

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROORGANISME TANAH
PENGHASIL ANTIBIOTIKA ASAL KECAMATAN SUPPA
KABUPATEN PINRANG**



**OLEH
HASNAWATI
H511 96 023**

PERPUSTAKAAN FARMASI HASANUDDIN	
Tgl. Terima	30-10-02
Asal Dari	Fak. MIPA
Banyaknya	1 ekz.
Harga	Gratis
No. Inventaris	021030. 168
No. Klas	



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2001**

SKRIPSI

OLEH
HASNAWATI
H511 96 023



JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2001

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROORGANISME TANAH
PENGHASIL ANTIBIOTIKA ASAL KECAMATAN SUPPA
KABUPATEN PINRANG**

**OLEH
HASNAWATI
H511 96 023**

*Skripsi untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat untuk
mencapai gelar sarjana*

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2001**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROORGANISME TANAH
PENGHASIL ANTIBIOTIKA ASAL KECAMATAN SUPPA
KABUPATEN PINRANG**

**Disetujui oleh
Pembimbing utama**



Drs. M. Natsir Djide, M.S

Pembimbing pertama



Prof. DR. H. Tadjuddin Naid, M.Sc

Pembimbing kedua



Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan berkat, rahmat, dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sampai penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, petunjuk dan bantuan baik moril maupun materil dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini perkenankanlah penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Drs. M. Natsir. Djide, M.S. selaku pembimbing utama, Bapak Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, M.Sc. selaku pembimbing pertama dan Bapak Drs. Saharuddin Kasim, M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini, juga kepada Bapak Drs. J. M. V. Sudarso selaku penasehat akademik selama penulis menjalani pendidikan di Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.

Tidak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada seluruh civitas akademika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, khususnya Jurusan Farmasi atas bantuannya selama penulis menjalani pendidikan di Universitas Hasanuddin. Ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis haturkan kepada Ibunda Munira atas ketulusannya, nasehat, do'a, dan kasih sayangnya, kepada Kak Muli sekeluarga yang selalu memberikan bantuan dan motivasi, kepada rekan-rekan mahasiswa Farmasi khususnya angkatan '96, kepada Lina, Ughi, Irna, Uni, Ema, Anti dan Didhin yang telah ikhlas menjadi sahabat yang setia, juga kepada

rekan-rekan di KMP UNHAS. Kepada Kakanda Mursalim S.Si., Rusli S.Si, Apt, Arsyik Ibrahim S.Si, Apt, kepada Ardi, Alwi, dan Eka serta kak Lia dan Veby yang telah membantu penulis hingga dapat menyelesaikan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi.

Akhirnya dengan segala keterbatasan dan kekurangannya, skripsi ini penulis persembahkan kepada almamater Universitas Haanuddin, khususnya Jurusan Farmasi dengan harapan semoga dapat memberikan manfaat, Amin.

Makassar, Juni 2001

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang “isolasi dan identifikasi mikroorganisme tanah penghasil antibiotika asal Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang “, dengan tujuan untuk menentukan kemampuan mikroorganisme tanah tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji dan mengidentifikasi mikroorganisme tanah tersebut.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu isolasi mikroorganisme tanah dari daerah pesisir pantai, dataran rendah dan dataran tinggi serta pengujian aktifitas antibiotika, dan identifikasi mikroorganisme yang mampu menghasilkan antibiotika. Metode yang digunakan untuk isolasi mikroorganisme tanah adalah metode goresan dan untuk pengujian aktifitas antibiotika digunakan metode difusi agar dalam medium PDA dan GNA menggunakan pencadang silinder. Pada proses isolasi didapatkan lima jenis mikroorganisme tanah yang kemudian difermentasi dan hasil fermentasi disentrifus untuk memisahkan supernatan dan residu, supernatan dan residu ini lalu diuji aktifitasnya terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa baik supernatan maupun residu dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji, dan hambatan terbesar ditunjukkan oleh residu biakan nomor 1 yang diperoleh dari tanah pada daerah pesisir pantai terhadap *Candida albicans* (27,70 mm) sehingga untuk penentuan nilai MIC (Minimal Inhibitory Concentration) dipilih residu biakan nomor 1 dan diperoleh konsentrasi terendah adalah 0,01 µg /ml. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa biakan nomor 1 tersebut termasuk marga *Streptomyces*.



ABSTRACT

The investigation about "Isolation and Identification of Soil Microorganism That Produce Antibiotics from Suppa Region, Pinrang" has been done with the purpose was to determine the ability of soil microorganism in inhibit the growth of microorganism test and to identificate that soil microorganism.

This investigation was devided into two step which was first include isolation of soil microorganism from the beach, low and high land and determination of activity of antibiotics and identification of microorganism that could produce antibiotic. The method that we used to isolation microorganism were streak method and to determinated the antibiotic activity were used agar difution method in PDA and GNA medium that use plate silinder. At isolation process, were get five microorganism then it were fermentated and the result of fermentation were sentrifuge to separate supernatan and residu, the supernatan and residu then were tested the activity to *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. The result investigation showed that both supernatan and residu could inhibit the growth of microorganism test, and the biggest inhibition was showed by residu number 1 that were get from soil of beach to *Candida albicans* ($27,70$ mm) so to determinate the MIC (Minimal Inhibitory Concentration) were choosed the residu number 1 and were get the lowest concentration is $0,01$ $\mu\text{g/ml}$. The result of identification showed that microorganism number 1 included in *Streptomyces* genus.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. POLA PENELITIAN	3
BAB III. TINJAUAN PUSTAKA	6
III.1 Uraian Sampel	6
III.2 Uraian Umum Antibiotika	8
III.3 Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Tanah	10
III.4 Pengujian Secara Mikrobiologis	11
III.5 Uraian Mikroorganisme uji yang Digunakan	13
BAB IV. PELAKSANAAN PENELITIAN	17
IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan	17
IV.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel	19

IV.3 Penyiapan Mikroorganisme Uji	21
IV.4 Pemeriksaan Aktifitas Antibiotika	21
IV.5 Pengumpulan Data	22
IV.6 Identifikasi Mikroorganisme	22
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
V.1 Hasil Penelitian	25
V.2 Pembahasan	26
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	31
VI.1 Kesimpulan	31
VI.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Hasil Isolasi Mikroorganisme dari Tanah	35
2.	Hasil Pengukuran Daya Hambat Antibiotika Dari Residu Hasil Fermentasi Mikroorganisme Tanah Terhadap Mikroorganisme Uji	36
3.	Hasil Pengukuran Daya Hambat Antibiotika Dari Supernatan Hasil Fermentasi Mikroorganisme Tanah terhadap Mikroorganisme Uji	37
4.	Hasil Pengukuran Daya Hambat Antibiotika dari Residu Biakan Nomor 1 dalam beberapa Konsentrasi terhadap <i>Candida albicans</i>	38
5.	Hasil Identifikasi Biakan Nomor 1	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Supernatan dan Residu Fermentasi Mikroorganisme Tanah terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	40
2.	Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Supernatan dan Residu Hasil Fermentasi Mikroorganisme Tanah Terhadap Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i>	41
3.	Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Residu Hasil Fermentasi Mikroorganisme Tanah Terhadap Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>	42
4.	Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Residu Biakan Nomor 1 Terhadap <i>Candida albicans</i>	43
5.	Foto Mikroskopik Biakan Nomor 1 Yang Diperoleh Dari Tanah Pada Pesisir Pantai	44
6.	Peta Lokasi Pengambilan Sampel Tanah Di Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Skema Kerja	46
2.	Komposisi Medium	47

BAB I

PENDAHULUAN

Mikroorganisme tersebar secara luas di alam ini, mikroorganisme ditemukan hampir di semua tempat seperti selokan, air, tanah, udara, makanan, sampah, pupuk, tubuh manusia serta di saluran pencernaan manusia dan hewan. Jenis dan variasi mikroorganisme tersebut pada suatu tempat berbeda antara yang satu dengan yang lain, tergantung pada kondisi lingkungan. Untuk mempertahankan hidupnya mikroorganisme dapat membuat pertahanan sendiri dengan berbagai cara, salah satunya dengan menghasilkan produk metabolit sekunder. Produk metabolit sekunder tersebut dapat berupa bahan-bahan toksik yang dapat mempengaruhi metabolisme mikroorganisme lain sehingga mikroorganisme lain itu tidak dapat tumbuh dan berkembang biak. Bahan-bahan toksik yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut disebut sebagai antibiotika.(1).

Mayoritas mikroorganisme yang menghasilkan antibiotika adalah yang terdapat pada tanah. Mikroorganisme yang menghasilkan antibiotika pada lingkungan alam hanya dapat melakukan produksi antibiotika bila tanah di lingkungan yang ditempati itu cukup suplai makanan. Mikroorganisme yang dapat menghasilkan antibiotika mempunyai kebutuhan yang berbeda dan kondisi tanah yang menyenangkan untuk satu jenis organisme mungkin tidak sesuai untuk organisme lain (1).



Jenis-jenis mikroorganisme yang terdapat pada tanah tergantung pada tipe tanah, keasaman dan kebasaan, kedalaman, kelembaban dan faktor-faktor lain. Mikroorganisme tanah sebagian besar ditemukan pada lapisan permukaan tanah dan jumlahnya menurun pada lapisan yang dalam, seiring dengan berkurangnya oksigen dan bahan-bahan makanan (2).

Pola penyakit di Indonesia menunjukkan bahwa penyakit infeksi masih menempati urutan teratas sehingga kebutuhan akan obat antimikroorganisme cukup besar. Telah diketahui bahwa bahan baku obat yang mengandung antimikroorganisme ini belum diproduksi di Indonesia dalam bidang fermentasi sehingga sudah waktunya untuk mulai dikembangkan (3).

Berdasarkan uraian tersebut diatas maka telah dilakukan penelitian dengan maksud dan tujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi serta menentukan kemampuan mikroorganisme tanah dari tiga tempat yang ketinggiannya berbeda di Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan Alat dan Bahan

II.1.1 Alat dan bahan yang disiapkan adalah yang sesuai dengan kebutuhan penelitian.

II.1.2 Sterilisasi Alat-alat.

Alat-alat yang akan digunakan disterilkan dengan metode masing-masing sesuai petunjuk buku-buku resmi.

II.1.3 Pembuatan Medium.

Medium dibuat sesuai dengan prosedur pembuatannya.

II.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

II.2.1 Pengambilan Sampel.

Sampel tanah diambil dari beberapa tempat pada kedalaman 5-10 cm dari permukaan tanah.

II.2.2 Pembuatan Suspensi Sampel.

Suspensi sampel dibuat dengan mengencerkan sampel menggunakan air suling steril.

II.2.3 Pemiakan Mikroorganisme dari Tanah.

Setiap pengenceran yang telah dibuat diinokulasikan dalam media agar bersama dengan mikroorganisme lalu diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

II.2.4 Seleksi dan Isolasi Biakan.

Koloni yang memperlihatkan daerah hambatan di sekitarnya lalu diseleksi dan diisolasi hingga diperoleh biakan murni.

II.2.5 Fermentasi Biakan Murni.

Biakan murni yang telah diperoleh lalu difermentasikan dalam medium cair.

II.3 Penyiapan Mikroorganisme Uji

II.3.1 Peremajaan Mikroorganisme Uji.

Mikroorganisme uji yang tersedia di laboratorium diremajakan selama 1 x 24 jam.

II.3.2 Pembuatan Suspensi Mikroorganisme Uji.

Mikroorganisme uji yang telah diremajakan dibuat suspensi menggunakan larutan NaCl fisiologis steril.

II.4 Pemeriksaan Aktifitas Antibiotika

Hasil fermentasi biakan murni dibuat beberapa konsentrasi lalu diuji aktifitasnya dengan mengamati daerah hambatan setelah diinokulasikan mikroorganisme uji.

II.5 Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dengan mengukur diameter daerah hambatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji setelah diinkubasi selama 1 x 24 jam.

II.6 Identifikasi Mikroorganisme

Mikroorganisme penghasil antibiotika yang telah diisolasi selanjutnya diidentifikasi.

II.7 Pembahasan Hasil

Hasil yang diperoleh kemudian dibahas dan dibandingkan dengan literatur

II.8 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan pembahasan hasil.

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Uraian Sampel

III.1.1 Uraian Umum Tanah (2,4,11,12,13)

Tanah merupakan penutup terluar bumi yang terdiri dari lapisan-lapisan bahan yang tersusun longgar berupa bahan organik dan anorganik yang berbeda-beda. Tanah terdiri dari empat komponen utama yaitu mineral, air, udara dan bahan-bahan organik. Bahan-bahan mineral terdiri dari batuan dan mineral primer, lapukan batuan dan mineral sekunder. Bahan organik terdiri atas sisa dan rombakan jaringan makhluk hidup terutama tumbuhan, zat humus dan jasad hidup penghuni tanah termasuk akar tumbuhan hidup. Jumlah masing-masing bahan tidak sama pada semua jenis tanah tetapi berbeda-beda di setiap tempat.

Tanah diklasifikasikan berdasarkan sifat fisika dan ukuran partikelnya dari yang berukuran makroskopik pada tanah berkerikil dan berpasir sampai yang berukuran mikroskopik pada tanah liat. Ada juga yang berukuran sangat halus yang lebih kecil dari 0,02 mm yang terdapat pada lumpur. Di dalam tanah terdapat air yang menyatu

dengan tanah, melekat pada partikel tanah, atau berada di sela-sela partikel tanah.

Elemen-elemen yang ada di dalam tanah dapat berbentuk ion-ion dan ion-ion tersebut mempengaruhi keasaman atau kebasaan tanah. Penyinaran (radiasi) dari matahari juga berpengaruh besar terhadap kehidupan makhluk hidup di dalam tanah.

III.1.2 Uraian Mikroorganisme Tanah (2,4,13,14)

Tanah adalah ekosistem dinamis tempat mikroorganisme menjalin komponen fisika dan biologi. Secara umum tanah mengandung lima kelompok mikroorganisme yaitu bakteri, aktinomyces, fungi, algae, dan protozoa. Besarnya populasi dan ciri-ciri spesifik mikroorganisme tersebut tergantung pada tipe tanah dan faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban, dan tersedianya nutrisi makanan. Komponen-komponen anorganik maupun organik merupakan substrat atau medium yang baik bagi kehidupan mikroorganisme.

Pada umumnya mikroorganisme-mikroorganisme lebih banyak terdapat di permukaan tanah. Makin ke dalam maka populasi semakin berkurang. Salah satu golongan mikroorganisme yang khas sebagai penghuni tanah dan memberi bau tanah adalah dari kelas aktinomyces genus streptomyces. Rao dan Subrahmanyam pada tahun 1929 telah meneliti distribusi aktinomyces dalam berbagai jenis tanah dan

menemukan bahwa aktinomycetes paling banyak dalam tanah kernozen hitam dan berturut-turut menurun pada tanah yang mengandung tanaman membusuk, tanah aluvial dan tanah laterit serta tanah merah memiliki aktinomycetes yang paling sedikit.

III.2 Uraian Umum Antibiotika (2,4,9,10,15,16,17)

Antibiotika berasal dari kata anti dan biosis (hidup). Menurut Vuillemin (1889), "antibiot" adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme hidup untuk memusnahkan mikroorganisme lain sebagai upaya memperjuangkan kelangsungan hidupnya sendiri. Demikian pula Waksman (1943) mendefinisikan antibiotika sebagai zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan mikroorganisme lain. Sedangkan menurut Benedict dan Langlykke antibiotika adalah suatu senyawa kimia yang diturunkan dari atau diproduksi oleh mikroorganisme hidup yang dalam kadar kecil mampu menghambat proses hidup mikroorganisme lain. Pada tahun 1957 Turpin dan Velue memberikan batasan untuk antibiotika sebagai semua senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup atau yang diperoleh melalui sintesis, yang memiliki indeks kemoterapi yang tinggi, aktifitasnya terjadi pada dosis yang sangat rendah dan bekerja secara spesifik melalui inhibisi proses vital pada mikroorganisme. Suatu senyawa dapat digolongkan sebagai suatu antibiotika bila :



2. Suatu produk sintesis dengan struktur yang sama dengan antibiotika yang terdapat di alam.
3. Mampu menghambat pertumbuhan dan/atau kelangsungan hidup satu atau lebih jenis mikroorganisme.
4. Efektif pada kadar rendah.

Antibiotika dapat dibedakan berdasarkan spektrum kerjanya. Antibiotika yang efektif terhadap beberapa jenis mikroorganisme baik bentuk basil, kokus maupun spiral disebut antibiotika spektrum luas. Sebaliknya antibiotika yang hanya efektif untuk spesies tertentu disebut antibiotika spektrum sempit. Antibiotika berdasarkan mekanisme kerjanya dapat dibagi dalam lima kelompok yaitu:

1. Mengganggu metabolisme sel mikroorganisme
2. Menghambat sintesis dinding sel mikroorganisme
3. Mengganggu permeabilitas membran sel mikroorganisme
4. Menghambat sintesis protein sel mikroorganisme
5. Menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroorganisme

Kebanyakan antibiotika dihasilkan oleh kelompok mikroorganisme dari genus streptomyces. Streptomyces dapat diisolasi dengan mudah dari tanah, di mana tanah yang berbeda akan menghasilkan spesies yang berbeda yang juga akan menghasilkan antibiotika yang berbeda pula. Streptomyces yang menghasilkan antibiotika umumnya memerlukan oksigen untuk

pertumbuhannya (aerobik). Suhu pertumbuhan berkisar antara 23 °C sampai 37 °C (mesofilik), tetapi ada beberapa streptomyces yang tumbuh pada suhu kurang dari 20 °C, di samping itu ada kelompok termofilik yang tumbuh di atas suhu 50 °C.

III.3 Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Tanah (23)

III.3.1 Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah dikumpulkan dari kedalaman 15 cm dan dipindahkan ke tempat yang bersih. Tiga sampai lima sampel diambil untuk setiap ulangan dan dicampur hingga rata. Dari campuran sampel, paling sedikit 10-25 g tanah diambil sebagai sampel representatif untuk ulangan tertentu.

III.3.2 Identifikasi Mikroorganisme

Langkah pertama untuk mengidentifikasi mikroorganisme adalah dengan mengumpulkan informasi yang berkaitan dengan sifat-sifat morfologi, kultural, dan fisiologi (biokimiawi). Identifikasi kultural meliputi pengecatan Gram, pengukuran sel, motilitas, pengecatan spora, dan pengecatan tahan asam. Identifikasi kultural meliputi sifat-sifat koloni (bentuk, warna, kepekatan ukuran, keadaan permukaan dan tepi koloni) uji pH dan suhu pertumbuhan. Identifikasi fisiologi meliputi uji merah metil, uji Voges-Prokauer, uji katalase,

uji oksidase, uji nitrat, uji hidrolisis, dan uji-uji lain (reaksi H₂S, uji sitrat, dan reaksi susu litmus).

III.4 Pengujian Secara Mikrobiologis (21)

III.4.1 Metode Pengenceran

Metode ini menggunakan teknik tabung pengenceran, penghambatan pertumbuhan (berkurangnya kekeruhan) yang dihasilkan oleh sampel yang diuji terhadap pertumbuhan mikroorganisme dapat diukur dengan alat fotokolorimeter. Prinsip kerjanya yaitu cahaya yang mengenai sel-sel mikroorganisme di dalam sampel akan dihamburkan, sedangkan cahaya yang diteruskan setelah melewati suspensi mikroorganisme akan mengaktifasi foto tabung yang akan mencatat persen transmittan (%T). Makin sedikit jumlah sel di dalam suspensi maka makin besar intensitas cahaya yang lolos dan semakin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

III.4.2 Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh media. Pada metode ini kemampuan zat antibiotika ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara ini adalah :

a. Metode Difusi dengan "Plate Silinder"

Cara ini berdasarkan perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Pada cara ini digunakan plate silinder yang diletakkan pada media kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalam plate silinder tersebut.

b. Metode Difusi dengan "Cup Plate"

Cara ini pada prinsipnya sama dengan metode difusi menggunakan plate silinder, perbedaannya adalah yang digunakan adalah mangkuk yang dibuat langsung pada media agarnya.

c. Metode Difusi dengan Kertas Saring

Cara ini sebenarnya sama dengan kedua metode di atas, perbedaannya adalah menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7 - 1,0 cm yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan larutan pembanding.

d. Metode Difusi Kirby-Bauer

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan difusi kertas saring, perbedaannya adalah menggunakan alat untuk meletakkan kertas

saring ke dalam cawan petri sehingga langsung diuji dengan berbagai variasi konsentrasi dari larutan contoh.

e. Metode Agar Berlapis

Cara ini merupakan modifikasi dari cara Kirby-Bauer, perbedaannya adalah menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama “base layer” tidak mengandung mikroorganisme uji sedangkan lapisan kedua “seed layer” mengandung mikroorganisme uji yang dicampurkan pada media agar.

III.5 Uraian Mikroorganisme Uji yang Digunakan (20)

III.5.1 *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi

Divisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Bangsa : Eubacteriales
 Suku : Micrococcaceae
 Marga : Staphylococcus
 Jenis : *Staphylococcus aureus*

b. Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat, bergaris tengah 0,5 - 1,5 mikrometer, terdapat bergerombol seperti buah anggur, satu-satu atau berpasangan, tidak bergerak, tidak



tahan asam, di atas perbenihan padat berupa koloni bulat dengan diameter 1 - 2 mm, sedikit cembung dan amorf serta tidak transparan. Biasanya terdapat di atas permukaan kulit, saluran pernapasan bagian atas, saluran kencing, mulut, hidung, infeksi luka, radang paru dan selaput lendir lainnya. Dapat tumbuh pada suhu 10 - 45 °C, suhu pertumbuhan optimum 37 °C pada pH 7,0 -7,5.

III.5.2 *Escherichia coli*

a. Klasifikasi

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Bangsa : Eubacteriales
Suku : Enterobacteriaceae
Marga : *Escherichia*
Jenis : *Escherichia coli*

b. Sifat dan Morfologi

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek dan lurus, bergerak dengan flagel peritrik atau tidak bergerak. Mudah tumbuh pada perbenihan sederhana. Umumnya meragikan laktosa dengan membentuk asam dan gas, ada pula yang tidak meragikan atau lambat meragikan laktosa. Suhu pertumbuhan optimum 37 °C.

III.5.3 *Candida albicans*

a. Klasifikasi

Divisi	: Fungi
Kelas	: Fungi imperfecti
Bangsa	: Moniliales
Suku	: Moniliaceae
Marga	: <i>Candida</i>
Jenis	: <i>Candida albicans</i>

b. Sifat dan Morfologi

Candida albicans merupakan khamir yang berbentuk lonjong, berukuran 3 - 6 mikrometer, bertunas dan menghasilkan pseudomiselium baik dalam biakan maupun dalam jaringan. *Candida* adalah anggota flora normal selaput lendir, saluran pencernaan, saluran pernapasan dan genitalia wanita. Pada sediaan mikroskopik tampak sebagai ragi lonjong, bertunas yang memanjang menyerupai hifa. Pada medium agar yang diinkubasi pada suhu kamar berbentuk koloni lunak berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. *Candida albicans* dapat meragikan glukosa dan maltosa menghasilkan gas, menghasilkan asam dari sukrosa dan tidak bereaksi dengan laktosa. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans* adalah kandidiasis.

BAB IV

PELAKSANAAN PENELITIAN

IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan.

1. Botol pengencer
2. Corong
3. Cawan petri
4. Erlenmeyer
5. Gelas kimia
6. Gelas ukur
7. Inkubator (Memmert)
8. Lampu Spiritus
9. Lemari Laminar Air Flow (Enviro)
10. Mikroskop (Nikon)
11. Otoklaf (Portable)
12. Oven (Electrolux)
13. Ose
14. Pencadang
15. Pinset
16. Spoit
17. Sentrifus

19. Spektrofotometer
20. Shaker
21. Tabung reaksi
22. Timbangan

IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan.

1. Air suling
2. Alkohol 70%
3. Asam Klorida 1 N
4. Biakan murni *Escherichia coli*
5. Biakan murni *Candida albicans*
6. Biakan murni *Staphylococcus aureus*
7. Hidrogen peroksida 3 % (Merck)
8. Kristal violet
9. Larutan garam fisiologis
10. Larutan Iodium
11. Medium Nutrien Agar (Difco)
12. Medium Potato Dextrosa Agar (Merck)
13. Medium Glukosa Nutrien Agar (Difco)
14. Medium Produksi
15. Medium Maltose Yeast Ekstrak Broth (Merck)
16. Medium Glukosa Yeast Ekstrak Agar (Difco)

17. Medium Simmon Citrate Agar (Difco)
18. Medium Metil Red - Vogel Preskaver (Difco)
19. Natrium Hidroksida 1 N

IV.1.3 Sterilisasi Alat (8, 9, 21)

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan detergen lalu dibilas dengan air suling, kemudian alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan menggunakan lampu spiritus. Alat-alat plastik disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

IV.1.4 Pembuatan Media (7)

Bahan-bahan yang disiapkan untuk pembuatan medium Nutrien Agar Potato Dextrosa Agar, Glukosa Nutrien Agar, Medium Produksi, Maltose Yeast Ekstrak Broth, Glukosa Yeast Ekstrak Agar, Simmon Citrate Agar, Metil Red - Vogel Preskaver, Triple Sugar Iron Agar. ditimbang sesuai dengan komposisi medium yang akan dibuat, lalu dilarutkan dalam air suling steril dan dipanaskan serta disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

IV.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

IV.2.1. Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil di tiga tempat dengan ketinggian yang berbeda yaitu daerah pesisir pantai, dataran rendah dan dataran tinggi pada wilayah Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang dengan menggunakan sendok stainless steel yang telah disemprot dengan alkohol 70% pada kedalaman 5-10 cm dari permukaan tanah. Sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik yang juga telah disemprot dengan alkohol 70%, kemudian dimasukkan ke dalam termos es. Sampel dibawa ke laboratorium dan disimpan dalam lemari pendingin.

IV.2.2 Pembuatan Suspensi Sampel

Sampel tanah ditimbang seberat 1 gram lalu dimasukkan ke dalam botol pengencer dan dicukupkan dengan air suling steril hingga 10 ml (pengenceran 10^{-1}). Suspensi sampel dari pengenceran 10^{-1} kemudian dibuat pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} sampai pengenceran 10^{-4} .

IV.2.3 Pemiakan Mikroorganisme Tanah

Suspensi sampel dari semua pengenceran lalu diinokulasikan ke dalam media agar yaitu medium NA dan PDA yang sebelumnya telah diinokulasikan dengan mikroorganisme uji, sampel dalam cawan petri dihomogenkan dengan cara memutar cawan 8 kali ke kanan dan 8 kali ke kiri. Kemudian cawan diinkubasi pada suhu 37°C

untuk medium NA dan pada suhu kamar untuk medium PDA selama 2-5 hari dengan posisi terbalik.

IV.2.4 Seleksi dan Isolasi Biakan

Setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh yang memperlihatkan adanya hambatan berupa daerah bening di sekelilingnya. Koloni ini selanjutnya diisolasi dan dipindahkan pada medium yang sama. Isolasi dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh biakan murni yang hanya terdiri dari satu macam koloni. Biakan murni tersebut lalu dipindahkan pada agar miring sebagai stok.

IV.2.5 Fermentasi Biakan Murni

Koloni biakan murni diambil satu ose, diinokulasikan dalam medium NA miring lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 x 24 jam, kemudian disuspensikan dengan 2,5 ml larutan NaCl fisiologis dan diinokulasikan dalam 50 ml medium pembenihan cair MY-Broth, lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam dan dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 170 rpm. Inokulum sebanyak 5 ml dipipet dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 ml medium produksi, diinkubasi pada suhu kamar selama 7 x 24 jam dan dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 170 rpm.

IV.3 Penyiapan Mikoroorganisme Uji

IV.3.1 Peremajaan Mikoroorganisme Uji (7)

Bakteri uji berupa *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing diambil 1 ose lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan dalam medium NA miring lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

Khamir uji yaitu *Candida albicans* diambil 1 ose lalu diinokulasi dengan cara digoreskan pada medium PDA miring, lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam.

IV.3.2 Pembuatan Suspensi Mikoroorganisme Uji (7)

Mikoroorganisme uji yang telah diremajakan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis steril lalu diukur transmitannya pada 25% T menggunakan spektrofotometer, sebagai blanko digunakan larutan NaCl fisiologis.

IV.4 Pemeriksaan aktifitas antibiotika

Hasil fermentasi biakan murni dibuat beberapa konsentrasi, medium GNA didinginkan hingga suhu sekitar 40°C kemudian dituang secara aseptik ke dalam cawan petri steril sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat. Setelah itu, 10 ml medium GNA dicampur dengan 1 ml suspensi mikoroorganisme uji dan dituang ke dalam lapisan dasar lalu dibiarkan hingga setengah memadat. Pencadangan diletakkan secara aseptik di atas permukaan medium yang

memadat lalu diisi dengan residu dan supernatan hasil fermentasi sebanyak 0,2 ml. Tiap cawan diisi dengan 5 pencadang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

Untuk khamir uji digunakan medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 2 x 24 jam. Daerah hambatan berupa zona bening di sekitar pencadang diukur dan dicatat.

IV.5 Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dengan mengukur daerah hambatan berupa zona bening di sekitar pencadang sebanyak 3 kali dengan menggunakan jangka sorong.

IV.6 Identifikasi Mikroorganisme (4, 15)

1. Pengamatan Morfologi Secara Makroskopik

Medium NA dituang sebanyak 15 ml ke dalam cawan petri dan dibiarkan membeku kemudian diinokulasikan dengan biakan murni secara goresan. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk, warna dan permukaan koloni.

2. Pengamatan Morfologi Secara Mikroskopik Dengan Pengecatan Gram (6)

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian difiksasi di atas lampu spiritus, selanjutnya bakteri diambil secara aseptis dan diletakkan di atas gelas objek lalu diratakan. Difiksasi kembali di atas

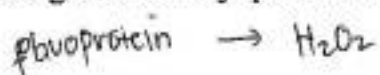
lampu spiritus, setelah dingin diteteskan cat Gram A 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu ditetesi dengan Gram B (mordan) selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir. Kemudian ditetesi dengan Gram C (pemucat) selama 30 detik. Terakhir ditetesi dengan Gram D (cat penutup) selama 45 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan kelebihan air dihilangkan dengan kertas saring. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat bentuk dan warna sel di bawah mikroskop.

3. Pengamatan Morfologis Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan Spora.

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 70 % kemudian difiksasi di atas lampu spiritus. Diambil secara aseptis biakan dan diletakkan di atas gelas objek lalu diratakan. Difiksasi kembali di atas lampu spiritus dan setelah dingin diteteskan pewarna Malachite green, dibiarkan selama 5 menit, dicuci dengan air mengalir selama 30 detik, kemudian ditetesi dengan safranin selama 30 detik. Setelah dibilas dengan air dikeringkan di atas kertas serap. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya spora, bentuk serta letak spora di dalam sel.

3. Uji Katalase

Gelas objek ditetesi dengan 2 tetes hidrogen peroksida 3% kemudian secara aseptik diinokulasikan dengan biakan dan dicampur dengan baik. Uji positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara.





4. Uji Merah Metil

Medium MR-VP dalam tabung reaksi diinokulasikan dengan biakan mikroorganisme dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian ditetesi dengan merah metil. Adanya perubahan warna medium menjadi merah menunjukkan mikroorganisme tersebut memproduksi asam

5. Uji Penggunaan Sitrat Sebagai Sumber C Satu-satunya

Medium SCA dibuat agar miring dan diinokulasikan dengan biakan secara goresan, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji positif jika terjadi perubahan warna hijau menjadi biru.

6. Uji pH Pertumbuhan

Medium glukosa yeast ekstrak dituang ke dalam tabung reaksi, kemudian diatur pH-nya mulai dari pH 1-12 dengan menambahkan HCl 1N dan NaOH 1N, dimiringkan dan dibiarkan membeku. Diinokulasikan dengan biakan dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji positif jika terdapat pertumbuhan.

7. Uji Suhu Pertumbuhan

Medium NA dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai memadat. Diinokulasikan dengan biakan secara goresan kemudian diinkubasikan pada suhu 4°C , 25°C , 37°C , dan 65°C selama 24 jam. Uji positif jika terdapat pertumbuhan.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh biakan mikroorganisme hasil isolasi dari pesisir pantai sebanyak 2 biakan, dataran rendah 2 biakan dan dataran tinggi 1 biakan. Setelah difermentasi dan disentrifus lalu diuji aktifitasnya terhadap mikroorganisme uji diperoleh hasil bahwa hambatan terbesar ditunjukkan oleh residu biakan nomor 1 yang diperoleh dari tanah pada daerah pesisir pantai. Hasil pengujian juga menunjukkan bahwa biakan nomor 1 tersebut mempunyai aktifitas yang paling besar terhadap *Candida albicans* dibandingkan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian aktifitas tersebut dapat dilihat pada tabel 2,3, dan 4.

Identifikasi mikroorganisme biakan nomor 1 menunjukkan ciri-ciri yaitu bentuk koloni bulat, memiliki miselium dan spora, Gram positif dan bersifat aerob. Pengaruh ekologi yaitu pertumbuhan optimum pada suhu 37⁰ C, pH optimum 7,0-8,0. Dapat tumbuh pada suhu 4⁰ C tetapi tidak tumbuh pada suhu 65⁰ C. Tidak tumbuh pada pH di bawah 2,0 dan di atas pH 11,0.

V.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap pendahuluan meliputi isolasi mikroorganisme dari tanah asal Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang, Pemurnian dan fermentasi biakan hasil isolasi dan pengujian aktifitas antibiotika. Tahap lanjutan meliputi identifikasi mikroorganisme yang memiliki daya hambat paling besar terhadap mikroorganisme uji.

Pada proses isolasi diperoleh lima jenis mikroorganisme. Kelima jenis mikroorganisme tersebut kemudian difermentasi dalam medium produksi selama 7 x 24 jam, hal ini dilakukan agar selama fermentasi mikroorganisme akan mencapai fase stasioner, dimana menurut Sermonti (1969) pembentukan antibiotika umumnya terjadi pada fase stasioner yaitu pada saat nutrisi mulai berkurang dan terjadi perubahan morfologi yang berkaitan dengan perubahan pola metabolisme. Beberapa antibiotika dibentuk bersamaan dengan pembentukan spora. Pada fase stasioner mikroorganisme mulai kekurangan nutrisi sehingga mikroorganisme tersebut akan berusaha mempertahankan hidupnya dengan cara menghasilkan metabolit sekunder yang berupa bahan-bahan toksik yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain, hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Salle A.J. (1961) bahwa untuk mempertahankan hidup mikroorganisme dapat membuat pertahanan sendiri dengan menghasilkan metabolit sekunder yang mempengaruhi mikroorganisme lain sehingga mikroorganisme lain itu tidak

dapat tumbuh dan berkembang biak. Bahan-bahan toksik yang dihasilkan oleh mikroorganisme itu disebut antibiotika (1).

Hasil fermentasi lalu disentrifus untuk memisahkan supernatan dan residu, hal ini dilakukan karena mikroorganisme dapat menghasilkan antibiotika diluar sel (ekstrasel) berupa bahan-bahan toksik yang dapat larut dan dikeluarkan dari sel selama proses pertumbuhan mikroorganisme (eksotoksin) yang biasanya terdapat pada supernatan. Antibiotika dapat pula dihasilkan didalam sel mikroorganisme (intrasel) yang tersimpan didalam sel mikroorganisme dan dikeluarkan jika selnya dihancurkan (endotoksin) dan endotoksin tersebut terdapat pada residu, sehingga untuk pengujian aktifitas antibiotika dilakukan baik terhadap supernatan maupun residu.

Pengujian aktifitas antibiotika dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan pencadangan silinder terhadap tiga jenis mikroorganisme uji yaitu dari kelompok cendawan digunakan *Candida albicans*, bakteri Gram negatif menggunakan *Escherichia coli* dan bakteri Gram positif menggunakan *Staphylococcus aureus*. Mekanisme kerja dari antibiotika yang dihasilkan kemungkinan dengan cara mengikat sterol yang terdapat pada membran sel dari cendawan, dalam hal ini digunakan *Candida albicans* sehingga menyebabkan rusaknya membran sel sedangkan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan mikroorganisme dari kelompok bakteri sehingga

antibiotika yang dihasilkan kurang menghambat kedua jenis mikroorganisme tersebut.

Hasil pengujian aktifitas antibiotika menunjukkan bahwa biakan nomor 1 yang berasal dari tanah pada daerah pesisir pantai memiliki kemampuan yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji dibandingkan biakan yang diperoleh dari tanah pada dataran rendah dan dataran tinggi. Tanah pada daerah pesisir pantai merupakan tanah yang lembab sehingga mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik, menurut Sukandar, E. Y. mikroorganisme penghasil antibiotika umumnya tumbuh pada daerah yang lembab karena untuk pertumbuhannya memerlukan air yang cukup, sedangkan sampel tanah yang diambil dari dataran rendah dan dataran tinggi merupakan tanah yang agak kering.

Salah satu syarat agar suatu senyawa dapat digolongkan sebagai antibiotika adalah efektif pada kadar yang rendah, Turpin dan Velu menyatakan bahwa antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup yang memiliki indeks kemoterapi yang tinggi dan aktif pada dosis yang sangat rendah. Untuk mengetahui bahwa metabolit yang dihasilkan selama fermentasi merupakan antibiotika dilakukan penentuan nilai MIC (minimal inhibitory concentration) yaitu konsentrasi terendah dari metabolit yang masih menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji (24). Penentuan nilai MIC tersebut dilakukan terhadap residu biakan nomor 1 yang memiliki aktifitas yang

paling besar dengan menggunakan mikroorganisme uji *Candida albicans*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai MIC residu biakan nomor 1 tersebut adalah 0,01 µg/ml. Dengan demikian maka biakan nomor 1 dapat menghasilkan antibiotika-antifungi dan dapat dijadikan sebagai salah satu sumber bahan baku obat khususnya terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans*.

Pada tahap lanjutan dilakukan identifikasi mikroorganisme penghasil antibiotika yang dalam hal ini dipilih biakan nomor 1 karena memiliki aktifitas yang paling besar. Berdasarkan hasil identifikasi pada pengamatan makroskopik diperoleh hasil bahwa biakan nomor 1 mempunyai koloni bulat, berwarna putih, memiliki miselium dan dapat membentuk pigmen. Pengamatan mikroskopik memperlihatkan ciri-ciri yaitu bersifat Gram positif dan memperlihatkan adanya spora dalam sel vegetatif yang terdapat pada bagian ujung (bulat terminal). Tes biokimia menunjukkan ciri-ciri tidak memproduksi asam karena pada uji metil merah dalam medium MR-VP negatif (tidak berwarna merah), termasuk bakteri aerob yaitu bakteri yang dalam pertumbuhannya membutuhkan oksigen karena pada uji katalase dapat memproduksi enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara, menggunakan sitrat sebagai sumber karbon karena pada uji sitrat dalam medium SCA terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru. Suhu pertumbuhan optimum 37⁰ C, pH optimum antara 7,0-8,0. Hasil identifikasi

tersebut kemudian dibandingkan dengan literatur dan didapatkan bahwa mikroorganisme tanah biakan nomor 1 termasuk dalam genus *Streptomyces*. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa umumnya mikroorganisme yang tumbuh pada tanah adalah dari kelas actinomycetes dan 90% dari kelas actinomycetes tersebut adalah dari marga *Streptomyces* (22)



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka telah berhasil diisolasi lima jenis mikroorganisme tanah asal kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang yang mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji dengan aktifitas terbesar ditunjukkan oleh residu biakan nomor 1 yang diperoleh dari tanah pada daerah pesisir pantai terhadap *Candida albicans* dengan konsentrasi terkecil $0,01\mu\text{g/ml}$ dan dari hasil identifikasi mikroorganisme tersebut termasuk marga *Streptomyces*.

VI.2 Saran

1. Hendaknya dilakukan karakterisasi terhadap semua biakan yang diperoleh.
2. Hendaknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui struktur dari antibiotika yang dihasilkan sehingga dapat diproduksi dalam skala besar dan dapat digunakan oleh masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Salle, A.J., (1961), "Fundamental Principles of Bacteriology", 5th edition, Mc Graw Hill Company, New York.
2. Edmonds, P., (1978), "Microbiology an Environmental Perspective", Macmillan Publishing Co, Inc, New York.
3. Sapoetro, H., (1987), "Produksi Antibiotik di Dunia dan Indonesia", Seminar Antibiotik, ITB, Bandung, 1-2.
4. Dwidjoseputro, D., (1990), "Dasar-dasar Mikrobiologi", Penerbit Djambatan, Malang, Surabaya.
5. Anonim, (1977), "The Bacto of Culture Media Ingredients Other Laboratory Services", 3th edition.
6. Cappucino, J., Sherman, N., (1983), "Microbiology a Laboratory Manual", Addison Wesley Publishing Co, New York.
7. Lay, W.B., (1994), "Analisis Mikroba di Laboratorium", PT. Raja Grafindo Persada , Jakarta.
8. Prentis, S., (1990), "Bioteknologi Suatu Revolusi Industri yang Baru", Penerbit Erlangga, Jakarta.
9. Sukandar, E.Y., Wattimena, J.R., (1982), "Antibiotik dan Beberapa Landasan Penggunaannya Secara Rasional", Dinamika Farmasi, Vol. I No.5, Lembaga Informasi Obat, 12-14.

10. Delgado, N.J., William, A., Remers., (1982), "Wilson and Gisvold, Teextbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry", J.B. Lippincott Co, Philadelphia, 225-226.
11. Tejoyuwono, N., (1998), "Tanah dan Lingkungan" , Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta, 93.
12. Rao, S.N.S., (1994), "Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman", Edisi II, UI Press, Jakarta, 13.
13. Alexander, M., (1977), "Introduction to Soil Microbiology", Edisi II, John Willey and Sons, Inc, Canada, 3, 16.
14. Pelczar, M.J., Chan, E.C.S., (1988), "Dasar-dasar Mikrobiologi", Jilid II, Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo dkk, UI Press, Jakarta, 2.
15. Ganiswara, G.S., dkk., (1995), "Farmakologi dan Terapi", Edisi IV, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, 571-573.
16. Seeley, W.H., Van Denmark, J.P., (1962), "Microbes in Action, A Laboratory Manual of Microbiology", 2th edition, W.H. Freeman and Co, America, 79.
17. Porter, J.N., (1975), "Cultural Condition for Antibiotic Producing Microorganism", In Hash, J.H., (ed), Academic Press, New York, 3-23.
18. Lay, W.B., Sugyo, H., (1992), "Mikrobiologi", PAU Institut Pertanian Bogor, 27-64.
19. Sneath, P.H.A., et al, (1986), "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Vol.II, Williams and Wilkins Co., Sydney, 1013-1015.

20. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., (1975), "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", Edisi VIII, Williams and Wilkins, Co., Sydney, 915, 1100-1102
21. Baker, F., (1974), "Handbook of Bacteriological Technique" 2th edition, Westminster Medical School, London, 67-75.
22. Sermoniti, G., (1969), "Genetics of Antibiotic Producing Microorganism", Willey Interscience, London, 1-23.
23. Sukandar, E.Y., (1987), "Isolasi Antibiotik – Antifungi dari *Streptomyces Indonesiensis* ATCC 35859", ITB, Bandung, 7-21.
24. The Journal of Antibiotics, (1986), "In Vitro Evaluation of SF-2103A, A Novel Carbapenem Antibiotic, as a β -Lactamase Inhibitor", Volume 39 No. 7, Japan Antibiotics Research Association, 944.

Tabel 1. Hasil isolasi Mikroorganisme dari Tanah

No	Lokasi	Warna Tanah	Ketinggian dari Permukaan Laut	Jumlah biakan	Nomor biakan
1	Pesisir pantai	Abu-abu	± 4	2	1 - 2
2	Dataran rendah	Coklat hitam	± 600	2	3 - 4
3	Dataran tinggi	Coklat hitam	± 1200	1	5

Tabel 2. Hasil Pengukuran Daya Hambat Antibiotika dari Residu Hasil Fermentasi terhadap beberapa Mikroorganisme Uji

Biakan No	Diameter Hambatan (mm)		
	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	28,90	21,60	18,80
	26,35	19,35	18,90
	27,90	19,15	17,90
Rata-rata	27,72	20,03	18,53
2	24,15	17,45	-
	24,80	16,70	-
	23,50	17,25	-
Rata-rata	24,15	17,13	-
3	20,35	-	12,15
	21,35	-	11,15
	20,80	-	11,60
Rata-rata	20,83	-	-
4	21,45	-	-
	21,15	-	-
	20,35	-	-
Rata-rata	21,98	-	-
5	20,45	-	12,90
	21,15	-	11,60
	20,35	-	11,90
Rata-rata	20,65	-	12,13
Pembanding (Tetrasiklin)	20,15	14,90	14,90
	21,35	15,35	15,35
	20,90	16,70	16,70
Rata-rata	20,80	15,65	15,65

Tabel 3. Hasil Pengukuran Daya Hambat Antibiotika dari Supernatan Hasil Fermentasi Mikroorganisme Tanah terhadap Mikroorganisme Uji.

Biakan No	Diameter Hambatan (mm)		
	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	18,25	12,60	14,90
	19,35	10,80	13,80
	19,80	11,60	13,15
Rata-rata	19,16	11,67	13,95
2	22,25	-	10,15
	21,50	-	10,35
	22,60	-	9,90
Rata-rata	22,12	-	10,13
3	21,15	-	-
	19,35	-	-
	21,60	-	-
Rata-rata	20,70	-	-
4	21,50	12,80	9,45
	22,25	13,80	9,90
	21,70	15,25	9,15
Rata-rata	21,82	13,95	9,51
5	18,90	14,60	-
	19,15	15,70	-
	18,60	14,80	-
Rata-rata	21,82	15,03	-
Pembanding (Tetrasikilin)	19,15	20,15	12,90
	15,50	21,45	12,90
	18,60	22,25	12,35
Rata-rata	19,08	21,28	12,35

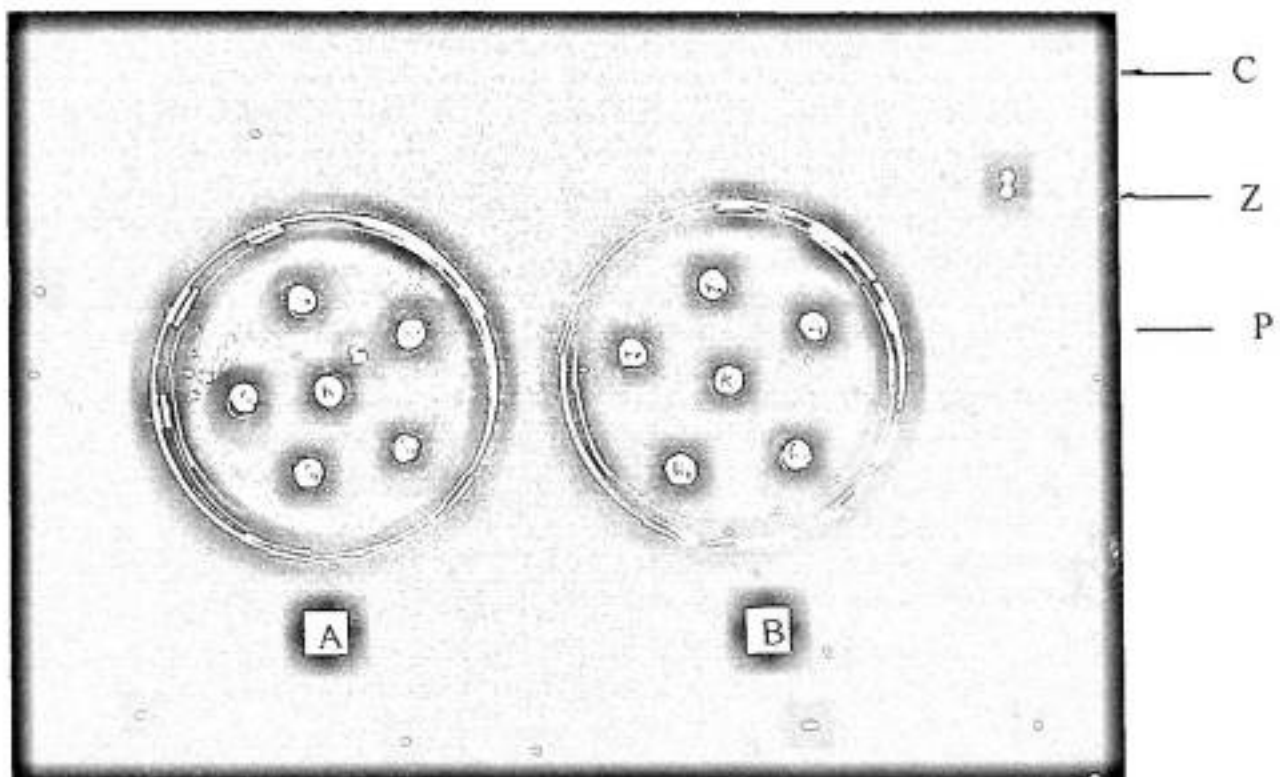


Tabel 4. Hasil Pengukuran Daya Hambat Antibiotika dari Residu Biakan Nomor. I dalam beberapa Konsentrasi Terhadap *Candida albicans*

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml.}$)	Diameter Daya Hambat (mm)			
	I	II	III	IV
100000	25,35	24,60	22,25	24,06
10000	22,25	20,50	20,50	21,08
1000	20,35	19,70	19,45	19,85
100	14,90	14,25	14,45	14,53
10	15,70	13,35	12,90	13,98
1	12,45	12,90	12,15	12,5
0,1	11,80	11,60	11,50	11,6
0,01	9,70	9,45	9,50	9,68

Tabel 5. Hasil Identifikasi Biakan Nomor 1

No.	Pengujian	Hasil	Pustaka (14, 23)
1	Makroskopik	Bentuk koloni bulat, berwarna putih, memiliki miselium, dan membentuk pigmen hijau.	Memiliki miselium, dapat membentuk pigmen
2.	Mikroskopik	Berbentuk bulat, memiliki spora dalam sel vegetatif	Terdiri dari 3 atau lebih spora
3.	Pengecatan Gram	Gram positif	Gram positi
4.	Uji Katalase	Positif	Aerob, katalase positif
5.	Uji MR-VP	Negatif	
6.	Uji Sitrat	Positif	
7.	Uji Pengaruh Suhu 4° C 25° C 37° C 65° C	Positif Positif Positif (optimum) Negatif	Suhu optimum 25° C - 37° C
8.	Uji Pengaruh pH pH 1 pH 2 pH 3 pH 4 pH 5 pH 6 pH 7 pH 8 pH 9 pH 10 pH 11 pH 12	Negatif Negatif Positif Positif Positif Positif Positif (optimum) Positif (optimum) Positif Positif Negatif Negatif	pH netral atau agak basa



Gambar 1. Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Supernatan dan Residu Hasil Fermentasi Mikroorganismen Tanah Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*.

Keterangan :

A = Supernatan

B = Residu

K = Kontrol

S1= Supernatan Biakan No 1

S2= Supernatan Biakan No.2

S3= Supernatan Biakan No.3

S4= Supernatan Biakan No.4

S5= Supernatan Biakan No.5

C = Cawan petri

Z = Zona hambatan

P = Pencadangan

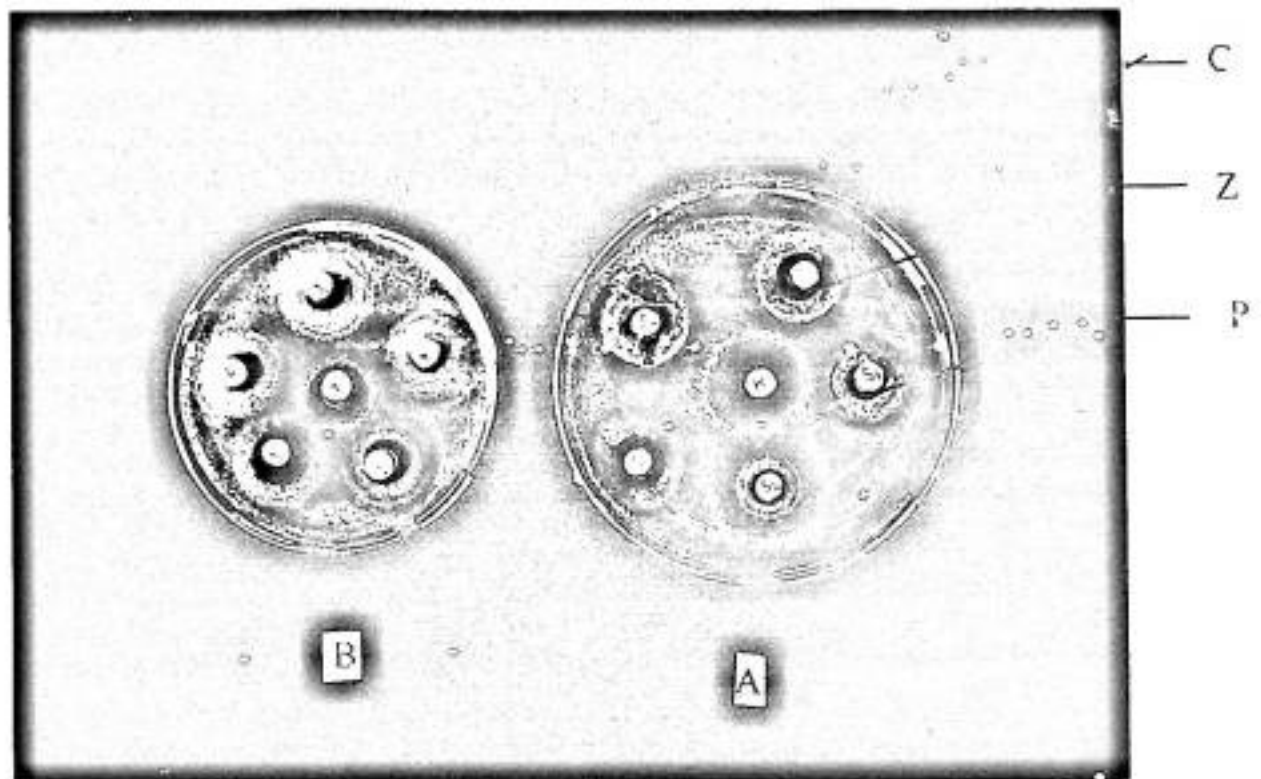
R1= Residu Biakan No.1

R2= Residu Biakan No.2

R3= Residu Biakan No.3

R4= Residu Biakan No.4

R5= Residu Biakan No.5



Gambar 2. Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Supernatan dan Residu Hasil Fermentasi Mikroorganisme Tanah Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*

Keterangan :

A = Supernatan

B = Residu

K = Kontrol

S1= Supernatan Biakan No 1

S2= Supernatan Biakan No.2

S3= Supernatan Biakan No.3

S4= Supernatan Biakan No.4

S5= Supernatan Biakan No5

C = Cawan petri

Z = Zona hambatan

P = Pencadang

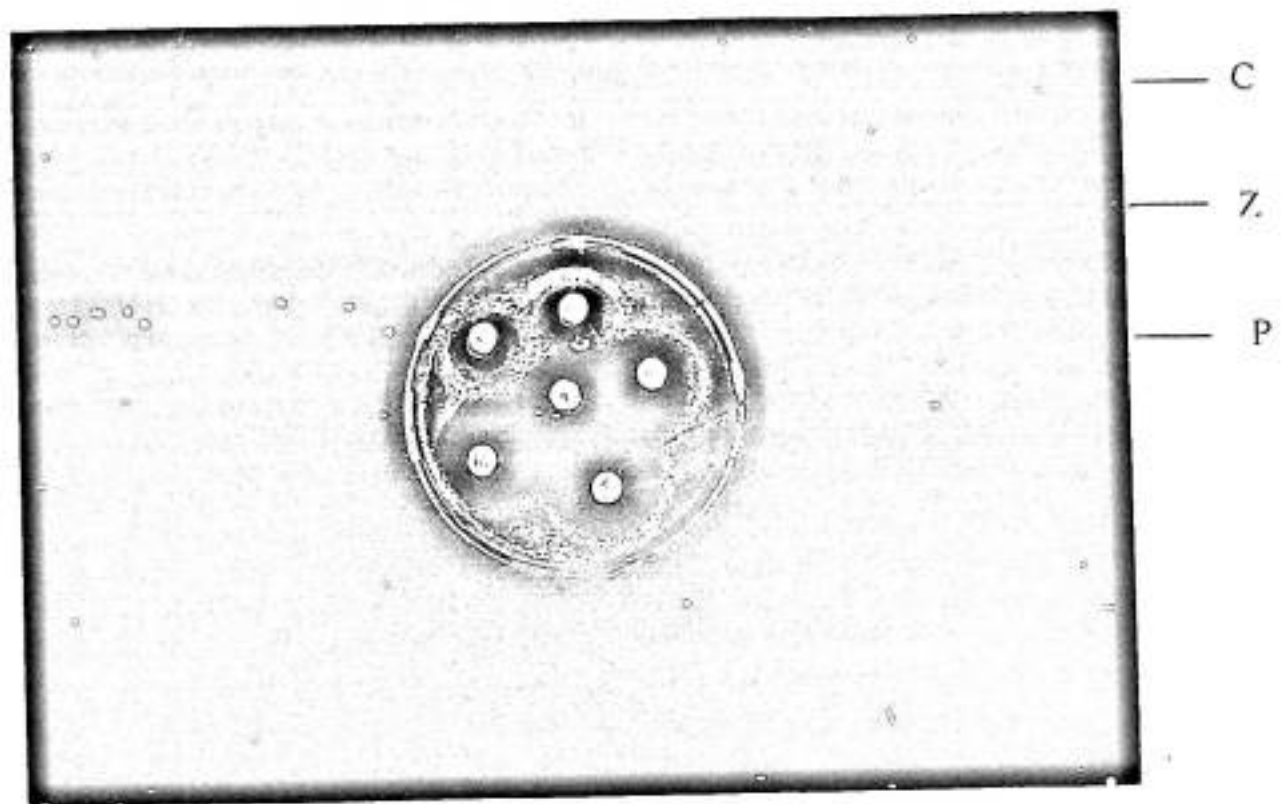
R1= Residu Biakan No.1

R2= Residu Biakan No.2

R3= Residu Biakan No.3

R4=Residu Biakan No.4

R5= Residu Biakan No.5



Gambar 3. Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Residu Hasil Fermentasi Mikroorganisme Tanah Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

C = Cawan petri

Z = Zona hambatan

P = Pencadangan

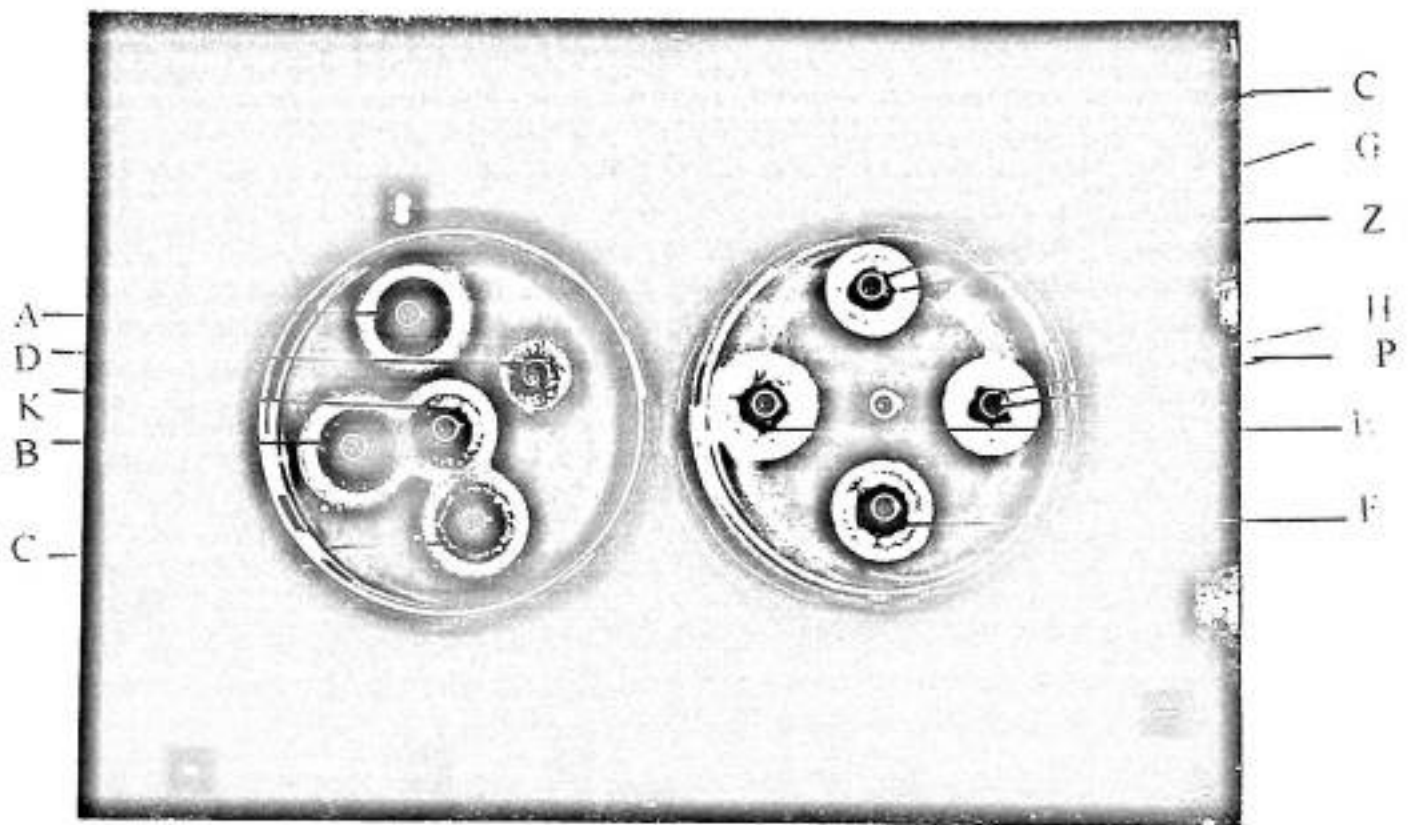
R1 = Residu Biakan No 1

R2 = Residu Biakan No.2

R3 = Residu Biakan No.3

R4 = Residu Biakan No.4

R5 = Residu Biakan No.5



Gambar 4. Foto Hasil Pengamatan Diameter Hambatan Residu Biakan No.1 Terhadap *Candida albicans*

Keterangan :

C = Cawan petri

Z = Zona hambatan

P = Pencilang

A = Konsentrasi 100000 μ g/ml

B = Konsentrasi 10000 μ g/ml

C = Konsentrasi 1000 μ g/ml

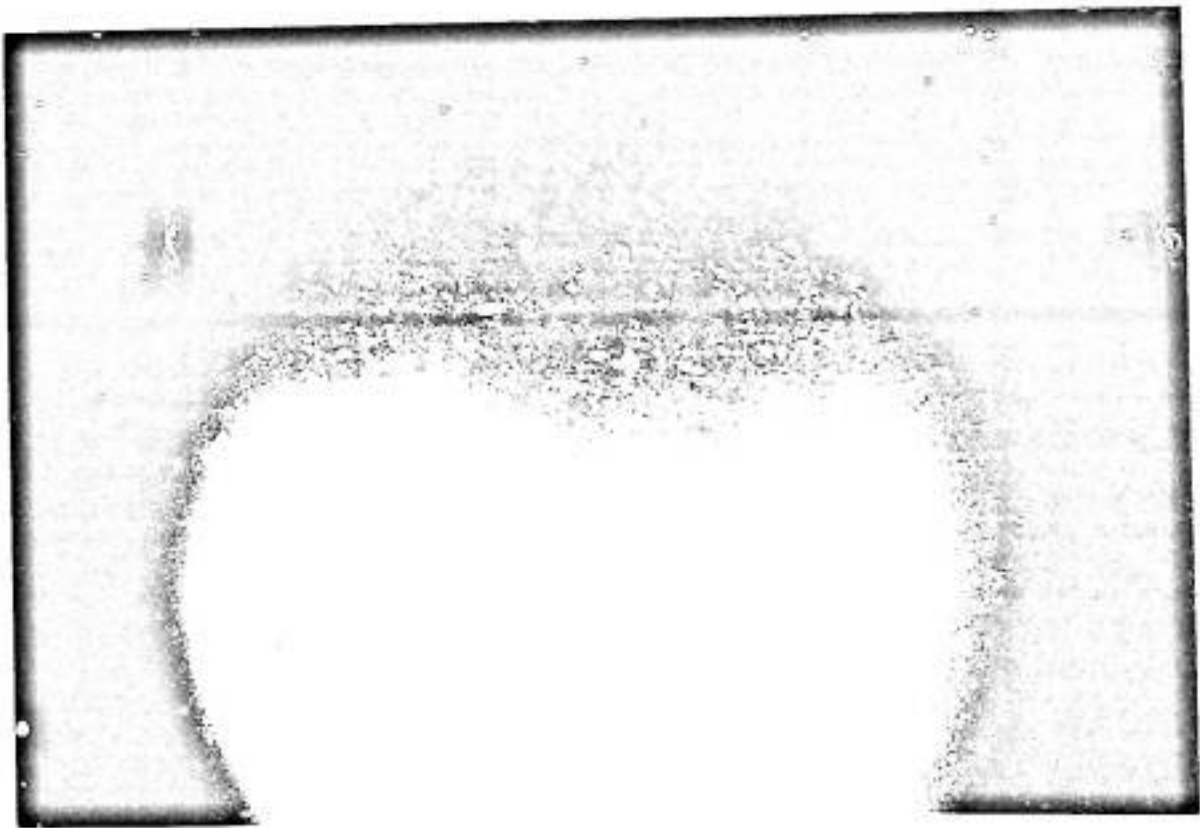
D = Konsentrasi 100 μ g/ml

E = Konsentrasi 10 μ g/ml

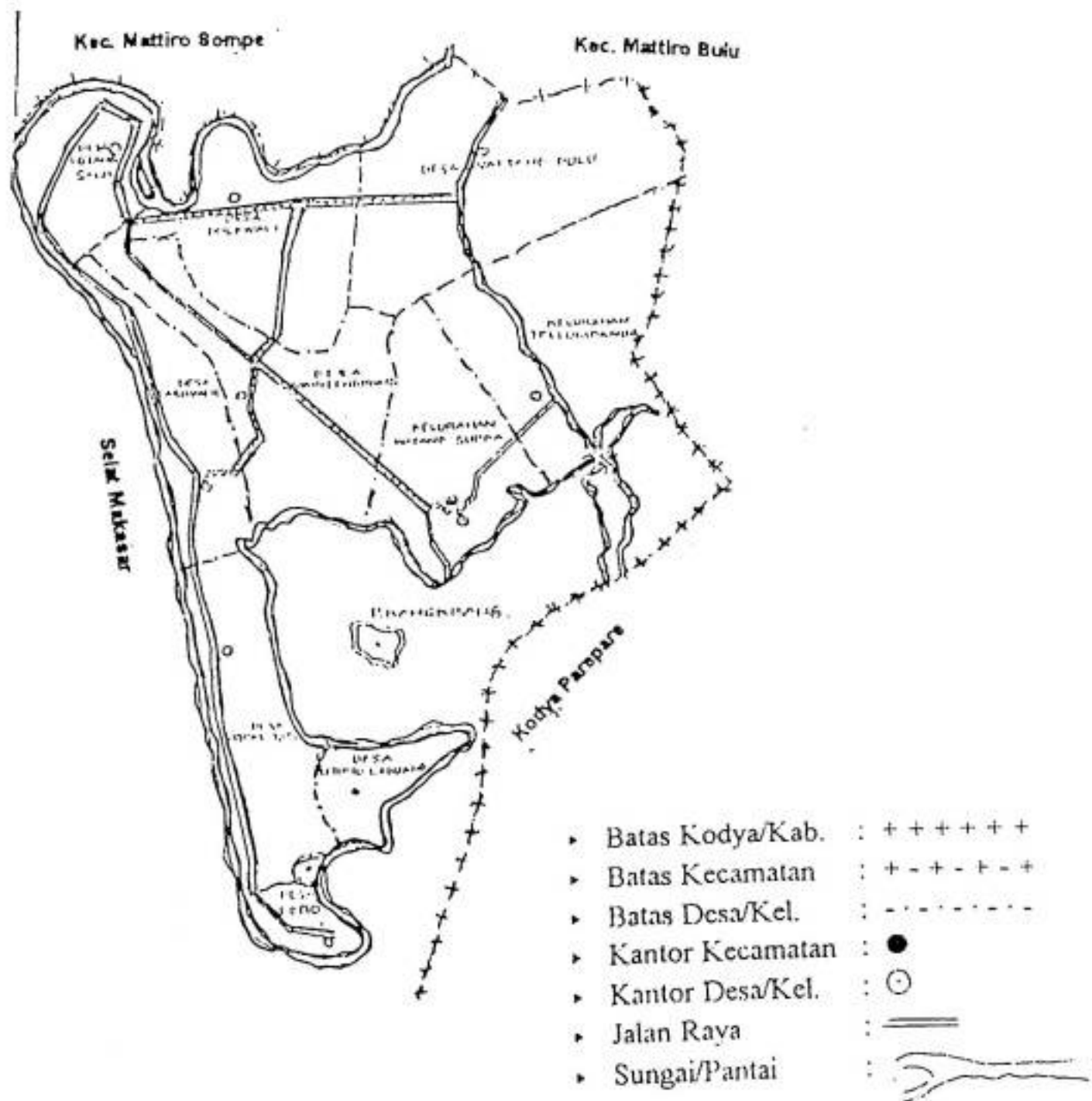
F = Konsentrasi 1 μ g/ml

G = Konsentrasi 0,1 μ g/ml

H = Konsentrasi 0,01 μ g/ml

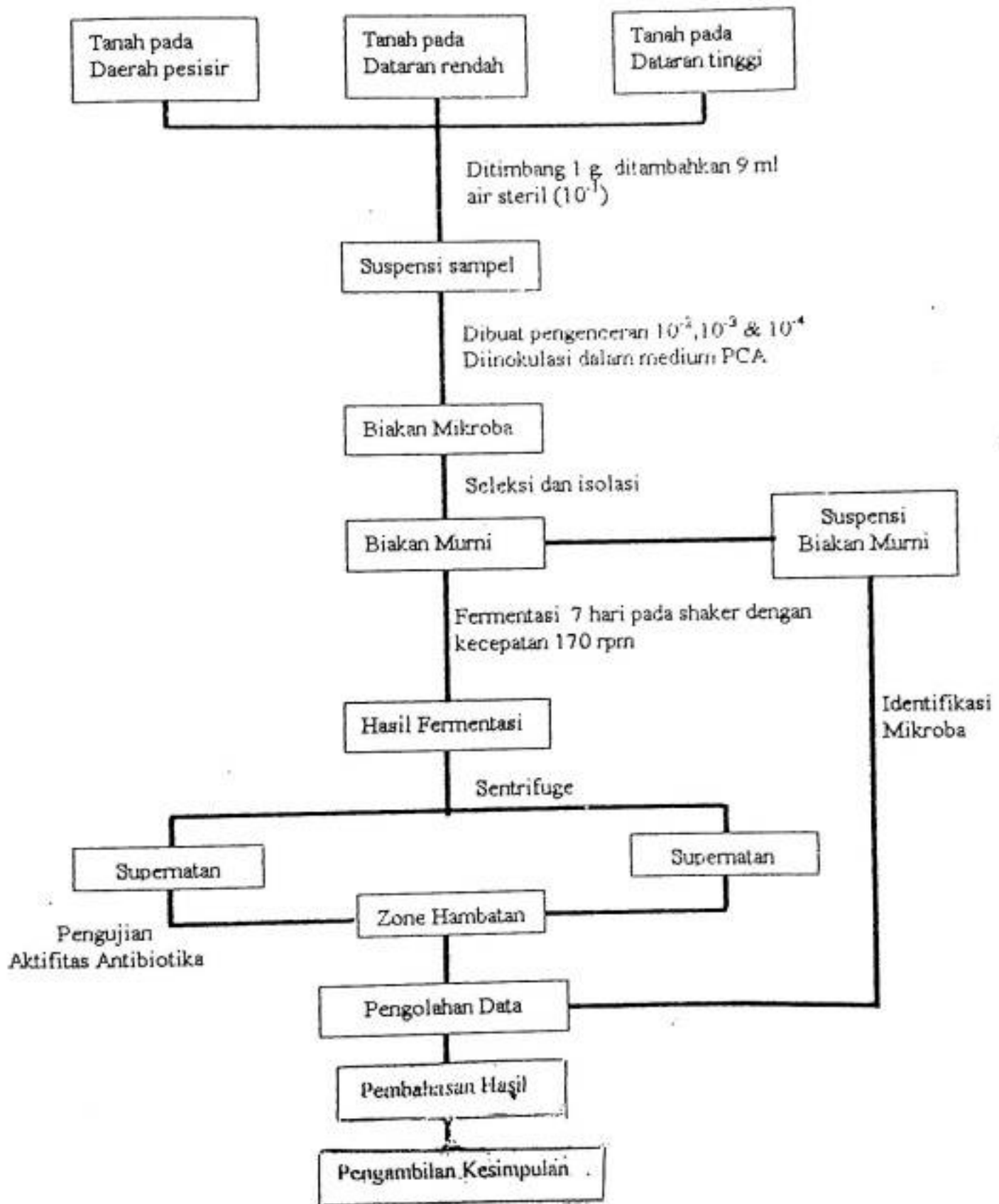


Gambar 5. Foto Mikroskopik Biakan Nomor 1 yang Diperoleh dari Tanah pada Pesisir Pantai.



Gambar 6. Peta Lokasi Pengambilan Sampel Tanah di Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang

SKEMA KERJA



KOMPOSISI MEDIUM

Nutrien Agar

Pepton	5.0 g
Ekstrak daging	3.0 g
Agar	15.0 g
Air suling	1000 ml

Potato Dekstrosa Agar

Potato	200.0 g
Dekstrosa	5.0 g
Agar	15.0 g
Air suling	1000 ml

3. Glukosa Nutrien Agar

Glukosa	10.0 g
Ekstrak daging	5.0 g
Pepton	10.0 g
NaCl	2.5 g
Agar	15.0 g
Air suling	1000 ml

4. Maltosa Yeast Broth

Maltosa	10.0 g
Ekstrak khamir	4.0 g
Air suling	1000 ml

5. Medium Produksi

Glukosa	10.0 g
Pati terlarut	20.0 g
Tepung kedelai	25.0 g
Ekstrak daging	1.0 g
Ekstrak khamir	1.0 g
NaCl	2.0 g
Air suling	1000 ml

6. Simmon Citrate Agar

Amonium dihidrogen fosfat	1.0 g
Bikalium fosfat	1.0 g
NaCl	2.5 g
Natrium sitrat	2.0 g
Magnesium sulfat	0.2 g
Agar	15.0 g
Biru brom timol	0.08 g
Air suling	1000 ml

7. Metil Red – Voges Proskauer Broth

Pepton	7.0 g
Dekstrosa	5.0 g
Kalium fosfat	5.0 g
Air suling	1000 ml