17
3.4 Prosedur Kerja.....	18
3.4.1 DiLaboratorium.....	18
3.4.1.1 Penyediaan <i>Bacillus</i> sp.1 dan <i>Bacillus</i> sp.2.....	18
3.4.2 Sterilisasi Alat dan Medium.....	18
3.4.3 Pembuatan Medium.....	18
3.4.3.1 Medium Nutrien Agar (NA).....	18
3.4.4 Peremajaan Bakteri Uji.....	19
3.4.5 Produksi Antibiotika dari Isolat Bakteri <i>Bacillus</i> sp.2.....	19
3.4.5.1 Pembuatan Inokulum.....	21
3.4.5.2 Efek pH Terhadap Produksi Antibiotika.....	21
3.4.5.3 Efek Suhu Terhadap Produksi Antibiotika.....	21
3.4.6 Uji Antibiotika.....	21
3.5 Analisa Data.....	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
4.1. Efek pH terhadap produksi antibiotika.....	22
4.2. Efek Suhu Terhadap Produksi Antibiotika.....	25
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	36
BIODATA.....	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Efek pH terhadap produksi antibiotika dari <i>Bacillus</i> sp.1 dan <i>Bacillus</i> sp.2 pada bakteri uji	22
2. Efek suhu terhadap produksi antibiotika dari dari <i>Bacillus</i> sp.1 dan <i>Bacillus</i> sp.2 pada Ph 7,0	25



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon Andala (<i>Morus Macroura</i>).....	7
2. Sel bakteri <i>Escherichia coli</i>	14
3. Bentuk sel <i>Staphylococcus aureus</i>	16
4. Zona hambat bakteri.....	26
5. Histogram diameter zona hambat antibiotika dari <i>Bacillus</i> sp.1 dan <i>Bacillus</i> sp. 2 pada pH 7,0.....	24
6. Histogram diameter zona hambat antibiotika dari <i>Bacillus</i> sp.1 dan <i>Bacillus</i> sp. 2 pada suhu 37°C	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi medium NA (Nutrien agar) dan komposisi medium produksi	35
2. Biakan miring isolat <i>Bacillus</i> spp	37



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara terbesar yang mengimpor bahan baku obat dalam pembuatan antibiotika dan negara yang menghadapi berbagai penyakit infeksi, dimana antibiotika merupakan kebutuhan obat mendasar di Indonesia. Impor bahan baku obat rentan terhadap perubahan harga, kualitas dan kesinambungan pasokan. Obat merupakan komoditas berfungsi sosial dan menentukan hidup orang banyak. Saat ini, 96 persen bahan baku obat diimpor. Untuk mengurangi ketergantungan terhadap negara lain, pemerintah Indonesia telah menetapkan bahwa secara bertahap bahan baku antibiotika akan diproduksi secara fermentasi penuh didalam negeri dan memanfaatkan sumber daya alam yang dimiliki (Djamaanet *al.*, 1993). Produksi antibiotika dapat dilakukan dengan proses sintesis kimiawi dari tumbuhan dan mikroba (Crueger and Crueger, 1984 *cit.* Agustien, 2000).

Mikroba endofitik adalah mikroba yang hidup dalam jaringan tumbuhan. Mikroba ini hidup di antara sel tumbuhan dan bersimbiosis mutualisme dengan inangnya (Kumala, Syarmalina dan Handayani, 2006). Dari sekitar 300.000 jenis tumbuhan yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tumbuhan mengandung satu atau lebih mikroba endofit. Secara teori, mikroba endofit yang diisolasi dari suatu tumbuhan obat dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tumbuhan aslinya atau bahkan dalam jumlah yang relatif tinggi (Radji, 2005).

Tumbuhan Andalas (*Morus macroura*) merupakan tumbuhan flora identitas atau maskot daerah Sumatera Barat yang termasuk kedalam famili Moraceae (Wydiastuti, 1993, *cit.* Desniwarni, 1996). Pada daun tumbuhan Andalas mengandung senyawa fenol golongan stilben, termasuk turunan resveratrol (3,5,4-trihidroksi-trans-stilben) dan oksiresvaatrol (2,4,3,5-tetrahidroksi-trans-stilben) yang

sangat potensial dalam bioindustri kosmetik. Penelitian yang telah dilakukan oleh Soekamto *et al.*, (2003) terhadap ekstrak tumbuhan Andalas dan berhasil menemukan sejumlah senyawa turunan stilben. Dari tumbuhan Andalas juga diperoleh turunan oksiresveratrol, seperti oksiresveratrol (1), lunularin (2), dan duasenyawa baru dimer oksiresveratrol yang diberi nama andalasin A (3) dan andalasin B (4). Biotransformasi oksiresveratrol, sedangkan andalasin A, telah dilaporkan sebelumnya, merupakan inhibitor tirosinase yang kuat, yang sangat berguna dalam industri kosmetik.

Penelitian Jasmansyah (2002) menunjukkan pada bagian daun tumbuhan Andalas (*Morus macroura*) menghasilkan senyawa kimia yang berpotensi sebagai bahan baku industri farmasi seperti: hidroksitridekanildodekanoat, triterpenoid tetrasiklik asetat, β -sitosterol, asam betulinat, triisoprenil flavanol dan morasin B. Disamping itu kandungan senyawa kimia di dalam tumbuhan Andalas diantaranya triterpen asam betulinat yang diisolasi dalam kadar yang cukup tinggi mempunyai aktivitas sebagai anti HIV. Disamping itu juga antitumor melanoma pada manusia dan mencegah peradangan (Hakim *et al.*, 2006).

Upaya untuk mendapatkan antibiotika baru baik dari tumbuhan, hewan maupun mikroba menjadi bagian yang menarik bagi kalangan peneliti. Salah satunya telah dilakukan oleh Rahayu (2015) yang mengisolasi bakteri endofitik yang berpotensi menghasilkan antibiotika dari tumbuhan Andalas (*Morus macroura*) dimana dari 11 isolat yang didapatkan, 2 isolat berpotensi menghasilkan antibiotika yaitu *Bacillus* sp. 2.

Bacillus digunakan sebagai agen biokontrol secara luas, menghasilkan zat antimikroba berupa bakteriosin. Bakteriosin adalah zat antimikroba polipeptida atau protein yang diproduksi oleh mikroba yang bersifat bakterisida. Bakteriosin membunuh sel targetnya dengan menyisip pada membran target dan mengakibatkan

fungsi membran sel menjadi tidak stabil sehingga menyebabkan sel lisis (Compant *et al.*, 2005).

Penelitian tentang *Bacillus* sp. saat ini telah banyak dilakukan, salah satunya telah dilakukan oleh Malau (2012), yang melaporkan bahwa *Bacillus* sp. menghasilkan enzim kitinase yang mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen yaitu *Aspergillus* sp. 2 pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara in vivo maupun in vitro. *Bacillus* juga menghasilkan enzim yang banyak digunakan dalam industri diantaranya *Bacillus* spp. penghasil enzim -amilase yang banyak digunakan dalam industri untuk menghidrolisis ikatan -1,4 glikosidik pati, glikogen dan substrat sejenisnya (Widyasti, 2003). Fuad *et al.*, (2004) melaporkan *Bacillus thermoglucosidasius* AF-01 memproduksi parsial protease alkali yang memiliki sifat proteolitik yang cukup tinggi banyak digunakan pada industri detergen dan makanan.

Media tumbuh suatu bakteri sangat dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan meliputi faktor abiotik dan biotik. Faktor abiotik meliputi suhu, tekanan osmose, pengeringan, serta ion-ion dan listrik. Mikroba umumnya menyukai pH netral (pH 7). Namun ada beberapa bakteri hidup pada media alkalin, misalnya bakteri *rhizobia*, *actinomycetes*, nitrat dan bakteri pengguna urea (Pelczar and Chan, 1988). Bakteri endofitik merupakan bakteri mesofilik. Bakteri mesofilik adalah salah satu kelompok mikroba yang hidup pada kisaran suhu 25° C sampai 40° C dengan kisaran suhu optimum 25 °C sampai 37° C (Black, 2005).

Dari uraian diatas untuk meningkatkan produksi antibiotik dipengaruhi oleh faktor suhu dan pH sehingga didapatkan produksi antibiotika yang baik. Sejauh ini belum ada informasi tentang pengaruh pH dan suhu terhadap produksi antibiotik dari isolat bakteri *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 yang merupakan bakteri endofitik pada tumbuhan Andalas.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah pengaruh pH terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2, bakteri endofitik dari tumbuhan Andalas?
2. Bagaimanakah pengaruh suhu terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2, bakteri endofitik dari tumbuhan Andalas?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pH terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2, bakteri endofitik dari tumbuhan Andalas.
2. Untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2, bakteri endofitik dari tumbuhan Andalas.

1.4 Manfaat Penelitian

Diperoleh data suhu dan pH optimal dalam menghasilkan antibiotika oleh *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 bakteri endofitik dari tumbuhan Andalas.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroba endofitik

Mikroba endofit adalah suatu mikroba yang hidup dan berasosiasi di dalam jaringan tanaman inang. Asosiasi yang terjadi umumnya bersifat mutualistik, namun ada beberapa di antaranya yang bersifat patogenetik. Mikroba endofit diisolasi dari jaringan tanaman ditumbuhkan pada medium fermentasi dengan komposisi tertentu. Di dalam medium fermentasi, mikroba endofit menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti yang terkandung pada tanaman dengan bantuan aktivitas enzim (Petrini, 1992).

Beberapa manfaat mikroba endofit antara lain sebagai agen biokontrol tanaman (Harni, 2006), anti mikroba, anti kanker (Kumala, 2009), antioksidan, antiinflamasi, immunosupresi, dan anti diabetes (Rahmawati, 2009). Selain itu bakteri endofit juga sebagai plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) dengan menghasilkan hormon tumbuhan dan ketersediaan nutrisi tertentu (Supramana, 2007).

Bakteri endofitik dapat diisolasi dari jaringan tanaman (xilem dan floem), daun, akar, buah, dan batang. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofitik yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofitik. Mikroba endofitik tersebut dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sesuai dengan senyawa bioaktif dari tanaman inangnya (Radji, 2005).

Potensi sumber daya mikroorganisme yang terdapat didalam jaringan tanaman mulai banyak mendapat perhatian. Berbagai jenis tanaman terutama tanaman obat dapat digunakan sebagai sumber isolat bakteri endofitik. Pemanfaatan

bakteri endofitik didalam jaringan tanaman dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder sejenis yang terdapat didalam tanaman itu sendiri (Strobel, 2004).

Hal ini merupakan salah satu alternatif pengendalian non kimiawi yang terus dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir. Karena pemanfaatan metabolit secara langsung dari tanaman, banyak menemui kendala diantaranya jumlah tanaman yang terbatas dan siklus hidup tumbuhan yang relatif lama. Sehingga penggunaan tanaman secara langsung tidak efisien (Prihatiningtias, 2007).

Berbagai jenis mikroba endofitik telah berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dan telah berhasil dibiakkan dalam media perbenihan yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta telah dielusidasi struktur molekulnya (Clay, 1988 *cit* Marlina, 2012).

Bakteri endofitik masuk kedalam jaringan tumbuhan umumnya melalui akar, namun bagian tumbuhan yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang dan kotiledon, juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofitik. Mikroba ini dapat hidup didalam pembuluh vaskular atau ruang intersel, akar, batang, daun dan buah (Zinniel *et al.*, 2002).

2.2 Tumbuhan Andalas

Tumbuhan Andalas (*M. macroura*) merupakan salah satu tumbuhan langka Indonesia endemik Sumatera. Menurut Backer dan Van den Brink (1965, *cit.* Dahlan, 1994), Tumbuhan Andalas sangat baik dikembangkan untuk tanaman industri karena kualitas kayunya yang sangat baik, kuat dan tahan terhadap rayap serta adanya senyawa kimia yang berpotensi sebagai obat leukemia, anti tumor dan anti bakteri. Andalas satu famili dengan murbei, yaitu famili *Moracea*. Genus *Morus* yang lain seperti *M. nigra* dan *M. cathayana* juga tergolong kedalam famili *Moracea* yang secara umum di belahan dunia lain digolongkan sebagai *mulberry*. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pohon Andalas (*Morus macroura*) sumber : prosea (2013).

Klasifikasi Andalas menurut Sistem Klasifikasi Cronquist (1981) dan Radford (1986) *diacu dalam* Jawati 2006, adalah:

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas : Hamamelidae

Ordo : Morales

Famili : Moraceae

Genus : *Morus*

Species : *Morus macroura* Miq.

Tumbuhan Andalas mempunyai daun berwarna hijau berbentuk oval dengan pinggiran daun bergerigi. Permukaan daun sebelah bawah umumnya licin sementara permukaan sebelah atas kasar apabila diusap dari ujung daun ke pangkal daun. Warna daun akan berubah menjadi hijau tua bahkan menjadi hijau pekat kehitaman menjelang musim kemarau. Hampir sama dengan beberapa tumbuhan hutan lain,

seperti jati dan surian, Andalas juga menggugurkan daunnya setahun sekali. Sebagai tumbuhan berkayu, tumbuhan Andalas dapat mencapai tinggi lebih 40 m dengan tajuk yang rimbun. Jika tumbuhan ini dirawat baik, maka dapat tumbuh lurus dengan batang yang kuat dan dapat menghasilkan kayu yang baik (Anwar, Renfiyeni, dan Jamsari, 2008).

Penyebaran tumbuhan Andalas dikawasan Melanesia terdapat hanya beberapa lokasi di Sumatera. Di kawasan Sumatera Barat tumbuhan ini terdapat disekitar lembah antara gunung Merapi, gunung Singgalang dan gunung Sago. Disamping itu terdapat juga pada daerah lain seperti Batang Barus, Maninjau (Dahlan, 1994). Menurut Pemerintah daerah Sumatera Barat (1991), penebangan dan pemanfaatan pohon Andalas yang relatif tinggi oleh penduduk untuk memenuhi kebutuhan hidupnya.

Dalam rangka menemukan obat-obatan untuk menyembuhkan berbagai penyakit banyak senyawa kimia alami yang berasal dari tumbuhan Andalas. Kelompok tumbuhan ini merupakan sumber senyawa fenol golongan stilben, termasuk turunan resveratrol (3,5,4-trihidroksi-trans-stilben) dan oksiresveratrol (2,4,3,5-tetrahidroksi-trans-stilben) yang sangat potensi dalam bioindustri kosmetik. Penelitian terhadap ekstrak tumbuhan Andalas, berhasil menemukan sejumlah senyawa turunan stilben, oksiresveratrol, seperti oksiresveratrol (1), lunularin (2), dan dua senyawa baru dimer oksiresveratrol yang diberi nama andalasin A (3) dan andalasin B (4). Biotransformasi oksiresveratrol, sedangkan andalasin A, telah dilaporkan sebelumnya, merupakan inhibitor tirosinase yang kuat, yang sangat berguna dalam industri kosmetika (Soekanto *et al.*, 2003).

Beberapa senyawa kimia yang terkandung di dalam pohon ini tengah diteliti manfaatnya sebagai biofarmaka. Asam betulinat yang berhasil diisolasi dari pohon Andalas bersama dengan bahan-bahan kimia sejenis bersifat menghambat pembiakan virus HIV (Hakim, 2002), disamping itu juga antitumor melanoma pada manusia dan

mencegah peradangan (Hakim *et al.*, 2006). Sebagai salah satu famili murbei, Andalus berpeluang untuk dibudidaya ulat sutera. Daunnya yang lebih rimbun dan dapat mencapai ukuran dua kali lipat murbei sangat berpotensi dalam penyediaan pakan alternatif bagi ulat sutera. Disamping itu, buah tanaman ini juga berpotensi sebagai bahan makanan (Anwar, Renfiyeni, dan Jamsari, 2008).

Tumbuhan Andalus selain memiliki kayu yang termasuk bagus dan kuat, juga memiliki khasiat sebagai obat, mulai dari daun, akar dan batangnya. Beberapa jenis *Morus*, seperti *Morus alba*, *Morus bombycis*, *Morus Ihou*, dan *Morus multicaulis*, telah lama digunakan sebagai obat tradisional di negara Cina. Tumbuhan ini biasanya sebagai obat asma, hipertensi, influenza dan rematik. Daun dan buah *Morus macroura* mengandung alkaloida, saponin dan polifenol. Di Indonesia banyak yang memanfaatkan daun Andalus karena dianggap berkhasiat sebagai obat kudis (Gusmailiana, 2014).

2.3 Antibiotika

Penggunaan antibiotik dunia lebih dari 40.000 ton/ tahun dalam industri pangan, pakan, pertanian, kesehatan, biokimia, genetika, dan biologi molekuler memiliki kecenderungan meningkat. Ragam antibiotik cukup banyak namun sifat intrisiknya dapat menimbulkan resistensi terhadap mikrobia target sehingga senyawa ini tidak lagi dapat diaplikasikan (Neu, 1992). Oleh karena itu, langkah-langkah mendapatkan jenis antibiotik baru masih sangat diperlukan baik lewat sintesis kimia, biokimia baru atau penemuan isolat mikrobia baru (Tscherter and Dreyfus, 1992).

Antibiotika berasal dari bahasa latin yaitu terdiri dari kata “Anti” yang artinya lawan dan “Bios” yang artinya hidup. Antibiotika pertama kali ditemukan oleh Alexander Fleming pada tahun 1928, dan pada tahun 1930, penasilin mulai diresepkan untuk mengobati penyakit-penyakit infeksi (Nurrachmi, 2009).

Antimikroba merupakan zat kimia dengan kekuatan atau konsentrasi tertentu mempunyai kemampuan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen, tetapi tidak membahayakan inangnya. Berdasarkan toksisitas selektif, antimikroba menghalangi pertumbuhan mikroba yang disebut dengan aktivitas bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh mikroba, disebut aktivitas bakterisida (Jawetz, 2001).

Untuk keperluan produksi antibiotika secara fermentasi, dibutuhkan strain-strain mikroorganisme penghasil antibiotika yang potensial sebagai starternya. Di Indonesia, data mengenai mikroorganisme penghasil antibiotika belum banyak dilaporkan, sedangkan negara maju seperti Amerika Serikat, Jepang, Jerman dan Inggris tidak mau memberikan atau menjual begitu saja strain mikroorganisme tersebut dan biasanya diproteksi secara ketat karena menyangkut paten dan bisnis bahan baku obat dunia (Kasim, 1997).

Upaya untuk mendapatkan antibiotika baru baik dari tanaman, hewan maupun mikroba menjadi bagian yang menarik bagi kalangan peneliti. Beberapa upaya itu di antaranya telah berhasil dan diproduksi secara besar-besaran, misalnya: basitrasin, suatu antibiotika polipeptida dari beberapa galur *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus subtilis* telah diproduksi dalam skala industri dan dipasarkan. Suatu galur lokal baru *Bacillus* sp. BAC4 diketahui memproduksi enzim penisilin G asilase (PGA) ekstrasel (Moeis *et.al.*, 2000; Supartono *et.al.*, 2008).

Mekanisme antibiotik menghambat mikroba melalui beberapa cara yang berbeda yaitu, antibiotik bekerja menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu membran sel mikroba, menghambat sintesis protein dan asam nukleat mikroba, dan mengganggu metabolisme sel mikroba. Antibiotik menghambat pertumbuhan mikroba dengan cara bakteriostatik atau bakterisida. Hambatan ini terjadi sebagai akibat gangguan reaksi yang penting untuk pertumbuhan. Reaksi penting ini mungkin merupakan satu-satunya jalan untuk mensintesis makromolekul seperti protein atau

asam nukleat, sintesis struktur sel seperti dinding sel atau membran sel dan sebagainya (Suwandi, 1992).

Penghambatan pada beberapa reaksi dapat terjadi secara langsung yaitu antibiotik langsung memblokir beberapa reaksi tersebut, namun masing-masing reaksi memerlukan konsentrasi antibiotik yang berbeda. Ketergantungan pada konsentrasi ini menggambarkan perbedaan kepekaan reaksi tersebut terhadap antibiotik. Selain itu, pengaruh antibiotik juga dapat terjadi secara tidak langsung yaitu berupa pengaruh sekunder akibat gangguan pada reaksi lain sebagai pengaruh primer (Suwandi, 1992).

2.4 *Bacillus* spp.

Bacillus sp merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang yang mempunyai kemampuan membentuk endospora pada kondisi yang kurang menguntungkan. Bakteri tersebut terdapat dimana-mana, dan karena membentuk spora maka bakteri tersebut dapat bertahan hidup dalam lingkungan selama beberapa tahun, sehingga dalam proses pengendaliannya menjadi lebih sulit (Jawetz, 2011). *Bacillus* merupakan salah satu kelompok bakteri yang mampu mendegradasi selulosa (Sudiana, 2002; Lynd *et al.*, 2002).

Bacillus merupakan bakteri yang sangat baik digunakan sebagai kandidat agen biokontrol karena dapat menghasilkan beberapa metabolit aktif seperti antibiotik, proteinase dan bakteriosin (Mawadza *et al.*, 2000 ; Schallmey, Singh, and Ward, 2004).

Bacillus juga berbeda dalam sifat pertumbuhannya. Beberapa bersifat mesofilik misalnya *Bacillus subtilis* yang lainnya bersifat termofilik fakultatif misalnya *Bacillus coagulans* atau termofilik pada *Bacillus stearothermophilus* sering menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng. Sebanyak 22 spesies *Bacillus* telah diidentifikasi diantaranya banyak ditemukan pada makanan. Beberapa kelompok bakteri ini menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menekan pertumbuhan

patogen (Backman, Brannen, and Mahaffe, 1994). *Bacillus* telah banyak diaplikasikan pada benih untuk mencegah patogen tular tanah seperti *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinera*, *Phytium* sp. dan *Sclerotium rolfsii* (Baker & Cook, 1974).

2.5 Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri:

2.5.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan dan kemampuan bertahan hidup suatu mikroorganisme. Pertumbuhan mikroba memerlukan kisaran suhu tertentu. Kisaran suhu pertumbuhan dibagi menjadi suhu minimum, suhu optimum, dan suhu maksimum. Suhu minimum adalah suhu terendah tetapi mikroba masih dapat hidup. Suhu optimum adalah suhu paling baik untuk pertumbuhan mikroba. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi untuk kehidupan mikroba (Kumar dan Takagi, 1999).

Sebagian besar pertumbuhan bakteri mencapai optimal pada suhu sekitar 20-45°C yang disebut mesofilik. Lain halnya untuk bakteri termofilik yang telah menyesuaikan diri untuk bertahan hidup, dan berkembang pada suhu yang lebih tinggi. Bakteri termofilik akan mampu tumbuh dalam rentangan suhu sekitar 40-80°C, dengan pertumbuhan optimal pada kisaran suhu 50-65°C. Termofilik ekstrim memiliki suhu optimal lebih dari termofil, dan dapat bertoleransi pada suhu lebih dari 100°C. Pada tahun 2003, anggota dari kelompok bakteri primitif yang disebut Archaea, diketahui dapat tumbuh pada suhu 121°C, hal tersebut merupakan sebuah rekor dunia baru. Psikrofil menempati rentangan suhu ekstrim yang lain, mikroba dapat juga tumbuh pada suhu 0°C, dengan pertumbuhan optimal yang terjadi pada suhu 15°C atau dibawahnya. mikroba tersebut tidak dapat tumbuh pada suhu di atas 25°C atau lebih (Stuart, 2005).

2.5.2 pH

pH lingkungan juga berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalisis suatu reaksi. Hal ini disebabkan konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi tiga dimensi enzim dan aktivitasnya. Setiap enzim memiliki pH optimum yang khas, yaitu pH yang menyebabkan aktivitas maksimal. pH optimum enzim tidak perlu sama dengan pH lingkungan normalnya, dengan pH yang mungkin sedikit di atas atau di bawah pH optimum. Pada pH optimum struktur tiga dimensi enzim paling kondusif untuk mengikat substrat. Bila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, aktivitas enzim secara progresif hilang sampai akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 1982).

Umumnya bakteri bekerja optimum pada rentang pH 6-8, tetapi beberapa jenis mikroba dapat hidup pada pH yang lebih rendah yang dikenal dengan istilah *acidophiles* ataupun pada pH yang lebih tinggi yang dikenal dengan istilah *alkalophiles*. Secara umum, kelompok mikroba yang berbeda memiliki pH karakteristik. Kebanyakan bakteri adalah neutrofil. Meskipun sering mikroba tumbuh dari kisaran pH yang luas dan jauh dari optimum, terdapat batas-batas toleransi pada pertumbuhannya (Prescott *et al.*, 2008).

2.6 Mikroorganisme uji

2.6.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli berbentuk batang gemuk berukuran $2,4 \mu\text{m} \times 0,4 \mu\text{m}$ sampai $0,7 \mu\text{m}$, termasuk Gram negatif tidak bersimpai, bergerak aktif dan tidak berspora. Bersifat aerob atau fakultatif aerob dan tumbuh pada pembenihan biasa. *E. coli* meragi laktosa, glukosa, sukrosa, maltosa dan manitol dengan asam dan gas (Brooks *et al.*, 2008). Selnya berbentuk tongkat pendek, tidak mempunyai kapsul, ada yang bergerak dan ada yang tidak bergerak, tetapi pergerakannya sangat sulit untuk dideteksi. *E. coli* tumbuh baik pada suhu $10-46^{\circ}\text{C}$ dan suhu optimum pada 37°C (Todar, 2008).

Dinding sel bakteri Gram negatif merupakan struktur yang berlapislapis dan sangat kompleks. Komponen khusus dinding sel merupakan selaput ganda fosfolipid dengan molekul polisakarida (Jawetz *et. al.*, 2001). *E.coli* merupakan penyebab utama infeksi saluran kencing 90% dari seluruh kejadian infeksi. Neotonal meningitis mungkin terjadi apabila bakteri ini memasuki aliran darah. Selain itu, bakteri ini merupakan penyebab diare sedang dan berat (Todar, 2008).

Menurut Brenner (2005), klasifikasi dari *E.coli* adalah:

Kingdom : Bakteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*

Bentuk sel *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Sel bakteri *Escherichia coli* (sumber: Stevens, 2009).

2.6.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul, berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur. Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5–1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. (Todar, 2008).

Staphylococcus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteri di bawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 20 - 35°C. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lambat dan mengkilat (Jawetz, *et. al.*, 2001). *Staphylococcus aureus* mempunyai 4 karakteristik khusus, yaitu faktor virulensi yang menyebabkan penyakit berat pada normal host, faktor differensiasi yang menyebabkan penyakit yang berbeda pada sisi atau tempat berbeda, faktor persisten bakteri pada lingkungan dan manusia yang membawa gejala karier, dan faktor resistensi terhadap berbagai antibiotik yang sebelumnya masih efektif (Spicer, 2000). *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Jawetz, *et. al.*, 2001).

Pada keadaan normal *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *S. aureus* dapat menjadi penyebab infeksi pada manusia, infeksi yang disebabkan bakteri ini mempunyai potensi menimbulkan penyakit pada manusia. Infeksi yang ditimbulkan olehnya mempunyai tanda yang khas yaitu peradangan, nekrosis dan terbentuknya abses (Warsa, 1994). Jika infeksi terjadi dalam lingkup lokal, tampak sebagai jerawat, namun jika menyebar dan terjadi bakterimia maka bisa terjadi endokarditis akut, meningitis sampai infeksi paru (Brook *et. al.*, 2008).

S. aureus dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya melakukan pembelahan dan menyebar luas ke dalam jaringan dan melalui produksi beberapa

bahan ekstraseluler, seperti katalase, koagulase, enzim lain, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, toksin sindroma syok toksik, dan enterotoksin (Jawetz *et. al.*, 2001).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Capuccino (2001) adalah:

Divisio : Firmicutes

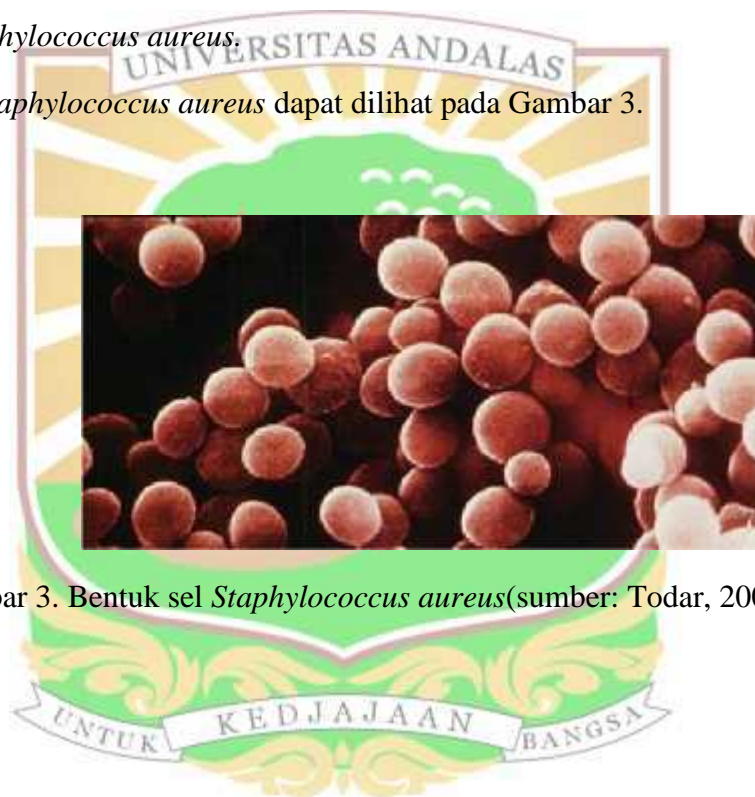
Kelas : Bacilli Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*.

Bentuk sel *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Bentuk sel *Staphylococcus aureus* (sumber: Todar, 2008).

III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari-Juni 2016 bertempat di Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda eksperimen yang dilakukan di Laboratorium Riset Mikrobiologi. Data yang didapatkan disajikan secara deskriptif yaitu membuat gambaran dalam bentuk Tabel (Nazir, 1998).

3.3 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini antara lain : gunting, silet, tissue, *test tube mixer* (Vortex Sibata), *petridish*, timbangan analitik, tabung reaksi, pipet tetes, magnetik stirer, aluminium foil, kapas, Erlenmeyer, gelas ukur, beaker gelas, pipet takar, pipet mikro (pepetman), tabung apendrof, jarum ose, lampu spritus, *Magnetic Stirrer Hotplate* (IEC), Vorteks (*Fisons Whirli Mixer*), pH meter, *objek glass*, mikroskop, Sentrifuse, *Laminar airflow*, *Autoclave*.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain : alkohol 70 %, spritus, aquadest, medium *Nutrien Agar* (NA), air suling steril, air rendaman jagung, sukrosa, CaCO_3 , FeSO_4 , MgCl_2 , ZnSO_4 , bakteri *Bacillus* sp. 2, sedangkan bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Di Laboratorium

3.4.1.1 Penyediaan *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2

Bacillus sp.1 dan *Bacillus* sp.2 diperoleh dari Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. Selanjutnya dilakukan peremajaan bakteri sebagai stok dengan metode “streak plate” dan di inkubasi 24 jam pada suhu kamar. Koloni tunggal bakteri di inokulasi pada media miring yang digunakan sebagai stok bakteri. Biakan miring isolat *Bacillus* spp dapat dilihat pada lampiran 3 (Gambar 8).

3.4.2 Sterilisasi Alat dan Medium

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan, lalu dibungkus dengan kertas kacang. Kemudian, alat-alat dan medium yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C, tekanan 15 lbs selama 15 menit. Hal ini dilakukan untuk pencegahan kontaminasi dari alat-alat dan medium yang akan digunakan. Sedangkan pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara dipijarkan diatas nyala api lampu spritus selama beberapa detik (Hadioetomo, 1990).

3.4.3 Pembuatan Medium

3.4.3.1 Medium Nutrien Agar (NA)

Medium NA terdiri dari beef extract 3 g, pepton 5 g, dan agar 15 g, Medium NA ditimbang sebanyak 23 g, lalu di masukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 1000 ml air suling. Kemudian campuran ini dipanaskan di atas *hotplates* sambil diaduk dengan magnetik stirer sampai homogen dan mendidih larutan dicukupkan 1000ml

dengan penambahan air suling. Selanjutnya, medium disterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 lbs selama 15 menit (Atlas, 1993).

3.4.4 Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *E. coli* dan *S. aureus*. *E. coli* dipilih mewakili bakteri Gram negatif, dan *S. aureus* dipilih mewakili bakteri Gram positif (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri uji didapatkan dari stok murni yang tersedia di Laboratorium Riset Mikrobiologi Biologi Unand Padang. Stok murni tersebut dibiakan kedalam medium NA dengan melakukan streak plate, diamkan selama 24 jam. Koloni tunggal yang terbentuk diinokulasi kedalam media miring. Lalu inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Biakan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*.

3.4.5 Produksi Antibiotika dari Isolat Bakteri *Bacillus* sp.2

3.4.5.1 Pembuatan Inokulum

Disiapkan medium produksi antibiotika pH 7,0 sebanyak 1L dengan komposisi air rendaman jagung 3%, sukrosa 3%, CaCO_3 0,5%, FeSO_4 0,1%, MgCl_2 0,2%, ZnSO_4 0,01%. Medium dipanaskan sampai mendidih dan homogen. Sebanyak 25 ml media di masukkan kedalam Erlenmeyer ukuran 100 ml lalu disterilisasi. Di inokulasi 1-2 ose biakan bakteri *Bacillus*. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C , agitasi 120 rpm selama 24 jam (Rahayu, 2006 ; Udin *et al.*, 1991).

3.4.5.2 Efek pH Terhadap Produksi Antibiotika

Disiapkan medium produksi antibiotika dengan komposisi sama dengan pembuatan inokulum dengan variasi pH yang berbeda yakni : 6,5 ; 7,0 dan 7,5. Pembuatan medium produksi antibiotika dengan pH berbeda dilakukan penambahan 1N NaOH. Inokulum diinokulasi sebanyak 2,5 ml pada Erlenmeyer yang mengandung 47,5 ml medium produksi. Kultur di inkubasi pada suhu 37°C , agitasi 120 rpm selama 24 jam. Larutan antibiotika diperoleh dengan cara melakukan sentrifugasi pada

sampeldengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh merupakan larutan kasar antibiotika. Kemudian diuji potensi antibiotikanya (Haryanto, Singgih dan Kustaryono, 1999).

3.4.5.3 Efek Suhu Terhadap Produksi Antibiotika

Disiapkan medium produksi antibiotika dengan komposisi sama dengan pembuatan inokulum menggunakan pH optimum yang sudah didapatkan. Kultur di inkubasi pada suhu yang berbeda yaitu 31⁰C-37⁰C, agitasi 120 rpm selama 24 jam. Larutan antibiotika diperoleh dengan cara melakukan sentrifugasi pada sampeldengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh merupakan larutan kasar antibiotika. Kemudian diuji potensi antibiotikanya(Haryanto, Singgih dan Kustaryono, 1999).

3.4.6 Uji Antibiotika

Pengujian antibiotika dari masing-masing bakteri dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram. Kertas cakram dibuat dengan merekatkan 3 lapis kertas saring Whatman No. 42, lalu dilubangi dengan pelubang kertas sehingga didapatkan cakram berdiameter 6 mm. Lalu disterilisasi dengan autoklaf. Lalu disediakan medium NA.Selanjutnya masing-masing medium di dalam cawan petri dioleskan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.Kertas cakram dicelupkan kedalam larutan bakteri uji yang sudah diukur OD nya 0,4-0,6 yang sama dengan larutan max farland. Kertas cakram secara aseptis diletakkan diatas medium NA yang telah dioles dengan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*.Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C, selama 24 jam. Diameter hambatan yang terbentuk diukur dengan bantuan jangka sorong (Madigan, Martinko dan Parker, 2000).

3.5 Analisa Data

Data yang didapatkan dari penelitian disajikan dengan grafik dan Tabel, selanjutnya data yang didapatkan dianalisa secara deskriptif.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan tentang “pengaruh pH dan suhu terhadap produksi antibiotika dari isolat bakteri endofitik pada tumbuhan andalas (*Morus macrourea* Miq.)” didapatkan hasil sebagai berikut:

4.1 Efek pH Terhadap Produksi Antibiotika

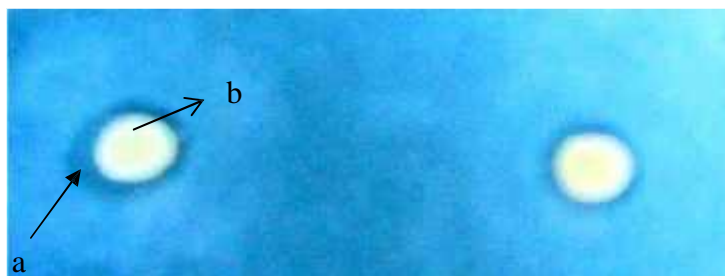
Efek pH terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 di sajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Efek pH terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 pada bakteri uji.



Isolat	pH	Zona hambat bakteri uji (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Bacillus</i> sp.1	6,5	0,75	0,75
	7,0	1,30	1,15
	7,5	0,75	0,75
<i>Bacillus</i> sp.2	6,5	0,75	0,75
	7,0	0,75	1,15
	7,5	0,75	0,75

Tabel 1 menunjukkan bahwa *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 dapat menghasilkan antibiotika dengan zona hambat dari 0,75-1,30 mm pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Zona hambat yang paling besar dihasilkan pada isolat *Bacillus* sp.1 dengan pH 7,0 bakteri uji *Staphylococcus aureus* (dapat dilihat pada Gambar 4).



Gambar 4. Koloni bakteri (a) dan Zona hambat (b) pada medium NA pH 7,0.

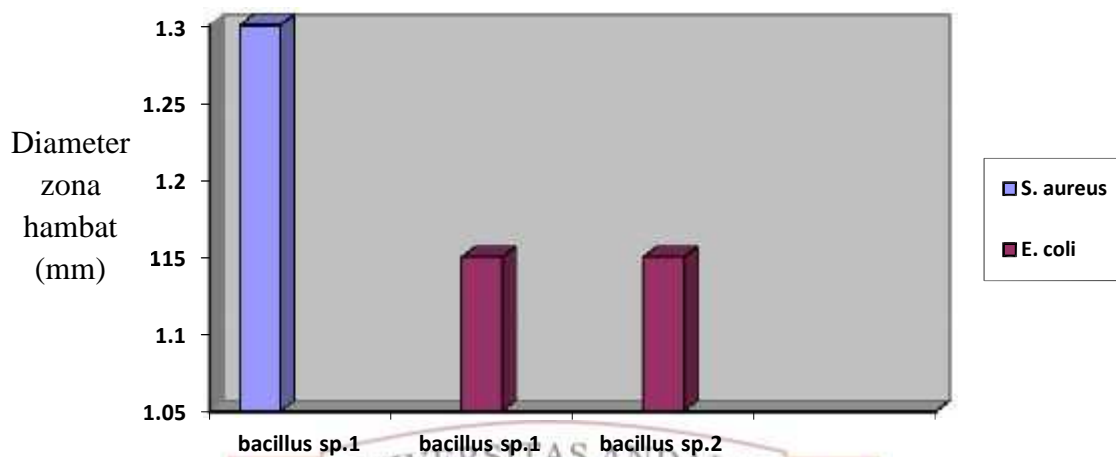
Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofitik isolat dari daun tumbuhan Andalas mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji, yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar koloni bakteri uji. Menurut Fajri (2014) bakteri endofitik MZS isolat Bakteri dari daun *Evodia suaveolens* yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar koloni bakteri uji yang berkisar 10,40 – 4,02 mm. Zona hambat yang terbentuk, pada masing-masing antibiotika yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofitik berbeda dan konsentrasi antibiotika yang dihasilkan juga dapat mempengaruhi zona hambat yang terbentuk. Sedangkan menurut Todar (2005), salah satu karakteristik *Bacillus* mampu menghasilkan antibiotika pada medium produksi dari kisaran pH asam sampai basa untuk kehidupannya.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa kedua jenis isolat *Bacillus* memiliki kemampuan untuk menghasilkan antibiotika yang mempunyai aktivitas terhadap kedua bakteri uji pada medium produksi dengan pH 6,5-7,5. Menurut Brooks (2001) pertumbuhan mikroba memerlukan faktor-faktor penunjang yang berbeda-beda tiap spesiesnya. Medium yang cocok untuk pertumbuhan harus mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba yang ditanam dan memenuhi faktor-faktor pertumbuhan yang terkontrol seperti pH, temperatur, dan aerasi. Sebagian besar mikroorganisme tumbuh dengan baik pada pH 6.0-8.0. sedangkan pada penelitian ini didapatkan pH yang optimum untuk pertumbuhan *Bacillus* adalah pH 7,0.

Adanya zona hambat yang terbentuk disekeliling bakteri menandakan adanya kemampuan isolat bakteri endofitik menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa antibiotika yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Antibiotika diproduksi melalui alur sintesis khusus yang digolongkan sebagai metabolisme sekunder yang dihasilkan dalam alur metabolisme dan enzim yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel, dimana zona hambat yang terbentuk akibat difusi senyawa antibiotika keluar dari cakram yang mengandung supernatan ke dalam agar pada media dan mengakibatkan terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri uji (Schlegel dan Schmidt, 1994).

Menurut Todar (2005), senyawa antibiotik yang dihasilkan *Bacillus* sp adalah basitrasin, pumulin, laterosporin, gramisidin, dan tirocidin yang efektif terhadap bakteri Gram positif serta kolistin dan polimiksin bersifat efektif terhadap bakteri Gram negatif.

Bacillus sp.1 yang ditumbuhkan pada medium produksi dengan pH 7,0, menghasilkan aktifitas antibiotika paling tinggi (zona hambat sebesar 1,30 mm) pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*, sedangkan bakteri uji *Escherichia coli* aktivitas antibiotika yang paling tinggi pada isolat *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 yang ditumbuhkan pada medium produksi pH 7,0 (zona hambat masing-masing sebesar 1,15 mm). Tingginya aktivitas antimikroba yang dihasilkan pada medium produksi antibiotika pada pH 7,0. Hal ini disebabkan mungkin bakteri tersebut optimum hidup pada pH 7,0 sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan juga optimal. Menurut Crueger dan Crueger (1984) produksi metabolit sekunder mikroorganisme pada umumnya dihasilkan pada keadaan pH medium yang optimal bagi mikroba tersebut, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Histogram diameter zona hambat antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2. pada pH 7,0.

4.2 Efek Suhu Terhadap Produksi Antibiotika

Efek suhu terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 pada pH 7,0 di sajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Efek suhu terhadap produksi antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 pada pH 7,0.

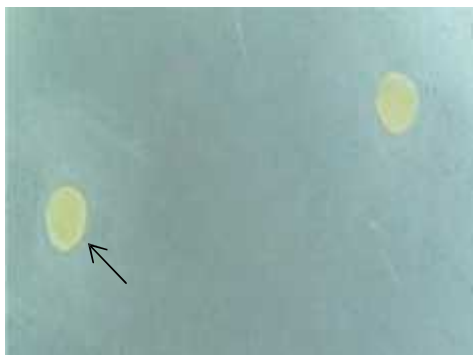
Isolat	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Zona hambat bakteri uji (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Bacillus</i> sp.1	31	-	-
	33	0,65	0,65
	35	0,75	0,75
	37	1,30	1,15

	31	-	-
<i>Bacillus sp.2</i>	33	0,75	0,75
	35	0,75	0,85
	37	0,75	1,15

Ket : - (tidak terbentuk zona hambat)

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa *Bacillus sp.1* dan *Bacillus sp. 2* yang tumbuh pada medium produksi, dapat menghasilkan antibiotika pada kisaran suhu 33⁰C-37⁰C. Pemberian suhu yang berbeda pada medium produksi bertujuan untuk mengetahui pada suhu berapakah yang paling optimum dalam menghasilkan antibiotik. Adapun suhu yang digunakan dalam penelitian ini adalah: suhu 31⁰C-37⁰C. Kedua *Bacillus* pada suhu 31⁰C tidak menghasilkan antibiotika. Menurut Purwakusumah (2010), perbedaan suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada media. Isolat bakteri endofitik ini tergolong pada kelompok bakteri mesofilik. Mikroorganisme mesofilik merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang hidup pada kisaran suhu 25° C sampai 40° C dan dengan kisaran suhu optimum 25 °C sampai 37° C (Black, 2005). Produksi antibiotika dipengaruhi oleh kondisi fermentasi seperti : pH awal medium, temperatur fermentasi, aerasi, pemilihan biakan, dan yang terpenting adalah komposisi nutrien dalam medium untuk pertumbuhan sel dan untuk produksi antibiotika.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada perlakuan suhu inkubasi 31⁰C, bakteri tumbuh akan tetapi tidak menghasilkan antibiotika, hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram, karena isolat tersebut tidak mempunyai aktivitas antibakteri pada suhu inkubasi 31⁰C, dapat dilihat pada (Gambar 6).

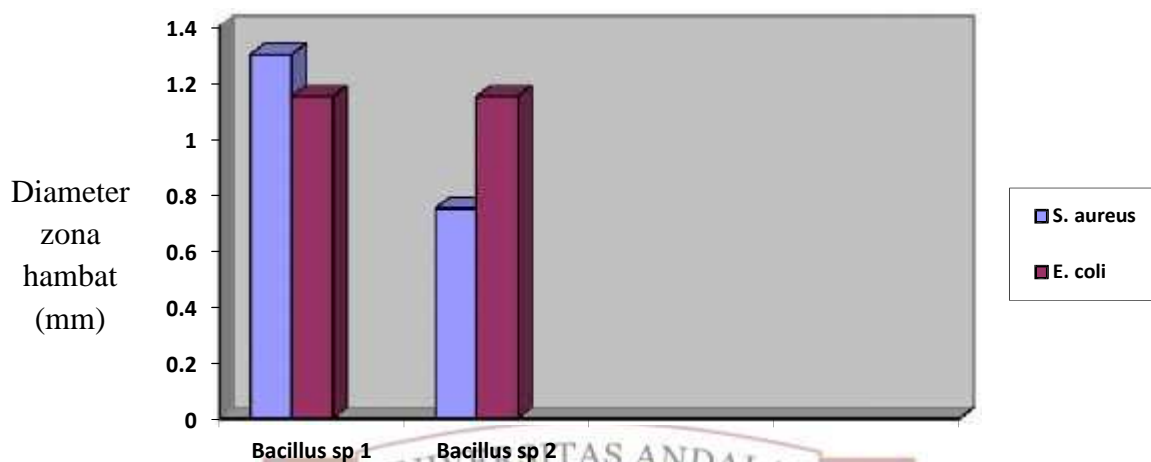


Gambar 6. Zona hambat yang tidak terbentuk (tanda panah) pada suhu 31⁰C.

Menurut Dharma, (1985) terhambatnya pertumbuhan bakteri terlihat dengan adanya diameter daerah bebas bakteri disekitar cakram. Besar diameter daerah bebas bakteri tergantung pada zat antimikroba yang ada. Terbentuknya zona hambat disekitar cakram merupakan penentu dari aktivitas bakteri, dimana zona hambat membuktikan bahwa senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri. Diameter zona hambat merupakan petunjuk kepekaan bakteri uji. Semakin besar zona hambat terhadap bakteri maka antibakteri tersebut mempunyai aktivitas yang semakin baik.

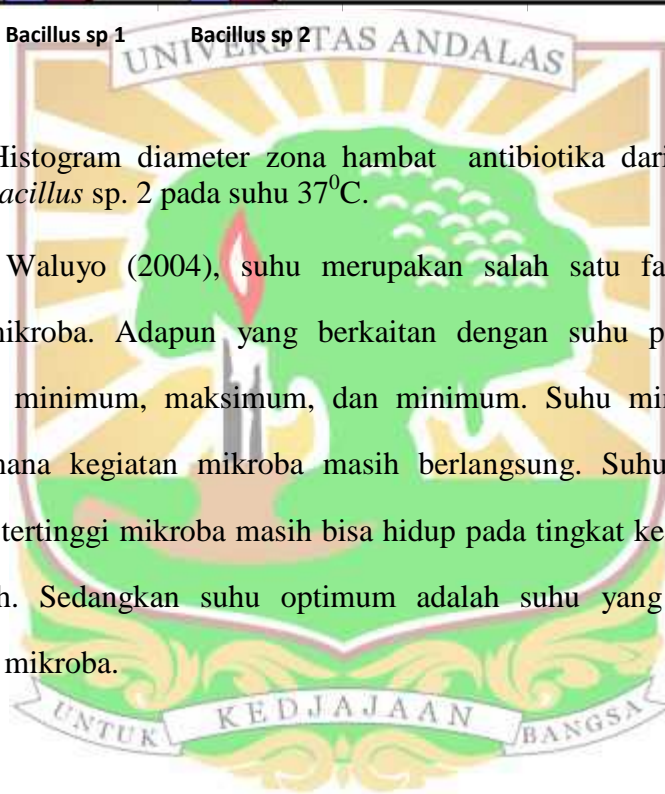
Ardiansyah (2005) menyatakan bahwa ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambat 5 mm atau kurang berarti lemah. Sedangkan dari hasil penelitian ini didapatkan ukuran zona hambat yang dihasilkan dari kedua isolat *Bacillus* yang paling besar berukuran 1,30 mm dan hal ini termasuk kedalam zona hambat yang lemah, akan tetapi isolat bakteri endofitik pada tumbuhan Andalas memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kedua jenis *Bacillus* memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotika paling tinggi yang mempunyai aktivitas terhadap kedua bakteri uji pada medium produksi dengan suhu 37⁰C (zona hambat 0,75-1,30 mm), untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Histogram diameter zona hambat antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp. 2 pada suhu 37°C.

Menurut Waluyo (2004), suhu merupakan salah satu faktor penting dalam kehidupan mikroba. Adapun yang berkaitan dengan suhu pertumbuhan dikenal dengan suhu minimum, maksimum, dan optimum. Suhu minimum adalah suhu terendah dimana kegiatan mikroba masih berlangsung. Suhu maksimum adalah dimana suhu tertinggi mikroba masih bisa hidup pada tingkat kegiatan fisiologi yang masih rendah. Sedangkan suhu optimum adalah suhu yang paling baik untuk pertumbuhan mikroba.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang “pengaruh pH dan suhu terhadap produksi antibiotika dari isolat bakteri endofitik pada tumbuhan andalas (*Morus macroura* Miq.)” maka dapat disimpulkan bahwa:

1. pH optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah pada pH 7,0
2. Suhu optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah pada suhu 37⁰C.

5.2 Saran

Adapun saran pada penelitian ini adalah diharapkan agar penelitian ini dapat dilanjutkan pada tahapan optimasi lainnya seperti efek karbon, nitrogen, C/N, dan “trace element”.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustien, A. 2000. *Penapisan Jamur Endofitik Penghasil Antibiotika dari Hutan Pendidikan dan Biologi Universitas Andalas*. Jurusan Biologi FMIPA Unand. Padang.
- Anwar, A., Renfiyeni, Jamsari. 2008. Metode Perkecambahan Benih Tanaman Andalas (*Morus macroura* Miq.) *Jerami Vol.I* (1): 1-5.
- Ardiansyah. 2005. *Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*, (Online), (<http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2005-05-31-Daun-Beluntas-Sebagai-Bahan-Antibakteri-dan-Antioksidan.shtml>). diakses 17 Juli 2007).
- Atlas, R.M. 1993. *Handbook of Microbiological Media*. CRS Press. Florida.
- Backman, P. A., Brannen, P. M., and Mahaffe, W., F. 1994. *Plant Respon and Disease Control Following Seed Inoculation with Bacillus sp.* Di dalam: Ryder MH, Stephen PM, Bowen GD, editor. *Improving Plant Production with Rhizosphere Bacteria*. Australia: Pruc Third Int Work PGPR South Australia.
- Baker, K. F., and Cook, R. J. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. San Fransisco: Freeman and Company.
- Black, J.M., and Hawks, J.H. 2005. *Medical Surgical Nursing*. New York. Elsevier.
- Brenner, D. J., N. R. Krieg and J. T. Staley, Bergey's. 2005. *Manual of systematic Bacteriology 2nd Edition*. Springer. Michigan.
- Brock, T.D, and K.M. Brock. 1978. *Basic Mikrobiology with Applications*. Second edition. Prentice-hall., Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Brooks, G. F. 2001. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 22th Ed. New York: Lange Medical Books.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., and Morse, S. A. 2008. "Jawetz et al, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology", 24. Th edition, McGraw-Hill Companies inc., USA. Pp 601-604.
- Cappucino, J.G. and Sherman, N. 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 2nd Edition. The Benjamin Cummings Publishing Company. Rockland Community College. State University of New York.

- Clay, K. 1988. *Fungal Endophytes of grasses: A defensive mutualism between plants and fungi*. Ecology, 69, (1), 10-16.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., and Barka, E. A. 2005. *Mini review: Use Of Plant Growth – Promoting Rhizobacteria for Biocontrol Of Plant Diseases: Principles, Mechanism Of Action and Future Prospect*. Appl Environ Microbiol. 71:4951-4959.
- Crueger, W. and A. Crueger. 1984. *Biotechnology A Text Book of Industrial Microbiology*. Translated by Caroline Haessly. Science Tech. Madison.
- Dahlan, S. 1994. *Mengenal Morus macroura Maskot Flora Sumatera Barat*. Jurnal Penelitian Andalas 15: 17-20.
- Desniwarni. 1996. *Studi Beberapa Aspek Ekologi dari Tumbuhan Andalas (Morus macroura Miq.) di Katiagan Paninjauan dan Batu Anjing Maninjau*. Skripsi Sarjana Biologi MIPA. Universitas Andalas. Padang.
- Dharma, A. P. 1985. *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*. Penerbit Balai Pustaka. Jakarta.
- Fajri, M.A. 2014. *Isolasi, karakterisasi dan potensi bakteri endofitik dari tanaman zodia (Evodia suaveolens Scheff) sebagai antibiotika*. Universitas Andalas. Padang.
- Fuad, A. M., R., Rahmawati, dan N. R., Mubarik. 2004. *Produksi dan karakterisasi parsial protease Alkali termos tabil Bacillus thermoglucosidasius Af-01*. Journal Mikrobiology Indonesia 9 (1), 29-35.
- Gusmailiana, 2014. *Andalas (Morus macroura Miq) ; Profil dan prospek sebagai tumbuhan obat dan kosmetika asal hutan*. Badan litbang kehutanan. Bagaor.
- Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek, Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia. Jakarta.
- Hakim, E.H. 2002. *Puluhan Zat Kimia Baru dari Tumbuhan*. [Http://www.chem-istry.netfirms.com/berita/berita_20_08_2002](http://www.chem-istry.netfirms.com/berita/berita_20_08_2002).
- Hakim, E.H., Achmad, S.A., Juliawaty, L.D., Makmur, L., Syah, Y.M., Aimi, N., Kitajima, M., Takayama, H., and Ghisalberti, E.L., (2006), *Prenylated Flavonoids and Related Compounds of the Indonesian Artocarpus (Moraceae)*, J Nat Med, 60, 161-184.
- Harni, R., Suparman., A. Munif., I., dan Mustika. 2006. *Pengaruh Metode Aplikasi Bakteri Endofit Terhadap Perkembangan Nematoda Peluka Akar (Pratylenchus brachyurus) Pada Tanaman Nilam*. Jurnal Litri 12(4). Hlm 161- 165.

- Haryanto, M. Singgih dan D. Kustaryono. 1999. *Pengaruh monosakarida dan penggunaan sumber karbon lokal pada pembentukan eritromisin pada fermentasi Streptomyces erythreus*. *Majalah Farmasi Indonesia* 10 (3): 149-155.
- Jasmansyah. 2002. *Kandungan Kimia Maskot Daerah Sumatera*. [Http://www.chemistry.net.firms.com/berita/berita 20 08 2002](http://www.chemistry.net.firms.com/berita/berita%2008%202002).
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran, Edisi XXII, 317*, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Jawetz.2011. *Mikrobiologi kedokteran*.Surabaya: Salemba Medical.
- Jawetz.2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Kasim, S., 1997. *Studi Pendahuluan Isolasi Mikroorganisme Penghasil Antibiotika dari Tiram (Crassostrea iredalei)*, Laporan Penelitian Jurusan Farmasi FMIPA Unhas.
- Kumala, S., Syarmalina., dan Handayani, A. R. 2006. *Isolasi mikroba endofit ranting tanaman Johar (Cassia siamea Lamk) serta uji aktivitas anti-mikroba substansi bioaktif mikroba endofit*. *J Ilmu Kefarmasian Indonesia* 4:15-24.
- Kumar, C. G. and H. Takagi. 1999. *Microbial Alkaline proteases from a bioindustrial viewpoint*. *Biotechnology advance* 17: 516-594.
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Terjemahan Maggy Thenawidjaja. Erlangga: Jakarta.
- Lynd, L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl, and I.S. Pretorius. 2002. *Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66 (3): 506-577.
- Madigan, M.T., J.M Martinko and J. Parker. 2000. *Biology of Microorganisms. 9th Ed. Prentice Hall International, Inc., New Jersey*.
- Malau, J. 2012. *Kemampuan Bakteri Kitinolitik dalam Menghambat Infeksi Aspergillus sp. pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus)*. Skripsi. Medan: Sumatera Utara.
- Marlina, L. 2012. *Karakterisasi Bakteri Endofitik Penghasil antibiotika Pada Daun Tanaman Surian (Toona Sureni (Blume.) Merr.)*. Skripsi Sarjana Biologi Universitas Andalas. Padang.
- Mawadza, C., R. Hatti-Kaul, R. Zvauya and B. Mattiasson. 2000. *Purification and characterization of cellulases produced by two Bacillus strains*. *J. Biotechnol.* 83: 177-187.

- Moeis, R.M., Ratnaningsih, E., Susanto, A.H., and Liang, O.B., (2000), A New *Bacillus* strain producing penicillin acylase, *Prosiding Seminar Kimia Bersama ITB-UKM Ke empat (The forth ITB-UKM Joint Seminar on Chemistry)*, di Yogyakarta, pp. 75-81.
- Nazir, M. 1998. *Metode Penelitian*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Neu, C., H. 1992. *The crisis in antibiotic resistance*. Science. 257:1064-1073.
- Nuracchmi, P. 2009. *Studies on bioprospecting of endophytic bacteria from the medicina plant of andrographis paniculata for their antimicrobial activity and antibiotic susceptibility pattern*. Int j of curr pharm. Res. 2 (4): 63-68. Occuring isolates of campylobacter jejuni and campylobacter coli. Antimicrobial Agents and chemoteraphy 32:1170-1173.
- Pelczar, M.J. dan E. C. S Chan. 1988. *Mikrobiologi*. UI Jakarta. Jakarta.
- Pemda Tingkat I Sumatera Barat, 1991. *Flora dan Fauna Identitas Propinsi Sumatera Barat*. Sumatera Barat.
- Petrini, O., T.N. Sieber, L. Toti and O. Viret. 1992. *Ecology Metabolite Production and Substrate Utilization in Endophytic Fungi*. Natural Toxins 1:185-196.
- Prescott, (2008). *Microbiology 7th edition*. USA: McGraw-Hill Book Company.
- Prihatiningtias, W. 2007. *Mikroba endofit sumber penghasil antibiotik yang potensial*. Fakultas farmasi UGM. Yogyakarta.
- Prosea. *Yayasan kehati*. Diakses Agustus 2016. <http://www.proseanet.org/prohati>.
- Purwakusumah, E.D. 2010. *Perbandingan Fermentasi Antibiotik Oleh Streptomyces sp. S-34 dan Dua Rekombinasinya Pada Beberapa Medium*. IPB Press.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. 3, 113-126.
- Rahayu, A. S. 2015. *Skrining bakteri endofitik berpotensi menghasilkan antibiotika dari tumbuhan Andalus (Morus macrourea)*, universitas Andalas. Padang.
- Rahayu, T. 2006. *Potensi antibiotik isolat bakteri Rizosfer terhadap bakteri Escherichia coli Multiresisten*. Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi. 7 (2) : 81-91.
- Rahmawati, E. 2009. Prevalensi stroke iskemik pada pasien rawat inap di RSUP Fatmawati. Jakarta Selatan.

- Schallmeyer, M., A. Singh and O. P. Ward. 2004. *Developments in the use of Bacillus species for industrial production*. Canadian Journal of Microbiology. Vol. 50.No. 1.Pp.1–17.
- Schlegel, H.G., dan Schmidt K. 1994. *Mikrobiologi Umum Edisi ke enam*. Alih Bahasa: Baskoro T. UGM Press: Yogyakarta.
- Soekamto, N. H., S. A. Achmad, E. L. Ghisalberti, N. Aimi, E. H. Hakim dan Y. M. Syah, (2003). *Beberapa Senyawa Fenol dari Tumbuhan Morus macroura* Miq., *JMS*, **8:1**, 35-40.
- Spicer, W.J. 2000. *Clinical Bacteriology, Mycology, and Parasitology: Aspergillus and Candida*. Edinburgh: Churchill Livingstone. pp. 62-3.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U., and Harper, J. *Natural products from endophytic microorganism*. *J nat prod*. 2004; (67): 257-68. Dalam: ryan RP, germaine K, frans A, Ryan DJ, DOWLING dn. Bacterial endophytes: recent developments and applications mini review. *FEMS microbiol Lett*. 2008; (278):1-9.
- Stuart, G.W., and Laraia, M.T. 2005. *Principles and Practice Of Psychiatry Nursing 7 Edition St. Louis*. Missouri: Mosby Year Book.
- Sudiana, I.M. 2002. *Characteristic of CMC-ase of Bacillus sp. Isolated From Gunung Halimun National Park*. *Berita Biologi* 6 (1): 131-136.
- Supartono, Ratnaningsih, E., Achmad, S., and Liang, O. B. 2008. *Characterization of Extracellular Penicillin G Acylase Produced by A New Local Strain of Bacillus subtilis BAC4*, *HAYATI J. Bios.*, 15, pp.71-76.
- Supramana, Supriadi dan R. Harni. 2007. *Seleksi dan karakterisasi bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda Pratylenchus brachyurus pada tanaman nilam*. Laporan Hasil Penelitian Institut Pertanian Bogor dengan Litbang Pertanian Proyek KKP3T. 28 hlm.
- Suwandi, U. 1992. *Mekanisme Kerja Antibiotik*. Pusat Penelitian dan Pengembangan. P.T. Kalbe Farma. Jakarta. *Cermin Dunia Kedokteran* 76: 10-11.
- Todar, K. 2005. *The Genus Bacillus*. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. University of Wisconsin-Medison. 6 Hal.
- Todar, K. 2008. *Pathogenic E.coli: todar's online textbook of bacteriology*. <http://www.textbookofbacteriology.net/ecoli.html> diakses 28 Agustus 2016.

- Tscherter, H., and Dreyfuss. 1992. *New Metabolites, Processes for Their Production and Uses. International Application Published Under The Patent Cooperation Treaty (PCT)*. International Publication.38 : 28-45.
- Udin, L.Z., T., A., Budiwati dan A., T., Karossi. 1991. *Pemanfaatan sukrosa sebagai sumber karbon Streptomyces rimosus pada produksi oksitetrasiklina. Jurnal TeknologiIndonesia*. 14 (2).
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Penerbit Universitas Muhamadiyah Press, Malang.
- Warsa, U.C. 1994. *Staphylococcus* dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara. hal. 103-110.
- Widyasti, E. 2003. *Isolasi Bacillus spp. Penghasil -Amilase Ekstraseluler dan Penentuan Suhu Serta pH Optimum Pertumbuhan*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Widyastuti, Yustina E., dan Paimin F. B. 1993. *Mengenal Buah Unggul Indonesia*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Zinniel, D.K.,P. Lambrecht, H.N. Beth, Z. Feng, D. Kuezmarski, P. Higley, C.A. Ishimaru, A. Arunakumari, R.G. Barletta, and A.K. Vidaver. 2002. *Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants*. *Application environmental microbiology* 68(5):2198-2208.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Medium Nutrien Agar (NA)

Komposisi Medium NA (Nutrien Agar):

Beef extract 3 g

Pepton 5 g

Agar 15 g

Air suling 1000 ml

pH: 7,4

Komposisi Medium Produksi

Kompisisi Medium Produksi:

Air rendaman jagung 30 ml

Sukrosa 30 g

CaCO₃ 5 g

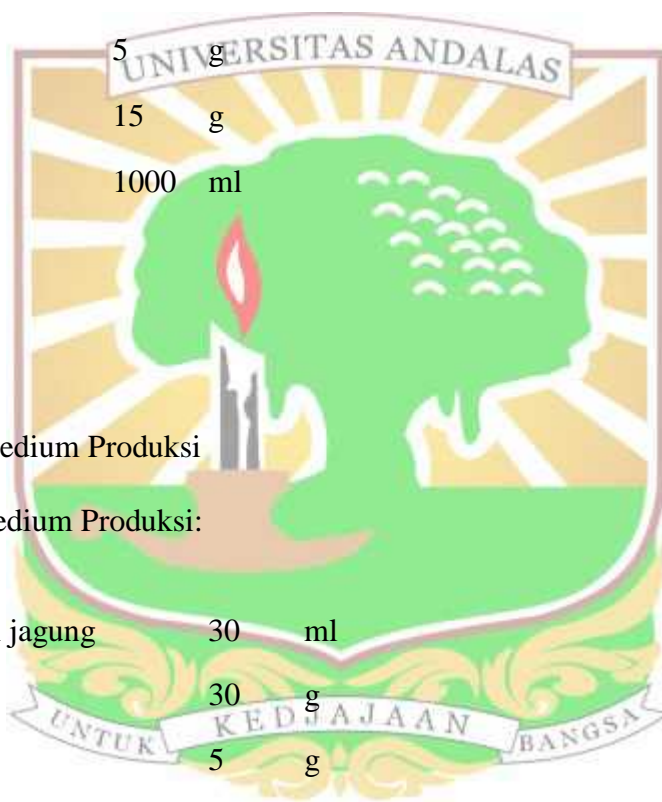
FeSO₄ 1 g

MgCl₂ 2 g

ZnSO₄ 0,1 g

Air suling 1000 ml

pH: 7,0



(Rahayu, 2006 ; Udin *et al.*, 1991).

Lampiran 2. Biakan Miring Isolat *Bacillus* spp

Gambar 8. Biakan miring isolat bakteri *Bacillus* spp dari tumbuhan Andalas; a). *Bacillus* sp.1, b). *Bacillus* sp.2.

BIODATA



Nama Lengkap : Riski Budi Yani
Tempat / Tanggal lahir : Padang Karambie, 04 Maret 1993
Jenis kelamin : Perempuan
Agama : Islam
Status : Belum Kawin
Alamat : Sungai limau, Kabupaten Padang Pariaman
Telepon : 082388610390
Email : riskibudiyani1014@gmail.com
Nama Orang Tua
- Ayah : Zainal (Alm)
- Ibu : Asni (Alm)

Latar Belakang Pendidikan

- SD N 01 PETUKANGAN ULUJAMI JAKARTA SELATAN (1998-2004)
- SMP N 1 SUNGAI LIMAU (2004-2007)
- SMA N 1 SUNGAI LIMAU (2007-2010)
- S1 Biologi Universitas Andalas

