

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ACTINOMYCETES  
SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI TANAH  
ASAL WAMENA - PAPUA**

**HERONIRMA LANU  
N111 04 346**



|                |              |
|----------------|--------------|
| Tgl. Terima    | 16 - 12 - 08 |
| Asal Data      | MIPA         |
| Caranya        | 2.1.1        |
| Metode         | Wafas        |
| No. Inventaris | 351          |
| No. File       |              |

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2008**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ACTINOMYCETES SEBAGAI  
PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI TANAH ASAL WAMENA - PAPUA**

**SKRIPSI**

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

**HERONIRMA LANU  
N111 04 346**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2008**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ACTINOMYCETES SEBAGAI  
PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI TANAH ASAL WAMENA - PAPUA**

**HERONIRMA LANU**

**N111 04 346**

**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama**



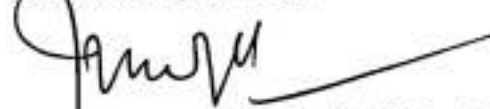
**Dr. M. Natsir Djide, MS, Apt.  
NIP. 130 785 083**

**Pembimbing Pertama,**



**Dra. Ermina Pakki, M.Si, Apt  
NIP. 131 792 011**

**Pembimbing Kedua,**



**Dr. H. Syahrudin Kadir, MSc, Apt  
NIP. 130 687 208**

**Pada tanggal      Desember 2008**

## UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas kelimpahan hikmatnya dan karuniaNya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana pada jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Tanpa bantuan dari berbagai pihak skripsi ini skripsi ini tak dapat terselesaikan dengan baik, maka penulis menyampaikan rasa hormat dan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. M. Natsir Djide, MS, Apt. sebagai pembimbing utama, Ibu Dra. Ermina Pakki MSi, Apt. sebagai pembimbing pertama dan Bapak Dr. H. Syachruddin Kadir MSc. Apt sebagai pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan saran dan dukungan yang mampu membantu selama proses pelaksanaan penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
3. Ketua Jurusan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin .
4. Staf pegawai pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam penyelesaian studi penulis.
5. Suami tercinta William Tagariwu dan anak-anakku Angela dan Veylando yang telah dengan sabar menanti, mendukung dan mendoakan seluruh perjuangan selama masa studi.

6. Kedua orangtua Bapak Agustinus Waru dan mama Yuliana Nona yang telah memberikan dukungan dan dorongan dengan penuh kasih dalam meraih cita-cita, Kakak adik terkasih, terimakasih atas bantuan, dukungan dan doa-doa.
7. Teman-teman seperjuangan Donald, Jule, Vira, Tere, Sherly, Lin Odel, Ein, UniTribudiVera (Kaltim), Ayen, Loli, Dewi, Fera, Reni, Vivin, Nure, Rosy, Wamirah dan semua sahabat-sahabat angkatan 2004 yang tidak disebutkan namanya satu-persatu.
8. Yang manis dan baik hati : Dewi dan Lia yang membantu kelancaran penelitian di Laboratorium Mikrobiologi. Terimakasih untuk kebersamaan selama ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini disusun dengan segala keterbatasan sehingga masih perlu perbaikan-perbaikan berupa kritik dan saran demi kesempumaannya.

Akhirnya penulis memohon maaf kepada semua pihak atas segala kesalahan dan kekeliruan dalam kebersamaan selama masa pendidikan.

Makasar, Desember 2008

Penulis

## Abstrak

Telah dilakukan penelitian isolasi dan karakterisasi actinomycetes sebagai penghasil antibiotika dari tanah asal Wamena - Papua. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan actinomycetes penghasil antibiotika yang berguna untuk pengobatan. Hasil isolasi mikroorganisme (isolat) melalui metode goresan yang telah dikarakterisasi, difermentasi selama 7x24 jam menggunakan *shaker* dengan pH awal 7,0 pada suhu kamar (25-28°C) dan intensitas putaran 170 rpm. Setiap 24 jam dilakukan pengambilan sampel untuk mengetahui pembentukan antibiotika maksimal menggunakan metode difusi Agar, dengan paperdisk berdiameter 5 mm, dan ketebalan 0,5 mm kemudian diuji aktivitas antibiotika terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Setelah dilakukan pengujian karakterisasi terhadap kedua isolat tersebut isolate A menunjukkan karakterisasi yang serupa dengan genus *Streptomyces sp*, isolat B serupa dengan genus *Actinomyces sp*.

Kata kunci : isolasi, karakterisasi, Actinomycetes, tanah, aktivitas antibiotika.

## ABSTRACT

A research of isolation and characterization of actinomycetes as an antibiotic producer from soil of Wamena, Papua has been done. The aims of this research was to obtain the type of actinomycetes as an antibiotic producer that useful in therapy. Result of microorganism isolation (isolate) through scratching method that has been identified, has been fermentated for 7x24 hours in the *shaker* with initial pH 7,0 at room's temperature and circle intensity 170 rpm. By every 24 hours, sample was conducted to know maximal antibiotic forming used agar diffusion method and used cylinder proposer with large diameter was 8 mm, inner diameter 6 mm with height 10 mm and its antibiotic's activity tested towards test microbe of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The two isolate resulted blocked beginning conducted characteristic tested towards the isolate A showed similar characteristic to the genus *Streptomyces sp*, isolate B similar to the genus *Actinomyces sp*.

Key words : isolation, characterization, actinomycetes, soil, antibiotic activity

## DAFTAR ISI

|   | Halaman |
|---|---------|
| UCAPAN TERIMA KASIH.....                            | iv      |
| ABSTRAK.....  | vi      |
| ABSTRACT.....                                       | vii     |
| DAFTAR ISI.....                                     | vii     |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                                | xi      |
| DAFTAR TABEL.....                                   | xii     |
| DAFTAR GAMBAR.....                                  | xiii    |
| BAB I PENDAHULUAN.....                              | 1       |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA                             |         |
| II.1 Uraian Sampel.....                             | 3       |
| II.2 Uraian Tentang Actinomycetes                   |         |
| II.2.1 Karakteristik Actinomycetes.....             | 3       |
| II.2.2 Lingkungan dan Populasi Actinomycetes.....   | 5       |
| II.2.3 Klasifikasi Actinomycetes.....               | 5       |
| II.3 Uraian Tentang Antibiotik.....                 | 5       |
| II.3.1 Penggolongan Antibiotika.....                | 7       |
| II.3.2 Mekanisme Kerja.....                         | 7       |
| II.4 Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme Tanah |         |
| II.4.1 Pengambilan Sampel Tanah.....                | 8       |
| II.4.2 Karakterisasi Mikroorganisme.....            | 8       |



|  |    |
|--|----|
| <b>II.5 Pengujian Aktivitas Antibiotika</b>          |    |
| II.5.1 Metode Pengenceran .....                      | 8  |
| II.5.2 Metode Difusi .....                           | 9  |
| <b>II.6 Uraian Mikroorganisme Uji yang Digunakan</b> |    |
| II.6.1 <i>Escherichia coli</i> .....                 | 10 |
| II.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....            | 12 |

### **BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>III.1 Alat dan Bahan yang digunakan .....</b>  | <b>13</b> |
| <b>III.2 Sterilisasi Alat .....</b>               | <b>14</b> |
| <b>III.3 Pembuatan Media .....</b>                | <b>14</b> |
| <b>III.4 Pengambilan dan Penyiapan Sampel</b>     |           |
| III.4.1 Pengambilan Sampel Tanah .....            | 15        |
| III.4.2 Pembuatan Suspensi Sampel .....           | 15        |
| III.4.3 Pemiakan Mikroba Tanah .....              | 15        |
| III.4.4 Seleksi dan Isolasi Biakan .....          | 15        |
| III.4.5 Fermentasi Biakan Murni .....             | 17        |
| <b>III.5 Penyiapan Mikroorganisme Uji</b>         |           |
| III.5.1 Peremajaan Mikroorganisme Uji .....       | 16        |
| III.5.2 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji .....      | 16        |
| <b>III.6 Pengujian Aktivitas Antibiotik .....</b> | <b>17</b> |
| <b>III.7 Karakterisasi Mikroorganisme .....</b>   | <b>17</b> |

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

|                                   |           |
|-----------------------------------|-----------|
| IV.1 Hasil.....                   | 22        |
| IV.2 Pembahasan.....              | 24        |
| <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> |           |
| V.1 Kesimpulan.....               | 29        |
| V.2 Saran .....                   | 29        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>        | <b>30</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>              | <b>33</b> |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                          | Halaman |
|-----------------------------------|---------|
| LAMPIRAN 1 Komposisi Medium ..... | 43      |
| LAMPIRAN 2 Skema Kerja .....      | 46      |

## DAFTAR TABEL

| TABEL   | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Hasil Identifikasi Actinomycetes (Isolat A) .....<br>Dari Tanah Asal Papua - Wamena  | 33      |
| Tabel 2. Hasil Identifikasi Actinomycetes (Isolat B) .....<br>dari Tanah asal Wamena - Papua  | 34      |
| Tabel 3. Hasil Pengukuran Daya Hambat Filtrat<br>dan Residu Hasil Fermentasi<br>terhadap Mikroba Uji <i>Escherichia coli</i> .....      | 35      |
| Tabel 4. Hasil Pengukuran Daya Hambat<br>Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi<br>terhadap Mikroba Uji <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 36      |
| Tabel 5. Hasil Pengukuran Daya Hambat Filtrat<br>dan Residu Hasil Fermentasi terhadap<br>Mikroba Uji <i>Candida albicans</i> .....      | 37      |

|   |    |
|---|----|
| Gambar 8. Histogram Hasil Pengukuran Daya Hambat<br>Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi<br>terhadap Mikroba Uji <i>Candida albicans</i> ..... | 41 |
|---|----|

## BAB I

### PENDAHULUAN

Antibiotika merupakan suatu zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba terutama fungi yang dapat menghambat atau dapat memusnahkan mikroba lain (1). Obat-obat antimikroba efektif dalam pengobatan infeksi karena toksisitas selektifnya – kemampuan obat tersebut membunuh mikroorganisme sehingga beberapa antibiotika telah dapat diproduksi dengan kombinasi sintesis mikroorganisme dan modifikasi kimia. Mikroorganisme penghasil antibiotika meliputi golongan fungi, bakteri dan virus (2).

Sampai saat ini sumber utama antibiotika adalah dari Actinomycetes yang banyak terdapat dalam tanah sehingga tanah merupakan sumber utama Actinomycetes disamping sumber lainnya seperti pupuk kandang, kompos, air danau atau sungai atau pada makanan ternak (3).

Mengingat Indonesia merupakan negara tropis yang iklimnya sangat sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme yang bermanfaat bagi manusia (4) dan pola penyakit di Indonesia menunjukkan bahwa penyakit infeksi masih menempati urutan teratas sehingga kebutuhan akan obat antimikroorganisme cukup besar, sehingga sudah waktunya mulai dikembangkan cara-cara isolasi mikroorganisme dari tanah (5).

Indriemayatie (6) dan Jamaludin pada tahun 1990 (7) berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi mikroba tanah (*Streptomyces*) penghasil antifungi pada beberapa tempat di Sulawesi Selatan. Kemudian Hasnawati pada tahun 2001, mengisolasi dan mengidentifikasi lima jenis mikroba dari tanah asal Kecamatan Suppa Kabupaten pinrang yang mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji (8).

Wamena merupakan daerah yang terletak pada bagian Timur Indonesia yang terkenal dengan kesuburan tanahnya dan menurut pengalaman masyarakat setempat, tanah yang berasal dari lereng gunung wamena dapat digunakan sebagai pengobatan pada luka. Berdasarkan hal tersebut diatas maka telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi mikroba tanah dari Wamena – Papua. Adapun maksud penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan karakterisasi mikroba tanah kelas Aktinomisetes dengan tujuan untuk memperoleh mikroba penghasil antibiotika.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Uraian Sampel ( 12, 20 )**

Tanah merupakan campuran bahan padat (organik dan anorganik), dan udara. Fase ini mempengaruhi satu sama lainnya. Misalnya, reaksi-reaksi bahan padat berpengaruh terhadap kualitas udara dan air, berpengaruh terhadap pelapukan (hancuran iklim) bahan padat dan reaksi-reaksi bersifat katalisator dari jasad renik. Kimia tanah terlibat dalam reaksi ini. Dapat dikatakan bahwa tanah merupakan laboratorium kimia alam yang melangsungkan aktifitas yang berkesinambungan sepanjang zaman.

Tanah mineral yang dapat berfungsi sebagai media tumbuh ideal secara material oleh 4 komponen yaitu bahan padatan (mineral dan bahan organik), air dan udara. Berdasarkan volumenya, maka tanah secara rerata terdiri dari : 50 % padatan, 45 % bahan mineral, dan 5 % bahan organik.

#### **II.2 Uraian tentang Actinomycetes (13,18,23)**

##### **II.2.1 Karakteristik Actinomycetes**

Actinomycetes adalah organisme tanah yang memiliki sifat-sifat yang umum dimiliki oleh bakteri dan jamur tetapi juga mempunyai ciri khas yang cukup berbeda. Pada lempeng agar, Actinomycetes dapat



dibedakan dengan mudah dari bakteri yang sebenarnya. Tidak seperti koloni bakteri sebenarnya yang jelas berlendir dan tumbuh dengan cepat, koloni Actinomycetes muncul perlahan menunjukkan konsistensi berbubuk dan melekat erat pada permukaan agar. Pengamatan yang teliti pada suatu koloni dibawah mikroskop menunjukkan adanya miselium ramping bersel satu yang bercabang yang membentuk spora aseksual untuk perkembangbiakannya.

Actinomycetes awalnya dinamakan 'ray fungi'. Actinomycetes tumbuh dalam bentuk filamen miselium dan membentuk spora. Ada dua hal penting untuk membedakan antara fungi dengan actinomycetes, yakni : 1). Actinomycetes tidak mempunyai nukleus, sehingga dimasukkan prokariotik; 2). Bentuk hifa Actinomycetes dengan diameter 0,5 – 1,0 mm, sehingga lebih kecil dari hifa jamur (3 – 8 mm diameternya).

### **II.2.2 Lingkungan dan Populasi Actinomycetes**

Actinomycetes bersifat aerobik, karena itu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan. Oleh karena itu, tidak dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang basah. Actinomycetes tumbuh sangat lambat pada suhu 5°C, dan dapat diisolasi lebih banyak dari tanah yang lebih panas maupun tanah yang lebih kering, tetapi tidak berarti organisme tersebut menyukai panas. Pertumbuhan optimum pada suhu antara 28 – 37°C, tetapi beberapa Actinomycetes tumbuh pada suhu 55 – 65°C, didalam kompos.

Actinomycetes toleran terhadap keadaan basa. Dalam tanah yang bersifat alkali, 95% dari isolat mikroba terdiri atas Actinomycetes, berarti

juga organisme tersebut tidak tahan terhadap asam. Pada pH lebih kecil daripada 5, Actinomycetes hanya merupakan bagian kurang dari 1 % dari populasi mikroba. Actinomycetes yang mempunyai sifat intoleran terhadap asam dapat digunakan sebagai kontrol beberapa tanaman karena Actinomycetes yang bersifat patogenik.

Actinomycetes terdiri dari 10 – 20% total populasi mikroba dalam tanah. Jumlah Actinomycetes meningkat dengan adanya bahan organik yang mengalami dekomposisi. Organisme ini ditemukan (hampir semua), dalam kompos dan sedimen.

### **II.2.3 Klasifikasi Actinomycetes**

Dalam hal urutan banyaknya anggota dalam tanah, genus yang paling umum dari actinomycetes adalah *Streptomyces*, *Nocardia* dan *Micromonospora* walaupun *Actinomyces*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* dan *Thermoactinomyces* juga kadang dijumpai.

### **II.3 Uraian tentang Antibiotika ( 1,19,21 )**

Aktivitas antibiotika untuk pertama kalinya ditemukan secara kebetulan oleh Sir Alexander Fleming ( Inggris, 1829, Penicillin) yang merupakan titik tolak penelitian yang menghasilkan senyawa dengan daya anti infeksi yang sangat menakjubkan, yang sekarang dikenal dengan nama antibiotika. Akan tetapi penemuan Fleming tersebut tidak mempunyai arti dalam pengobatan praktis, sebelum Florey dan Chain serta kawan-kawannya di Oxford melakukan penelitian penerapan

antibiotika tersebut dalam terapi. Namun jauh sebelumnya manusia telah menggunakan sejumlah bahan yang pada saat ini diduga efektif karena mengandung bahan yang bersifat antibiotika.

Penemuan Vuilemnin pada tahun 1889 telah menggunakan istilah antibiosis (melawan kehidupan) yang diartikan bahwa suatu organisme menghancurkan organisme lain dalam melindungi kepentingan hidupnya sendiri. Dari kata dasar inilah berkembang menjadi antibiotika yang luas digunakan baik oleh masyarakat awam, profesi kesehatan ataupun oleh ilmu pengetahuan lainnya, sehingga istilah tersebut hampir tidak mungkin untuk didefinisikan secara memuaskan. Demikian pula Waksman pada tahun 1943 mengatakan definisi yang lebih luas digunakan, bahwa antibiotika atau bahan antibiotika adalah bahan yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan menghambat atau mematikan mikroorganisme lain. Di samping itu Benedict dan Langlyke mengatakan bahwa antibiotika adalah senyawa kimia yang diturunkan dari atau diproduksi oleh organisme hidup yang dalam kadar kecil mampu menghambat proses kehidupan mikroorganisme lain. Suatu senyawa yang digolongkan antibiotika, apabila:

1. Bahan tersebut merupakan produk metabolisme.
2. Bahan tersebut adalah produk sintesis yang dihasilkan sebagai analog struktur suatu antibiotika yang terdapat di alam.
3. Bahan tersebut mengantagonis pertumbuhan dan atau keselamatan satu spesies mikroorganisme atau lebih.

4. Bahan tersebut efektif dalam konsentrasi rendah.

### **II.3.1 Penggolongan Antibiotika**

Antibiotika dapat dibedakan berdasarkan cara kerja atau type kerja yaitu bakteristatik atau fungistatik dan bakterisida atau fungisida, sedangkan penggolongan antibiotika berdasarkan spektrum aktivitasnya, yaitu :

1. Antibiotika dengan spektrum luas, efektif baik terhadap gram positif maupun gram negatif .
2. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram positif.
3. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram negatif.
4. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan pada Mycobacteriae
5. Antibiotika yang aktif terhadap jamur
6. Antibiotika yang aktif terhadap neiplasma ( antikanker )

### **II.3.2 Mekanisme Kerja**

Berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotika dikelompokkan kedalam :

1. Antibiotika yang mengganggu serta merusak metabolisme sel mikroba.
2. Antibiotika yang menghambat sintesis dinding sel mikroba
3. Antibiotika yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba
4. Antibiotika yang menghambat sintesis protein sel mikroba
5. Antibiotika yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba.

## **II.4 Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme tanah ( 13,14,10 )**

### **II.4.1 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 gram tanah diambil sebagai sampel representatif untuk ulangan tertentu.

### **II.4.2 Karakterisasi Mikroorganisme**

Langkah pertama untuk mengkarakterisasi mikroorganisme adalah dengan mengumpulkan informasi yang berkaitan dengan sifat-sifat morfologi, kultural, dan fisiologi (biokimiawi). Karakterisasi kultural meliputi pengecatan Gram, pengukuran sel, motilitas, pengecatan spora. Identifikasi kultural meliputi sifat-sifat koloni ( bentuk, warna, kepekatan, ukuran, keadaan permukaan dan tepi koloni, Uji pH dan suhu pertumbuhan ). Identifikasi fisiologi meliputi uji KIA, Simmons Citrat, Urea, Motility, Indol, Ornithin, Phenil Alanin Deaminae, MR-VP, Lisine, xylosa, Arabinosa, Glucosa, Lactosa ,Sacarosa, Maltosa, Mannitol, Oksidase dan Katalase.

## **II.5 Pengujian Aktivitas antibiotika ( 16 )**

### **II.5.1 Metode Pengenceran**

Metode ini menggunakan teknik tabung pengenceran penghambatan pertumbuhan ( berkurangnya pertumbuhan ) yang di hasilkan oleh sampel yang di uji terhadap pertumbuhan mikroorganisme

dapat di ukur 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 mengaktivasi foto tabung yang akan mencatat persen transmittan (%T). Makin sedikit jenis sel di dalam suspensi maka makin besar intensitas cahaya yang lolos dan semakin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

### **II.5.2 Metode Difusi**

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh media. Pada media 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 :

#### **1. Metode Difusi dengan Plat 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.

#### **2. Metode Difusi dengan Cup Plate**

Prinsip cara ini sama dengan plat silinder perbedaannya disini digunakan mangkok yang dibuat langsung pada media agarnya.

#### **3. Metode Difusi dengan Kertas Saring.**



Perbedaan metode ini dengan cara-cara di atas yaitu ada metode ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,0 cm yang nanti akan dicelupkan dalam larutan contoh dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan mengukur daerah hambatan yang terjadi.

#### 4. Metode Difusi Kirby Bauer

Pinsip dan cara kerjanya sama dengan metode difusi kertas saring. Perbedaannya adalah di sini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring ke dalam cawan petri yang berukuran 15x150 mm sehingga langsung di uji dengan berbagai variasi konsentrasi dalam larutan contoh.

#### 5. Metode Agar Berlapis

Cara ini merupakan dari cara Kirby Bauer. Perbedaannya adalah pada cara ini menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama " Base Layer " tidak mengandung bakteri, sedangkan lapisan kedua " Up Layer " mengandung bakteri yang dicampurkan pada media agar.

### II.6 Uraian Mikroorganisme Uji yang Digunakan ( 17,18 )

#### II.6.1 *Escherichia coli*

|        |                      |
|--------|----------------------|
| Divisi | : Protophyta         |
| Kelas  | : Schizomycetes      |
| Bangsa | : Eubacteriales      |
| Famili | : Enterobacteriaceae |

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah bakteri gram negative, berbentuk batang pendek dengan diameter  $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$ , mempunyai flagella peritrik yang digunakan sebagai alat untuk bergerak dan ada juga yang tidak bergerak. Bakteri ini bersifat anaerobik fakultatif dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas

Bakteri ini biasa ditemukan dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan vertebrata. Di alam bebas biasa terdapat dalam air, tanah dan bahan organik. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah suhu  $37^\circ\text{C}$ .

#### II.6.2 *Staphylococcus aureus*

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat dengan diameter  $0,8-1,0 \mu\text{m}$ , tidak mempunyai alat gerak dan tidak tahan asam. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu  $10-45^\circ\text{C}$  dengan suhu optimum yaitu  $37^\circ\text{C}$ . Pada tubuh biasanya terdapat pada permukaan kulit, saluran pemapasan bagian atas, saluran



air kemih, mulut, hidung , luka yang terinfeksi, selaput lendir dan tempat-tempat lainnya .

### II.6.3 *Candida albicans*

|         |                           |
|---------|---------------------------|
| Divisi  | : Eumycophyta             |
| Kelas   | : Ascomycetes             |
| Bangsa  | : Saccharomycetales       |
| Famili  | : Cryptococcaceae         |
| Genus   | : Candida                 |
| Species | : <i>Candida albicans</i> |

Spesies candida dianggap Yeast karena tumbuh pada budaya tipikal pada ukuran 4-6  $\mu\text{m}$  , berbentuk lingkaran atau oval dibawah kondisi dan suhu terbaik. Perhatian besar lebih banyak ditujukan kepada *candida albicans* karena sering menyebabkan penyakit dibandingkan dengan spesies lainnya. Penyakit yang disebabkan oleh candida adalah Kandidiasis. Kandidiasis ini yang paling sering dijumpai pada infeksi akut dan kronik dari kulit, kuku dan membran mukosa.

## BAB III

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### III.1 Alat dan Bahan yang digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, cawan petri, Erlenmeyer (*Pyrex*), inkubator (*Memmert*), jangka sorong (*Sunlon*), *laminar air flow* (*Enviro*), Mikroskop (*Passed*), oven (*WTB Binder*), ose, paperdisc, sentrifus (*DSD 154*), shaker (*MSP VX2*), spektrofotometer UV-Vis (*Model 340*), timbangan analitik (*Chyo JL 200*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, alkohol 70 %, alkohol 96 %, aluminium foil, tetrasiklin, ketokonazol, biakan mumi *Escherichia coli*, biakan mumi *Staphylococcus aureus*, biakan mumi *Candida albicans*, hidrogen peroksida 3%, kertas pH, larutan garam fisiologis, medium nutrien agar (NA), medium glucose nutrien agar, medium nutrien broth (NB), medium produksi, medium sabaroud agar (PDA), medium maltose yeast ekstrak broth (MY-B), medium glukosa yeast agar, medium glycerol yeast ekstrak agar, medium simmon citrate agar (SCA), medium urea agar, medium sulfid indol motility (SIM), medium lisine, medium xylosa, medium arabinosa, medium muller hinton agar (MHA), medium glukosa, medium lactosa, medium sacarosa, medium manitol, medium maltosa, medium kighler iron agar (KIA), medium methyl red-vogest proskauer, natrium hidroksida, pewarna gram : Gram A, B, C

dan D, pewarna spora : malachite green, sapranin pereaksi : Methyl red dan omeara.

### **III.2 Sterilisasi Alat (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 autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

### **III.3 Pembuatan Media (10,11,22)**

Bahan – bahan yang disiapkan untuk pembuatan medium nutrien agar (NA), medium glucose nutrien agar, medium nutrien broth (NB), medium produksi, medium sabaroud agar (PDA), medium maltose yeast ekstrak broth (MY-B), medium glukosa yeast agar, medium Glycerol yeast ekstrak agar, medium simmon citrate agar (SCA), medium urea agar, medium sulfid indol motility (SIM), medium lisine, medium xylosa, medium arabinosa, medium muller hinton agar (MHA), medium glukosa, medium lactosa, medium sacarosa, medium manitol, medium maltosa, medium kighler iron agar (KIA), medium methyl red-vogest proskauer, ditimbang sesuai dengan komposisi medium yang akan dibuat, lalu dilarutkan dengan air suling steril, dan dipanaskan serta disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

### **III.4 Pengambilan dan Penyiapan Sampel**

#### **III.4.1 Pengambilan Sampel Tanah**

Sampel tanah diambil pada delapan titik pengambilan di wilayah Kabupaten Wamena dengan menggunakan sendok stainless steel yang telah disemprot dengan alkohol 70% pada kedalaman 5-15 cm dari permukaan tanah. Sampel dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan dalam *coolbox*, selanjutnya dibawa ke laboratorium.

#### **III.4.2 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  $10^{-7}$ .

#### **III.4.3 Pemiakan Mikroba Tanah**

Suspensi sampel dari setiap pengenceran diambil 1 ml secara aseptis, kemudian dimasukkan kedalam cawan petri, lalu ditambahkan medium Glycerol Yeast Ekstrak Agar dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi 7-14 hari pada suhu  $27^{\circ}\text{C}$ .

#### **III.4.4 Seleksi dan Isolasi Biakan**

Setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh yang memperlihatkan adanya hambatan berupa daerah bening disekelilingnya. 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.

#### **III.4.5 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 ml larutan NaCl fisiologis dan diinokulasikan dalam 10 ml medium pembenihan cair MY-Broth, Inokulum sebanyak 2 ml dipipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml medium produksi, diinkubasi pada suhu kamar selama 7 x 24 jam dan dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 170 rpm.

### **III.5 Penyiapan Mikroorganisme Uji**

#### **III.5.1 Peremajaan Mikroorganisme Uji**

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

Khamir uji yaitu *Candida albicans* diambil satu ose lalu diinokulasi dengan cara digoreskan pada medium PDA miring, lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 2 x 24 jam.

#### **III.5.2 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji**

Mikroba uji bakteri yang telah diremajakan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis steril lalu diukur transmittannya pada 25% T menggunakan spektrofotometer, sebagai blanko digunakan larutan NaCl

fisiologis, sedangkan untuk mikroba uji khamir dibuat suspensi dengan cara yang sama tapi dengan pengukuran transmittan pada 75 % T.

### **III.6 Pengujian Aktifitas Antibiotika**

Suspensi mikroba uji sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam 15 ml medium MHA yang telah didinginkan sekitar 25°C, dihomogenkan, kemudian dibiarkan hingga setengah memadat. Setelah itu diletakkan paperdisk yang sudah ditetesi dengan filtrat dan residu hasil fermentasi secara aseptis. 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 zone bening di sekitar paperdisk, diukur dan dicatat.

### **III.7 Karakterisasi Mikroorganisme**

#### **1. Pengamatan Morfologi Secara Makroskopik**

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

#### **2. Pengamatan Morfologi Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan Gram**

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 96% kemudian difiksasi di atas lampu spiritus, selanjutnya bakteri diambil secara aseptik dan diletakkan diatas gelas objek lalu diratakan. Difiksasi kembali di atas

lampu spiritus. Setelah dingin ditetaskan cat Gram A (kristal violet) 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Setelah itu ditetesi dengan Gram B (iodium) selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Kemudian ditetesi dengan Gram C (Alkohol 96%) selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Terakhir ditetesi dengan Gram D (Safranin) selama 45 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan kelebihan air dihilangkan dengan kertas serap. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat bentuk dan warna sel dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 x.

### 3. Pengamatan Morfologi Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan spora.

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 96% kemudian difiksasi di atas lampu spiritus. Diambil secara aseptis biakan dan diletakkan di atas gelas objek lalu diratakan. Difiksasi kembali diatas lampu spiritus dan setelah dingin ditetaskan 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 diatas kertas serap. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya spora, bentuk serta letak spora didalam sel.

### 4. Uji Kigler Iron Agar

Dengan ose steril pertumbuhan bakteri diambil sedikit dengan ujungnya kemudian diinokulasikan kedalam dasar agar kemudian ke seluruh permukaannya. Selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada

suhu 37 °C. Pembacaan hasil berdasarkan terjadinya fermentasi dengan pembentukan warna pada dasar dan lereng pada media serta ada tidaknya pembentukan gas dan H<sub>2</sub>S pada media.

#### 5. Uji Citrat

Medium SCA dibuat agar miring dan diinokulasikan dengan biakan mikroba tersebut secara goresan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Uji positif jika terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru.

#### 6. Uji Urea

Medium urea dibuat agar miring dan diinokulasikan dengan biakan mikroba tersebut secara goresan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Uji positif jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah lembayung.

#### 7. Uji Motilitas, Indol dan Ornithin

Medium MIO pada agar tegak diinokulasikan biakan murni secara tusukan dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya hambatan diujung tusukan, untuk indol permukaan ditetesi reagens kovac sekitar 0,25 ml. Uji positif jika terjadi cincin merah. Sedangkan untuk ornithin positif jika terjadi warna violet pada seluruh medium.

#### 8. Uji Merah Metil

Medium MR-VP dalam tabung reaksi diinokulasikan dengan biakan mikroba dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam,



suhu 37 °C. Pembacaan hasil berdasarkan terjadinya fermentasi dengan pembentukan warna pada dasar dan lereng pada media serta ada tidaknya pembentukan gas dan H<sub>2</sub>S pada media.

#### 5. Uji Citrat

Medium SCA dibuat agar miring dan diinokulasikan dengan biakan mikroba tersebut secara goresan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Uji positif jika terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru.

#### 6. Uji Urea

Medium urea dibuat agar miring dan diinokulasikan dengan biakan mikroba tersebut secara goresan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Uji positif jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah lembayung.

#### 7. Uji Motilitas, Indol dan Ornithin

Medium MIO pada agar tegak diinokulasikan biakan murni secara tusukan dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya hambatan diujung tusukan, untuk indol permukaan ditetesi reagens kovac sekitar 0,25 ml. Uji positif jika terjadi cincin merah. Sedangkan untuk ornithin positif jika terjadi warna violet pada seluruh medium.

#### 8. Uji Merah Metil

Medium MR-VP dalam tabung reaksi diinokulasikan dengan biakan mikroba dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam,

kemudian ditetesi dengan methyl red. Adanya perubahan warna medium menjadi merah menunjukkan mikroba tersebut memproduksi asam.

#### 9. Uji Vogest Proskauer

Medium MR-VP dalam tabung reaksi diinokulasikan dengan biakan mikroba dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam, kemudian ditetesi dengan reagens Barrit yaitu 10 tetes reagens A dan 10 tetes reagens B lalu dikocok selama 30 detik. Positif jika terbentuk warna lembayung.

#### 10. Uji Lysine Dekarboksilase

Dengan ose steril pertumbuhan bakteri diambil dan diinokulasikan kedalam Lysine Iron Agar yang disukkan ke dasar, kemudian ditarik dan dioleskan pada permukaan medium, selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C, jika seluruh medium berwarna ungu maka tes dinyatakan positif sedangkan jika bagian dasar berwarna kuning tes dinyatakan negatif.

#### 11. Uji Glukosa, Laktosa, Sacarosa, Maltosa dan Manitol, Xylosa dan Arabinosa

Dengan ose steril pertumbuhan bakteri diambil dan diinokulasikan kedalam medium Glukosa, Laktosa, Sacarosa, Maltosa dan Manitol, Xylosa dan Arabinosa selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Perubahan warna dari merah ke kuning menyatakan tes positif.

#### 12. 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.

#### 13. Uji Oksidase

Stik tes oksidase diolesi dengan koloni bakteri dengan menggunakan ose, terjadinya warna biru violet tua dalam waktu 10 detik menyatakan tes positif.

#### 14. Uji pH Pertumbuhan

Medium Nutrien Broth dituang ke dalam tabung reaksi, kemudian diatur pH-nya mulai dari pH 3 - 11 dengan menambahkan HCl 1N dan NaOH 1N, dimiringkan dan dibiarkan membeku. Diinokulasikan dengan biakan dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Uji positif jika terdapat pertumbuhan.

#### 15. Uji Suhu Pertumbuhan

Medium Nutrien Broth dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai memadat. Diinokulasikan dengan biakan secara goresan kemudian diinkubasikan pada suhu pada berbagai suhu pertumbuhan bakteri.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil

Dari hasil penelitian sampel tanah dengan kode sampel (A,B,C,D,E,F,G,H) yang diambil sebanyak 8 titik pengambilan dilakukan pengujian karakteristik yaitu pengecatan gram, hanya 6 isolat (kode sampel A, B, D, F, G, dan H) yang termasuk dalam gram positif yang menunjukkan warna ungu pada pengamatan mikroskop. Pada tahap uji lanjutan 6 isolat ini memperlihatkan adanya zona hambatan, dan 2 isolat diantaranya yaitu isolat A dan B memperlihatkan zona hambatan terbesar yang berbeda.

Hasil pengujian aktivitas antibiotik isolat A memberikan hambatan terhadap *Escherichia coli* adalah 10,2 mm daya hambat terbesar terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus* adalah 5,3 mm dan terhadap mikroba uji *Candida albicans* adalah 13,4 mm. Isolat B memberikan hambatan terhadap mikroba uji *Escherichia coli* adalah 10,2 mm daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 13,4 mm dan daya hambat terhadap mikroba uji *Candida albicans* adalah 12,4 mm. Hasil Isolasi dan identifikasi serta pengujian aktivitas antibiotika dapat dilihat selengkapnya pada tabel 1, 2, 3, 4, dan 5.

Penentuan karakteristik dan hasil uji identifikasi diperoleh hasil sebagai berikut :

**Isolat A :** Isolat A secara makroskopik koloni pada media secara umum adalah koloni kecil sampai sedang, berwarna krem, permukaan cekung, dengan pinggiran yang rata. Secara mikroskopik termasuk bakteri bentuk batang (basil), gram positif, ada endospora yang terletak pada ujung sel. Pada uji indol, methyl red, vogest-proskauer dan oksidase memberikan hasil negatif. Pada uji motilitas, sitrat, metil merah dan katalase memberikan hasil positif. Pada test karbohidrat dapat memfermentasi glukosa, xyloza dan arabinosa tetapi tidak memfermentasi maltosa, lactosa, sukrosa dan mannitol. Pada Uji suhu pertumbuhan ada pada suhu 25° C - 37°C dengan suhu optimum pertumbuhan 25 - 37°C sedangkan pada uji pH pertumbuhan terlihat pada pH 7,0-9,0 dengan pH optimum 7,0-8,0

**Isolat B :** Secara makroskopik koloni pada media secara umum adalah koloni sedang, permukaan cembung, dengan pinggiran yang rata. Secara mikroskopik merupakan bakteri bentuk batang (basil), gram positif, dan tidak membentuk spora. Pada media Kigler Iron Agar menghasilkan reaksi alkali pada lereng media, asam pada dasar media, tidak menghasilkan gas dan H<sub>2</sub>S. Pada uji sitrat, urea, motility, indol, ornitin, methyl red, phenil alanin deaminase, vogest-proskauer, katalase dan oksidase memberikan hasil negatif. Pada test karbohidrat dapat

memfermentasi xylosa dan arabinosa tetapi tidak memfermentasi glukosa, maltosa, lactosa, sukrosa dan mannitol. Pada Uji suhu pertumbuhan ada pada suhu 25° C - 37 °C dengan suhu optimum pertumbuhan 25 - 37°C sedangkan pada uji pH pertumbuhan terlihat pada pH 7,0-9,0 dengan pH optimum 7,0-8,0.

#### **IV.2 Pembahasan**

Dalam penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap pengujian yakni isolasi dan karakteristik *Actinomycetes* dan 2 tahap lanjutan yaitu fermentasi biakan murni dari hasil isolasi biakan murni dan pengujian aktivitas antibiotika.

Dalam tahap isolasi diperoleh 6 koloni yang memberikan adanya hambatan berupa zona bening disekitarnya. Dari 6 koloni tersebut dilanjutkan dengan pengujian karakteristik yaitu pengecatan Gram untuk menentukan apakah isolat tersebut termasuk dalam Gram positif atau Gram negatif. Setelah melewati proses pemberian Cat A ( Kristal violet ), cat B ( Iodium), Cat C ( Alkohol ) serta cat D ( Safranin ) ternyata Isolat A dan B termasuk ke dalam bakteri gram positif yang ditunjukkan pada mikroskop yaitu bakteri berwarna ungu. Hal ini disebabkan bakteri gram positif mempunyai kadar lipid dan protein yang rendah sehingga mengalami denaturasi protein pada dinding selnya oleh pencucian dengan alkohol sehingga protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil

sehingga kompleks kristal violet dan Iodium dipertahankan karenanya sel bakteri berwarna biru atau ungu. (10)

Pada tes biokimia dengan menggunakan media Kigler Iron Agar, isolat A dan B menghasilkan reaksi asam pada lereng media, asam pada dasar media, dan tidak menghasilkan gas dan H<sub>2</sub>S. Pada uji sitrat terlihat bahwa kedua isolat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Uji urea menunjukkan bahwa kedua isolat tidak menghasilkan enzim urease yang dapat memecah urea menjadi NH<sub>3</sub> dan CO<sub>2</sub>. Uji indol menunjukkan kedua isolat tidak menghasilkan indol dari asam amino triptopan, menghasilkan acetylmethylcarbinol atau aseton pada uji vogest-proskauer.

Pada uji Lysine, isolat A dan B menghasilkan enzim yang dapat mendekarboksilasi lysine sehingga menyebabkan perubahan pH dari asam menjadi alkali, Isolat A dan B bersifat motil . Isolat A dan B menghasilkan enzim katalase sehingga dapat mengubah hidrogen peroksida yang bersifat racun menjadi molekul air dan oksigen sehingga sifat toksiknya akan hilang serta menghasilkan enzim yang mengandung besi yang dapat mereduksi oksigen. Pada uji karbohidrat isolat A dapat memfermentasi gula dan isolat B tidak dapat memfermentasi glukosa. Kedua isolat memfermentasi xylosa dan arabinosa tetapi tidak memfermentasi laktosa, sukrosa, manitol dan maltosa.

Dari penelitian ini telah berhasil diisolasi 2 jenis *Actinomycetes* yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba uji yang dapat menjadi indikasi bahwa *Actinomycetes* dapat menghasilkan

senyawa aktif antibiotik dimana penghambatan terhadap mikroba uji ditandai dengan adanya zona bening disekitar pertumbuhannya.

Hasil fermentasi isolat disentrifus terlebih dahulu untuk memisahkan filtrat dan residu, hal ini dilakukan karena mikroorganisme dapat menghasilkan antibiotika diluar sel (ekstra sel) berupa bahan-bahan toksik yang dapat larut dan dikeluarkan dari sel selama proses pertumbuhan mikroorganisme (eksotoksin) yang biasanya terdapat pada filtrat. 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 filtrat maupun residu.

Pengujian aktivitas antibiotika dilakukan berdasarkan metode difusi agar yang menggunakan paperdisk berdiameter 5 mm dan memiliki ketebalan 0,5 mm. Daya kerja antibiotika dapat dilihat pada luasnya daerah hambatan yang terbentuk setelah masa inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dengan menggunakan pembanding tetrasiklin untuk mikroba uji bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), serta pada suhu kamar menggunakan pembanding ketokonazol untuk mikroba uji khamir (*Candida albicans*).

Pengukuran daya hambat filtrat dan residu hasil fermentasi terhadap mikroba uji *Escheria coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* menunjukkan aktivitas dimulai pada jam ke 72 – 120 karena pada



tahap ini mikroorganisme akan mencapai fase stasioner dimana pada fase ini, mikroorganisme telah kekurangan nutrisi sehingga mikroorganisme tersebut berusaha mempertahankan hidupnya dengan menghasilkan produk metabolit sekunder berupa bahan-bahan toksik yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang lain. Sedangkan pada jam ke 144 – 168, mikroorganisme tidak memberikan aktifitas hal ini disebabkan karena pada fase ini mikroorganisme telah mengalami fase kematian. (19)

Berdasarkan hasil penelitian di atas yang sesuai dengan pustaka (24, 25, 26) bahwa genus *Streptomyces*. Untuk Genus *Streptomyces* mempunyai ciri-ciri koloni kecil, terpisah-pisah, permukaan licin, pinggir rata dan membentuk pigmen, basil gram positif dan membentuk spora, pada uji citrat variabel, Uji urea negatif, bersifat motil, katalase positif. Pada test karbohidrat dapat memfermentasi glukosa, xylosa, arabinosa, tetapi tidak memfermentasi lactosa, sukrosa, manitol dan maltosa selengkapnya di sajikan pada tabel 1. Untuk Genus *Actinomyces* mempunyai ciri-ciri Koloni kecil sampai sedang, halus, permukaan cembung, dengan tepi yang tampak datar, berupa basil gram positif serta tidak berspora. Pada uji citrat negatif, uji urea negatif, bersifat motil tidak menghasilkan indol, ornithin negatif, uji methyl red negatif, uji Vogest-Proskauer positif, lysine positif, katalase variabel, oksidase negatif, PAD negatif. Pada test karbohidrat dapat memfermentasi maltosa, sukrosa dan

mannitol, dan tidak memfermentasi lactosa serta glukosa, xylosa, dan arabinosa variabel. Selengkapnya di sajikan pada tabel 2.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Koloni mikroba yang diisolasi dari tanah asal Wamena – Papua dapat menghasilkan antibiotika.
2. Antibiotika dari Isolat A memberi Daya Hambat yang paling besar (13,4 mm) terhadap pertumbuhan mikroba Uji *Candida albicans* dan termasuk kedalam genus *Streptomyces*.
3. Antibiotika dari Isolat B memberi Daya Hambat yang paling besar (12,4 mm) terhadap pertumbuhan mikroba Uji *Candida albicans* dan termasuk kedalam genus *Actinomyces*.

#### V.2 Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui spesies dari isolat A dan B.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ganiswara, G. S., 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Fakultas Kedokteran Indonesia. Jakarta. 571.
2. Usman, Suwandi. *Mikroorganisme Penghasil Antibiotik* . Pusat Penelitian dan Pengembangan PT. Kalbe Farma. Jakarta. <http://www.Kalbe.Co.id/.../58-13.html>.61 k. di akses 23 maret 2008.
3. Dwijoseputro, D., 1990. *Dasar – dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan. Malang . Surabaya.
4. Pelczar, M.J., 1988 . *Dasar – dasar Mikrobiologi* . Jilid II. Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo dkk. UI Press. Jakarta.
5. Sapoetro, H., 1987. *Produksi Antibiotik di Dunia dan Indonesia. Seminar Antibiotika*. ITB Bandung.
6. Gani, A. I. 1990. Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Tanah Penghasil Antimikroba. *Skripsi*. Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makasar.
7. Jamaludin. 1993. Isolasi dan Identifikasi Mikroba tanah sebagai Penghasil Antifungi di Beberapa Kabupaten Propinsi Sulawesi Selatan, *Skripsi*, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makasar.
8. Hasnawati. 2001 . Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Tanah Penghasil Antibiotika Asal Kecamatan Suppa Kabupaten Pinrang. *Skripsi*. Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makasar.
9. Waluyo,L, 2004 . *Mikrobiologi Umum* .Universitas Muhammadiyah. Malang. 42-45
- 10., Lay, W. B., 1994 , *Analisis Mikroba di Laboratorium* . PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.23-25
11. Bridson, E. Y., 1998 . *The Oxoid Manual*. Edisi 8. Oxoid Limited. Wade Road. England. 155, 160, 161, 170, 189
- 12 Dirjen Pendidikan Tinggi. 1991. *Kimia Tanah* . Departemen P & K .1-2
13. Rao, N.S.S., 1994. *Mikroorganisme tanah dan pertumbuhan tanaman*. Edisi II. UI press. Jakarta.13, 38, 50

14. Irianto, K., 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*. Jilid kedua. CV. Yrama widya. Bandung .6.
15. Baker, E., 1974. *Handbook Of Bacteriology Technique*. Second Editon. West Minter Medical School. London. 67-75.
16. Buchanan, R.E and Gibbons N.E.,1974. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*. Eight Edition. William and Wilkins Company. Baltimore.
17. Dirjen POM. (1995)., *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 410, 850, 896
18. Jawetz, Melnick dan Aldeberg's, 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerbit Salemba Medika . Jakarta . 311
19. Djide, M. N., 2006 . *Mikrobiologi Farmasi Dasar*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Fakultas MIPA. Universitas Hasanuddin Makasar. Hal.246
20. Hanafiah K. A., 2005 . *Dasar –dasar Ilmu Kimia Tanah*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta. 207
- 21 Tjay, T.H. Rahardja, K., 2002 . *Obat-obat Penting*. Edisi V. Cetakan I. Penerbit PT Elex Media Computindo. Jakarta. 63
21. Parrot, E.L., 1970 . *Pharmaceutical Technology Fundamental Of Technology*. Burges Publishing Company. USA. 2
22. Merck. 1998. *Culture Media Handbook*. E-Merck-Frankfurter Strasse. 250-961. Darmastat-I Federal Republik Of Germany. Hal 123, 124, 130, 131, 143, 159, 163
23. Waluyo, L., 2005. *Mikrobiologi Lingkungan*. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang. 298
- 24 Holtt J.G., Krieg N.r., Snenath Peter.H.a., Stanley J.T. Williams.S.Stanley. 1994. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams And Wilkins Company, Baltimore. USA. 668, 670-671, 702, 571-572, 585
- 25 Mahon C.R., Manuselis, G., 1995. *Text Book of Diagnostic Microbiology*. W.B saunders Company. Pannsylvania. 386

26. Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S.( 2007). *Bailey dan Scott's : Diagnostic Microbiology*. 12<sup>th</sup>. Mosby Elsevier. Missouri. 306, 311-320

Tabel 1. Hasil Identifikasi Actinomycetes (Isolat A) Dari Tanah Asal Papua - Wamena

| No | Pengujian   | Isolat A   | Genus Nocardia (24, 25)  |
|----|---|--|--|
| 1  | Makroskopik   | Koloni kecil sampai sedang, berwarna krem, pinggiran rata, permukaan cekung.     | Koloni kecil, terpisah-pisah, permukaan licin, pinggir rata dan membentuk pigmen |
| 2  | Mikroskopik   | Basil Gram Positif dan memiliki spora yang terletak di ujung (terminal)          | Basil Gram positif dan menghasilkan spora  |
| 3  | Reaksi TSI/KIA  | Lereng : Alkali<br>Dasar : Alkali<br>Gas : Negatif<br>H <sub>2</sub> S : Negatif | Lereng : Alkali<br>Dasar : Alkali<br>Gas : Negatif<br>H <sub>2</sub> S : Negatif |
| 4  | Simon's citrate   | Positif  |  |
| 5  | Motiliti  | Positif  |  |
| 6  | Ornithin  | Negatif  |  |
| 7  | Methyl Red  | Positif  |  |
| 8  | Voges-Proskauer   | Negatif  |  |
| 10 | Katalase  | Positif  | Positif  |
| 11 | Oxidase   | Negatif  |  |
| 12 | Test Karbohidrat<br>Glukosa<br>Laktosa<br>Sukrosa<br>Maltosa<br>Mannitol<br>Xylosa<br>Arabinosa | Positif<br>Negatif<br>Negatif<br>Negatif<br>Negatif<br>Positif<br>Positif        | Positif<br>Negatif<br>Negatif<br>Negatif   |
| 13 | Suhu Pertumbuhan<br>5 - 8<br>25-28<br>37<br>40  | -<br>+<br>++++<br>-  | Suhu pertumbuhan maksimal 35°C   |
| 14 | pH Pertumbuhan<br>5<br>7<br>9   | ++<br>+++<br>+   | pH pertumbuhan optimum 6,0 – 10,0  |

Tabel 2. Hasil Identifikasi Actinomycetes (Isolat B) dari Tanah asal Wamena – Papua

| No | Pengujian  | Isolat B   | Genus Actinomyces (24, 26)   |
|----|--|--|--|
| 1  | Makroskopik  | Koloni sedang, pinggiran rata, permukaan cembung                               | Koloni kecil sampai sedang, halus, permukaan cembung, dengan tepi yang tampak datar. |
| 2  | Mikroskopik  | Basil Gram Positif, tidak terdapat spora                                       | Basil Gram positif dan tidak membentuk spora   |
| 3  | Reaksi TSI/KIA   | Lereng : Alkali<br>Dasar : Asam<br>Gas : Negatif<br>H <sub>2</sub> S : Negatif | Lereng : Alkali<br>Dasar : Asam<br>Gas : Negatif<br>H <sub>2</sub> S : Negatif       |
| 4  | Simon's citrate  | Negatif  | Negatif  |
| 5  | Motiliti   | Negatif  | Negatif  |
| 6  | Methyl Red   | Negatif  | Negatif  |
| 7  | Voges-Proskauer  | Negatif  | Positif  |
| 8  | Katalase   | Negatif  | Negatif  |
| 9  | Oxidase  | Negatif  | Negatif  |
| 10 | Tes Karbohidrat<br>Glukosa<br>Laktosa<br>Sukrosa<br>Maltosa<br>Mannitol<br>Xylosa<br>Arabinosa | Negatif<br>Negatif<br>Negatif<br>Negatif<br>Negatif<br>Positif<br>Positif      | Negatif<br>Negatif<br>Positif<br>Positif<br>Positif<br>Positif<br>Positif            |
| 11 | Suhu Pertumbuhan<br>5-8<br>25-28<br>37<br>40   | -<br>++<br>+++<br>-  | Suhu pertumbuhan maksimal 25 °-37° C   |
| 12 | pH Pertumbuhan<br>5<br>6<br>7<br>9   | -<br>+++<br>+++<br>+<br>-  | pH pertumbuhan optimum 6,5 – 8,0   |



Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi terhadap Mikroba Uji *Escherichia coli* (milimeter)

| Lama Fermentasi<br>( Jam ) | Isolat  |        |         |        |
|----------------------------|---------|--------|---------|--------|
|                            | A       |        | B       |        |
|                            | Filtrat | Residu | Filtrat | Residu |
| 24                         | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 48                         | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 72                         | 0       | 9,5    | 0       | 13,0   |
|                            | 0       | 9,8    | 0       | 13,0   |
|                            | 0       | 9,2    | 0       | 13,0   |
| Rata-rata                  | 0       | 9,5    | 0       | 13,0   |
| 96                         | 10,5    | 0      | 0       | 10,0   |
|                            | 10,0    | 0      | 0       | 10,0   |
|                            | 10,5    | 0      | 0       | 10,5   |
| Rata-rata                  | 10,33   | 0      | 0       | 10,17  |
| 120                        | 6,2     | 0      | 5,2     | 0      |
|                            | 5,0     | 0      | 4,7     | 0      |
|                            | 5,1     | 0      | 5,9     | 0      |
| Rata-rata                  | 5,7     | 0      | 5,3     | 0      |
| 144                        | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 168                        | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |

Tabel 4. Hasil Pengukuran Zona Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi terhadap Mikroba Uji *Staphylococcus aureus* (milimeter)

| Lama Fermentasi<br>( Jam ) | Isolat  |        |         |        |
|----------------------------|---------|--------|---------|--------|
|                            | A       |        | B       |        |
|                            | Filtrat | Residu | Filtrat | Residu |
| 24                         | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 48                         | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 72                         | 0       | 5,4    | 0       | 13,7   |
|                            | 0       | 5,2    | 0       | 13,0   |
|                            | 0       | 5,0    | 0       | 13,5   |
| Rata-rata                  | 0       | 5,5    | 0       | 13,4   |
| 96                         | 0       | 5,3    | 0       | 13,6   |
|                            | 0       | 5,2    | 0       | 13,1   |
|                            | 0       | 5,4    | 0       | 13,0   |
| Rata-rata                  | 0       | 5,3    | 0       | 13,2   |
| 120                        | 4,9     | 0      | 0       | 10,2   |
|                            | 4,3     | 0      | 0       | 10,6   |
|                            | 4,0     | 0      | 0       | 10,1   |
| Rata-rata                  | 4,4     | 0      | 0       | 10,3   |
| 144                        | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 168                        | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |

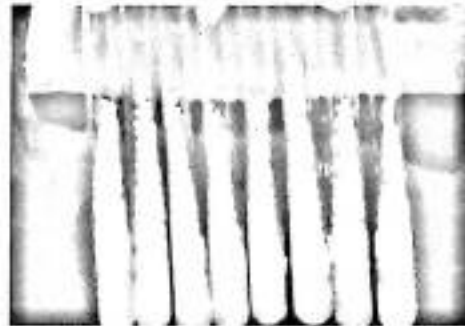
Tabel 5. Hasil Pengukuran Zona Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi terhadap Mikroba Uji *Candida albicans* (milimeter)

| Lama Fermentasi<br>( Jam ) | Isolat  |        |         |        |
|----------------------------|---------|--------|---------|--------|
|                            | A       |        | B       |        |
|                            | Filtrat | Residu | Filtrat | Residu |
| 24                         | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 48                         | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 72                         | 0       | 10,3   | 0       | 9,8    |
|                            | 0       | 10,5   | 0       | 9,2    |
|                            | 0       | 9,9    | 0       | 9,5    |
| Rata-rata                  | 0       | 10,2   | 0       | 9,5    |
| 96                         | 0       | 13,3   | 0       | 12,9   |
|                            | 0       | 13,9   | 0       | 12,4   |
|                            | 0       | 13,0   | 0       | 12,0   |
| Rata-rata                  | 0       | 13,4   | 0       | 12,4   |
| 120                        | 10,2    | 0      | 9,5     | 0      |
|                            | 10,0    | 0      | 9,7     | 0      |
|                            | 10,1    | 0      | 9,0     | 0      |
| Rata-rata                  | 10,1    | 0      | 9,4     | 0      |
| 144                        | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |
| 168                        | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
|                            | 0       | 0      | 0       | 0      |
| Rata-rata                  | 0       | 0      | 0       | 0      |

## DAFTAR GAMBAR



A

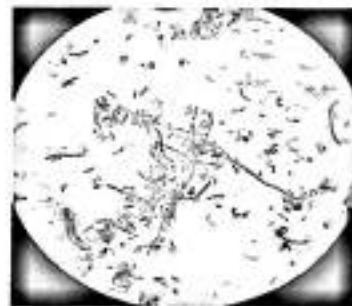


B

Gambar 1. Foto Sampel Tanah (A) dan Isolat Stok (B)



A

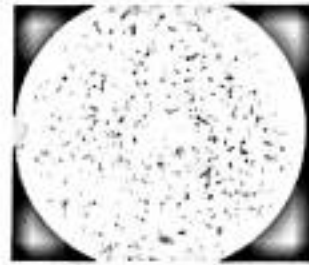


B

Gambar 2. (A) Hasil Pertumbuhan Isolat A pada Medium GYEA  
(B) Morfologi secara Mikroskopik dengan Perbesaran 100x



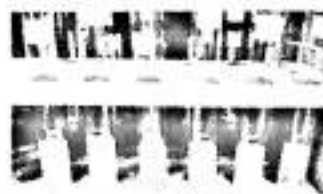
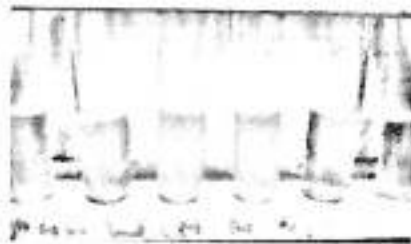
A



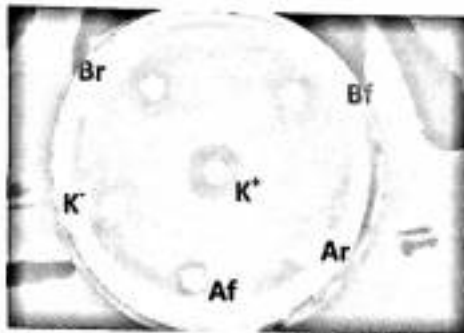
B

Gambar 3. (A) Pertumbuhan Isolat B pada Medium GYEA

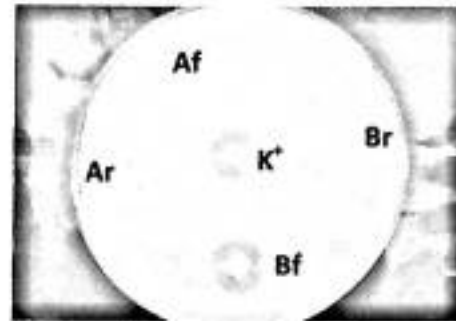
(B) Morfologi secara Mikroskopik dengan Perbesaran 100x



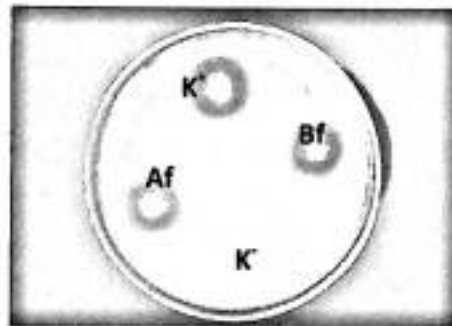
Gambar 4. Hasil test biokimia Isolat A dan B pada berbagai media Identifikasi



*Echerichia coli*



*Staphylococcus aureus*

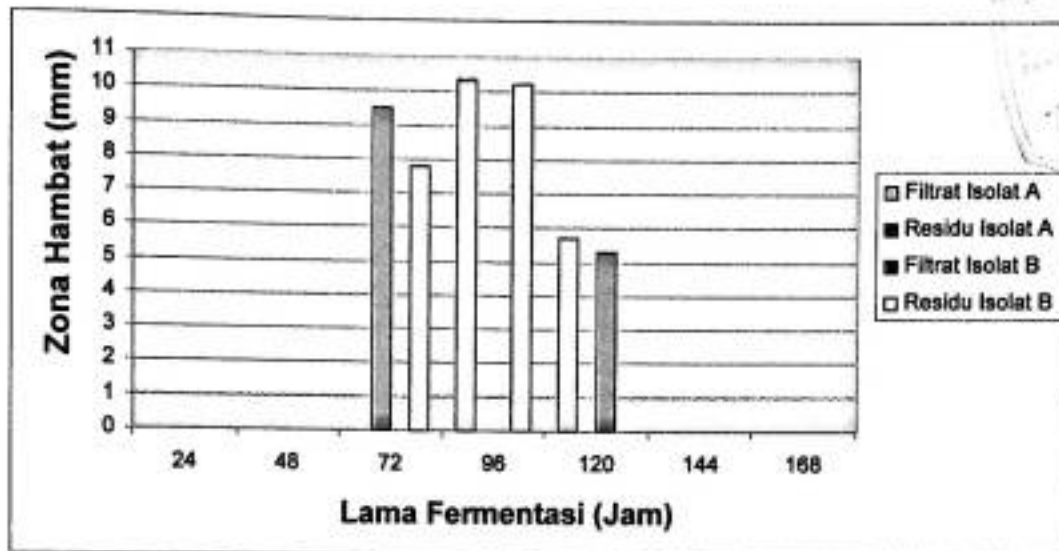


*Candida albicans*

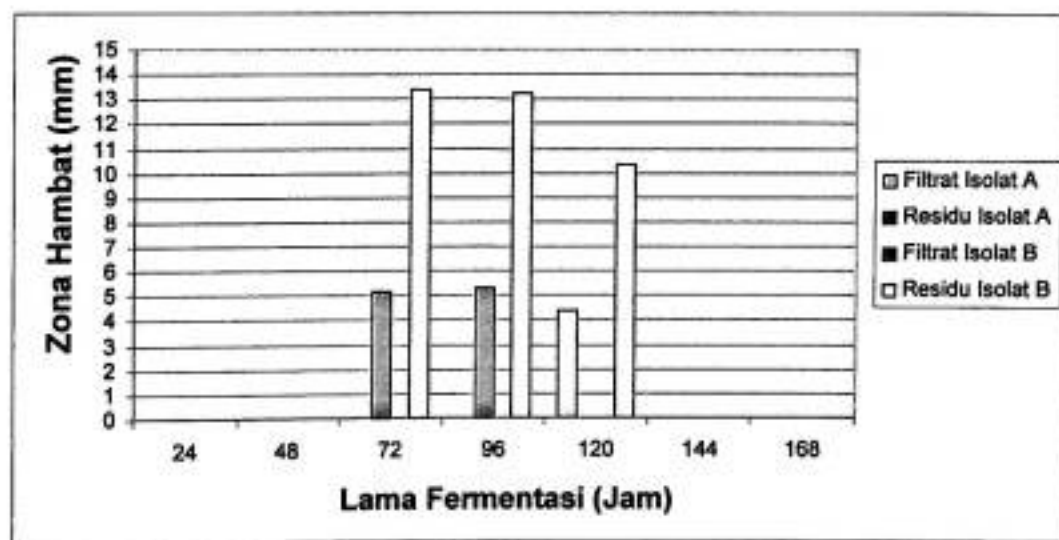
Gambar 5. Foto zona hambat dari aktifitas antibiotik hasil fermentasi actinomycetes dari tanah asal Wamena-Papua terhadap mikroba uji selama 24 – 168 jam

Keterangan :

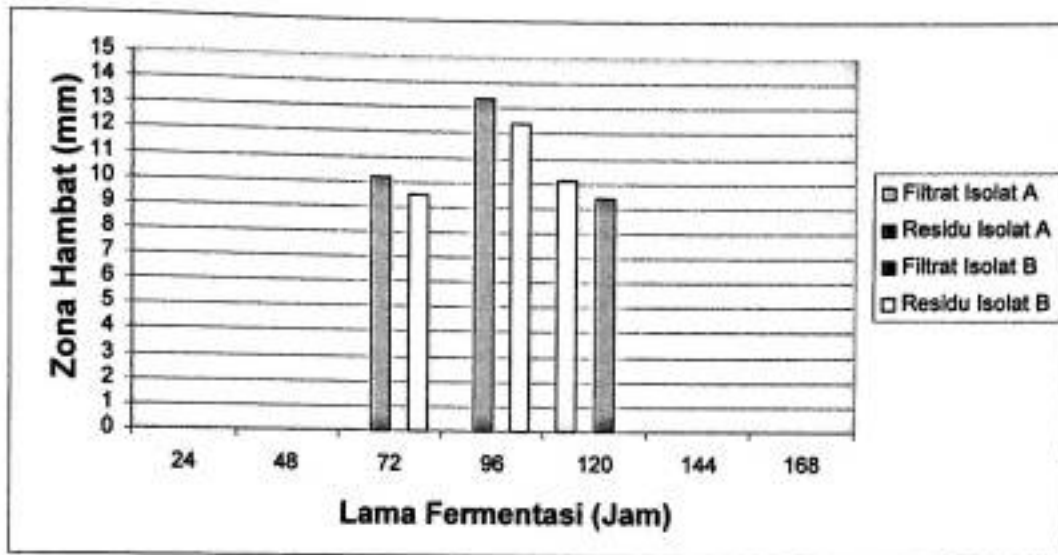
Af = isolat A filtrat, Bf = Isolat B filtrat, Ar = Isolat A residu, Br = Isolat B residu, K<sup>+</sup> = kontrol positif, K<sup>-</sup> = kontrol negatif.



Gambar 6. Histogram Hasil Pengukuran Zona Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi terhadap Mikroba Uji *Escherichia coli*.



Gambar 7. Histogram Hasil Pengukuran Zona Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi terhadap Mikroba Uji *Staphylococcus aureus*.



Gambar 8. Histogram Hasil Pengukuran Zona Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi terhadap Mikroba Uji *Candida albicans*.



## DAFTAR LAMPIRAN

### LAMPIRAN 1

#### KOMPOSISI MEDIUM

1. Nutrien Agar (NA)

Bahan-bahan : pepton 5,0 gram, ekstrak daging 15 gram, agar 15,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,0 \pm 0,2$

2. Nutrien Broth

Bahan-bahan : Meat ekstrak 10,0 gram, pepton 10,0 gram, natrium klorida 5,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,5 \pm 0,2$

3. Medium Produksi

Bahan-bahan : glukosa 20,0 gram, pati terlarut 10,0 gram, dekstrosa 1,0 gram, tepung kedelai 25,0 gram, ekstrak ragi 1,0 gram, NaCl 2,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,0 \pm 0,2$

4. Glukosa Yeast Ekstrak Agar

Bahan-bahan : Glucosa 4,0 gram, ekstrak ragi 2,0 gram, natrium klorida 0,2 gram, agar 15,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,0 \pm 0,2$

5. Glycerol Yeast Extract Agar

Bahan-bahan : Gliserol 1,0 gram, ekstrak khamir 0,4 gram,  $K_2HPO_4$  0,02 gram, pepton 5,0 gram, agar 3,0 gram, air suling ad 200 ml pH  $6,0 \pm 0,1$ .

6. Sabaroud Agar (PDA)

Bahan-bahan : pepton 10,0 gram, D(+) glukosa 40,0 gram, agar 15,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $5,6 \pm 0,1$

7. Simmon Citrate Agar

Bahan-bahan : magnesium sulfat 0,2 gram, ammonium fosfat 1,0 gram, dipotasium fosfat 1,0 gram, natrium sitrat 2,0 gram, natrium klorida 5,0 gram, bromo-thymol-blue 0,08 gram, agar 15,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,0 \pm 0,2$

8. Metil Red – Vogel Preskauer

Bahan-bahan : Pepton from meat 7,0 gram, D(+) Glucosa 5,0 gram, phosphate buffer 5,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $6,9 \pm 0,1$

9. Maltose Yeast Ekstrak Broth

Bahan-bahan : maltosa 10,0 gram, ekstrak ragi 4,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,0 \pm 0,2$

10. Muller Hinton Agar (MHA)

Bahan-bahan : Infus daging 2,0 gram, Casein hidrolisat 17,5 gram, pati 1,5 gram, agar 13,5 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,4 \pm 0,1$

11. Urea Agar

Bahan-bahan : Pepton 1,0 gram, D(+) glukosa 1,0 gram, natrium klorida 5,0 gram, kalium dihidrogen fosfat 2,0 gram, merah fenol 0,012 gram, agar 12,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $6,8 \pm 0,1$

## 12. Arginin

Bahan-bahan : pepton 5,0 gram, ekstrak ragi 3,0 gram, L-Lysine 10,0 gram, ferri amonium sitrat 0,5 gram, natrium tiosulfat 0,04 gram, bromo kresol ungu 0,02 gram, agar 14,5 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $6,7 \pm 0,2$

## 13. xylosa

Bahan-bahan : ekstrak ragi 3,0 gram, L-Lysine HCl 5,0 gram, xylosa 3,75 gram, lactosa 7,5 gram, sukrosa 7,5 gram, natrium deoksikolat 1,0 gram, natrium hidroksida 5,0 gram, natrium tiosulfat 6,0 gram, ferri amonium sulfat 0,8 gram, merah fenol 0,008 gram, agar 12,5 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $6,7 \pm 0,2$

## 14. Glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, manitol, arabinosa

Bahan-bahan : pepton 4,0 gram, natrium klorida 2,0 gram, tiap media 1,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $6,7 \pm 0,2$

## 15. Medium Kighler Iron Agar (KIA)

Bahan-bahan : pepton dari casein 15,0 gram, pepton dari jaringan hewan 15,0 gram, ekstrak ragi 3,0 gram, pepton 20,0 gram, natrium klorida 5,0 gram, laktosa 10,0 gram, sukrosa 10,5 gram, besi(III) amonium sitrat 0,5 gram, natrium tiosulfat 0,3 gram, merah fenol 0,024 gram, agar 12,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH  $7,4 \pm 0,2$

## LAMPIRAN 2

### SKEMA KERJA

