

Aktivitas Cairan Kultur Bakteri Penghasil Antibiotik (Isolat P301) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder

(Culture Broth Activity of Antibiotic Producer Bacteria (P301 Isolate) Against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and Time Optimization of Secondary Metabolite Production)

NANIK SULISTYANI*, IIN NARWANTI

**Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
Kampus III: Jl. Prof. Dr. Soepomo Janturan Umbulharjo Yogyakarta 55164.**

Diterima 2 September 2014, Disetujui 8 April 2015

Abstrak: Isolat P301 adalah bakteri penghasil antibiotik yang diisolasi dari rizosfer tanaman padi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari cairan kultur isolat P301 terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan mengetahui profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder dari isolat P301 sebagai penghasil antibiotik. Aktivitas antibakteri ditetapkan dengan metode sumuran dengan mengukur zona hambat di sekitar sumuran. Penentuan profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder yaitu dengan membuat grafik hubungan antara diameter zona hambat dengan waktu inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cairan kulturisolat P301 mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Berdasarkan uji aktivitas terhadap *S. aureus*, waktu produksi antibiotik yang optimal adalah setelah diinkubasi minimal selama 11 hari.

Kata kunci: Isolat P301, metabolit sekunder, optimasi waktu, *Staphylococcus aureus*.

Abstract: Isolate P301 is an antibiotic producer bacteria isolated from rice plant ryzospher. This study was intended to identify the antibacterial activity of its culture broth againts *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and to identify the time optimization profileof secondary metabolite production from isolate P301 as producer antibiotics. Antibacterial activity was carried out using cup plate method by measuring the inhibitory zone around the wells. Optimization profile of production time of secondary metabolite was determined by plotting of the inhibition zone diameter versus incubation time. The result showed that isolate P301 culture broth inhibited the growth of *S. aureus*. According to the activity assay againts *S. aureus*, the optimum time for antibiotic production is after doing incubation for at least 11 days.

Keywords: Isolate P301, secondary metabolite, time optimization, *Staphylococcus aureus*.

* Penulis korespondensi, Tlp. (0274) 563515 ext. 3107
e-mail: naniksulistyani@gmail.com

PENDAHULUAN

MULTIRESISTENSI bakteri terhadap antibiotik menimbulkan masalah yang serius pada pengobatan penyakit infeksi. Mikroba multiresisten menjadi sulit diobati dengan antibiotik yang ada, sehingga menyebabkan penyakit menjadi semakin parah dan bahkan menyebabkan kematian pasien. Oleh karena itu, pencarian antibiotik baru merupakan hal yang harus dilakukan untuk mengatasi hal tersebut⁽¹⁻³⁾.

Mikroorganisme penghasil antibiotik tersebar dalam berbagai golongan, meliputi bakteri, *Actinomycetes* dan fungi. Pada 22.500 senyawa biologis aktif yang diperoleh dari mikroba, 45% diantaranya dihasilkan oleh *Actinomycetes*, 38% oleh fungi dan 17% oleh bakteri uniseluler⁽⁴⁾. Salah satu habitat dari mikroba tersebut adalah tanah. Populasi mikroba tanah banyak ditemukan di daerah rizosfer, yaitu lapisan tanah yang mengikuti sistem perakaran tanaman⁽⁵⁾. Tanah rizosfer banyak mengandung bakteri, jamur dan *Actinomycetes* dibanding tanah non rizosfer. Banyak mikroba rizosfer yang menjadi sumber penghasil antibiotik⁽⁶⁾. Salah satu bakteri penghasil antibiotik telah diisolasi dari rizosfer oleh Ramadhan⁽⁷⁾. Ramadhan berhasil mengisolasi 4 isolat bakteri dari rizosfer tanaman padi di Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta yang berpotensi menghasilkan antibiotik. Salah satu diantaranya adalah isolat P301. Isolat P301 telah diskroning aktivitasnya dengan metode agar block dan menunjukkan mampu menghambat *S. aureus*.

Isolat P301 tersebut belum diuji lebih lanjut tentang kemampuannya mengasikkan antibiotik dalam media cair. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas cairan kultur isolat P301 terhadap *S. aureus* maupun waktu fermentasi optimal untuk produksi metabolit sekunder (antibiotik). Lama fermentasi yang optimal didasarkan pada aktivitas penghambatan supernatan cairan kultur terhadap bakteri uji. Waktu produksi metabolit sekunder (lama fermentasi) yang optimal dapat diperoleh dengan melakukan optimasi waktu produksi metabolit sekunder. Optimasi waktu produksi metabolit sekunder dapat ditentukan dengan membuat grafik hubungan antara waktu inkubasi dengan diameter zona hambat⁽⁸⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat P301 hasil isolasi dari tanah sawah yang ditanami padi di Kampung Bembem, Kelurahan Trimulyo, Kecamatan Jetis, Kabupaten Bantul, DIY yang telah dilakukan oleh Ramadhan⁽⁷⁾. Bahan

untuk mikroorganisme uji adalah media BHI, media Mueller Hinton, media TSA. Mikroorganisme uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*.

Alat. Alat-alat yang digunakan untuk membuat kultur terdiri dari timbangan analitik, alat-alat gelas, *cork borer*, magnet stirer, termoline, *autoclave*, termoline, blue tip, mikropipet, toples, tabung eppendorf, pinset, lampu spiritus.

Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas bakteri terdiri dari sentrifugasi SORVALL Biofuge *primo R*, alat-alat gelas, *cork borer*, mikropipet, yellow tip, lampu spiritus, kulkas, inkubator. Semua alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini sebelumnya telah disterilkan terlebih dahulu.

METODE. Sterilisasi. Alat-alat yang disterilkan diantaranya erlenmeyer 250 mL yang berisi media *Starch Nitrate Broth* (SNB) sebanyak 50 mL dan magnet stirer, erlenmeyer 500 mL yang berisi media SNB sebanyak 100 mL dan *magnetic stirer*, pinset, tabung Eppendorf, alat-alat gelas seperti corong dan gelas ukur. Kedua erlenmeyer ditutup dengan kertas payung dengan rapat, pinset dibungkus dengan kertas payung, tabung eppendorf dimasukkan dalam toples kaca yang di atasnya ditutup dengan aluminium foil, untuk alat-alat gelas dibungkus menggunakan kertas payung. Sterilisasi yang menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit diantaranya erlenmeyer yang sudah berisi media SNB, pinset, tabung eppendorf. Sedangkan untuk sterilisasi yang menggunakan oven pada suhu 171°C selama 2 jam yaitu alat-alat gelas.

Pembuatan Kultur Starter. Pembuatan starter dilakukan dengan cara memasukkan 1 koloni isolat P301 ke dalam erlenmeyer yang berisi media SNB sebanyak 50 mL yang sudah disterilkan. Kultur starter diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari dengan pengadukan menggunakan Termoline.

Preparasi Kultur Uji. Preparasi kultur uji dilakukan dengan cara memasukkan 10 mL *starter* ke dalam erlenmeyer yang berisi 100 mL media SNB yang sudah disterilkan. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 20 hari dengan pengadukan menggunakan Thermolyne. Selama inkubasi, setiap hari diambil 1 mL kultur dan dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf dan diberi label, lalu disimpan dalam *freezer*. Selanjutnya, semua kultur dalam Eppendorf tersebut dikeluarkan dari *freezer* dan didiamkan di kulkas sampai mencair. Kultur uji yang sudah mencair, kemudian disentrifugasi menggunakan SORVALL Biofuge *primo R* dengan kecepatan 5000 G selama 40 menit untuk diambil supernatannya. Supernatan ini disebut sampel cairan kultur.

Pembuatan Stok Bakteri *S. aureus*. Diambil 1 Ose bakteri *S. aureus* dari stok biakan murni lalu

dalam 1 mL BHI, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Selanjutnya diambil 1 Ose dari kultur cair tersebut dan digoreskan pada media agar TSA. Biakan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Setelah bakteri tumbuh disimpan pada suhu 4 °C sebagai stok bakteri.

Pembuatan Suspensi Bakteri *S. aureus*. Satu Ose dari stok bakteri disuspensikan ke dalam media cair BHI 1 mL, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Suspensi bakteri diambil 100 µL dimasukkan ke dalam tabung berisi 1 mL BHI lalu diinkubasi selama 3-5 jam pada suhu 37 °C.

Pengujian Aktivitas Cairan Kultur Isolat P301 terhadap *S. aureus*. Petri yang berisi media Agar Mueller Hinton diolesi secara merata dengan suspensi bakteri *S. aureus*. Setelah itu dibuat sumuran pada media Mueller Hinton dengan menggunakan alat pembolong (*cork borer*) berdiameter 0,6 cm. Sebanyak 50 µL kultur starter dimasukkan ke dalam sumuran dan diinkubasi pada 37 °C selama 18-24 jam untuk diamati diameter zona hambatnya.

Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder Isolat P301. Optimasi dilakukan dengan metode sama dengan uji aktivitas cairan kultur. Pada optimasi ini, cairan kultur harian yang diambil selama 20 hari diuji aktivitasnya terhadap *S. aureus*. Setelah itu, setiap sumuran diisi dengan cairan kultur kurang lebih sebanyak 50 µL sesuai dengan urutan harinya. Setelah semua sumuran diisi media disimpan di kulkas selama 2 jam, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam untuk diamati zona hambatnya. Profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder dibuat berdasarkan hubungan antara waktu inkubasi dengan diameter zona hambat.

Analisis Data. Analisis data dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar sumuran yang diisi cairan kultur isolat P301 terhadap pertumbuhan *S. aureus*. Optimasi waktu produksi metabolit sekunder dianalisis dengan membuat grafik hubungan antara waktu inkubasi dengan diameter zona hambat yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut identifikasi awal oleh Ramadhan⁽⁷⁾, isolat P301 termasuk kelompok Actinomycetes. Identifikasi awal dilakukan dengan pengecatan Gram dan pengamatan morfologi koloni pada media SNA yang diberi antifungi. Actinomycetes adalah bakteri Gram positif, yang telah menghasilkan lebih dari 70% dari semua antibiotik yang dikenal saat ini. Antibiotik ini secara alami dibentuk oleh mikroorganisme dan bersifat efektif dalam membunuh mikroorganisme lain sebagai sarana berkompetisi untuk mempertahankan

diri⁽⁹⁾. Actinomycetes kelihatan dari luar seperti jamur dan membentuk berkas-berkas mirip hifa. Struktur Actinomycetes berupa filamen lembut yang sering disebut hifa atau miselia, sebagaimana yang terdapat pada fungi, memiliki konidia pada hifa yang menegak⁽¹⁰⁾. Merupakan bakteri yang banyak ditemukan tumbuh pada tanah yang berhumus, memiliki miselium, menghasilkan spora, dan tumbuh sangat lambat jika dibandingkan dengan bakteri pada umumnya. Strategi Actinomycetes untuk dapat bersaing dengan mikroba tanah lainnya adalah dengan menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler dan senyawa antibiotik. Enzim ekstraseluler berguna mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang berguna untuk pertumbuhan, sedangkan senyawa antibiotik berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroba kompetitor⁽¹¹⁾. Actinomycetes terutama genus *Streptomyces* merupakan mikroba tanah yang mampu mensintesis metabolit sekunder. Metabolit yang dihasilkan berbeda-beda secara biologi seperti antibiotik, herbisida, pestisida, antiparasit, dan enzim seperti selulase xylanase yang sering digunakan dalam bioremediasi sampah⁽¹⁾.

Penelitian mengenai uji aktivitas cairan kulturisolat P301 terhadap *S. aureus* dan optimasi waktu produksi metabolit sekunder merupakan penelitian lanjutan dari penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan⁽⁷⁾. Penelitian lanjutan ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan menghasilkan antibiotik dari isolat P301 terhadap *S. aureus* bila dikultur pada media cair SNB (*Starch Nitrate Broth*). Selain itu, penelitian tentang optimasi waktu produksi metabolit sekunder isolat P301 sebagai penghasil antibiotik adalah untuk menentukan lama waktu fermentasi yang terbaik untuk memproduksi metabolit sekunder (antibiotik).

Preparasi Cairan Kultur Isolat P301. Untuk mendapatkan cairan kultur, maka dilakukan terlebih dahulu pengkulturan isolat P301. Dalam melakukan proses kultur mikroba harus digunakan media pertumbuhan yang sesuai dengan mikroba yang dikultur. Media pertumbuhan yang baik merupakan media yang mampu menyediakan sumber karbon dan mineral-mineral lain yang dibutuhkan untuk pertumbuhan maupun aktivitasnya⁽¹²⁾. Pada penelitian ini, media yang digunakan untuk mengkultur isolat P301 adalah SNB. Media SNB mempunyai kandungan sumber karbon dan mineral. Sumber karbon media SNB berasal dari soluble starch yang mengandung sejumlah C yang beragam dari pati dan gliserol⁽¹³⁾. Sumber nitrogen anorganik (NO₃⁻) berasal dari KNO₃, mineral-mineral yang berasal dari magnesium, natrium, besi, kalium yang merupakan komposisi dari media SNB.

Kultur isolat P301 ini diinkubasi pada suhu

kamar karena suhu optimum untuk pertumbuhan *Actinomyces* adalah pada suhu sekitar 25-35 °C⁽¹¹⁾. Selain itu, selama inkubasi, dilakukan pengadukan untuk menghomogenkan cairan kultur sehingga terjadi pemerataan nutrisi maupun bakteri yang dikultur dalam media fermentasi, sehingga hasil metabolit dapat ditingkatkan melalui peningkatan agitasi⁽¹⁴⁾. Proses inkubasi dilakukan ditempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung, hal ini untuk menghindari kerusakan senyawa-senyawa yang mudah teroksidasi yang mungkin ada dalam kultur.

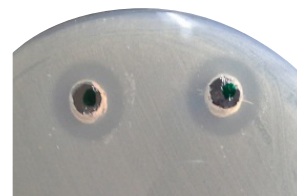
Selama proses kultur terjadi perubahan warna kultur, yaitu dari tidak berwarna (pada hari ke-0) hingga kuning kecoklatan mulai hari ke 9. Secara keseluruhan hasil pengamatan harian warna kultur isolat P301 dirangkum pada Tabel 1. Dari hasil Tabel 1 terlihat bahwa pada hari ke kedua media SNB berwarna kuning pucat dan sudah mengalami kekeruhan serta terdapat butiran-butiran halus yang tersebar didasar media. Hal ini menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Perubahan warna tersebut terjadi hingga inkubasi hari ke-20 yaitu dari warna kuning pucat berubah menjadi warna coklat kehitaman. Bila mikroba ditanam pada media padat dan menghasilkan pigmen, bila pigmen dapat berdifusi pada media padat, maka akan menyebabkan media menjadi berubah warna sesuai warna pigmen yang dihasilkan⁽¹⁵⁾. Oleh karena itu, perubahan warna yang terjadi pada cairan kultur isolat P301 juga disebabkan karena isolat P301 mengeluarkan pigmen warna kuning hingga kecoklatan. Hal ini juga sesuai dengan hasil penelitian Ramadhan⁽⁷⁾ yang menunjukkan bahwa isolat P301 mempunyai pigmen terdifusi berwarna kuning pada media SNA. Perubahan warna cairan kultur isolat P301 tersebut juga diikuti dengan bertambahnya jumlah pelet atau tingkat kekeruhan dari hari ke hari. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah sel bakteri yang dari hari ke hari semakin bertambah akibat adanya pertumbuhan sel, dan kemudian jumlah tersebut konstan setelah hari ke 10.

Tabel 1. Hasil penampakan cairan kultur .

Hari ke-	Warna	Hari ke-	Warna
1	Kuning muda	11	Kuning kecoklatan
2	Kuning muda	12	Kuning kecoklatan
3	Kuning muda	13	Kuning kecoklatan
4	Kuning	14	Kuning kecoklatan
5	Kuning	15	Kuning kecoklatan
6	Kuning	16	Kuning kecoklatan
7	Kuning	17	Kuning kecoklatan
8	Kuning	18	Kuning kecoklatan
9	Kuning kecoklatan	19	Kuning kecoklatan
10	Kuning kecoklatan	20	Kuning kecoklatan

Selama inkubasi, setiap hari dilakukan pengambilan kultur hingga hari ke-20. Selanjutnya cairan kultur disentrifugasi, tujuan dilakukan sentrifugasi ini adalah untuk memisahkan antara supernatan dengan endapan atau biomassa dari kultur yang diperoleh. Supernatan ini disebut sampel cairan kultur yang akan digunakan untuk menguji aktivitas dari cairan kultur isolat P301 terhadap *S. aureus*.

Uji Aktivitas Cairan Kultur Isolat P301 terhadap *S. aureus*. Uji aktivitas cairan kultur isolat P301 terhadap *S. aureus* ditujukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa antibiotik dalam cairan kultur tersebut yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Uji dilakukan dengan metode sumuran yang merupakan salah satu metode difusi. Sebanyak 50 µL cairan kultur dimasukkan dalam media MHA yang telah ditanami bakteri *S. aureus* kemudian disimpan dalam kulkas selama 2 jam agar cairan kultur terdifusi kedalam media. Media kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Hasil penelitian menunjukkan adanya zona hambat (jernih) pada media dengan diameter 12,0 mm. Hasil uji aktivitas cairan kultur ini dapat dilihat pada Gambar 1. Zona hambat terbentuk karena senyawa antibiotik dalam cairan kultur berdifusi ke dalam agar dan menyebabkan tidak tumbuh atau terhambatnya pertumbuhan *S. aureus*. Hasil penelitian Ramadhan⁽⁷⁾ terhadap potensi antibiotik isolat P301 dengan metode *agar block* menunjukkan penghambatan yang tinggi yaitu dengan zona hambatan 20,0 mm. Tujuan utama uji aktivitas cairan kultur pada penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah cairan kultur yang dihasilkan menunjukkan aktivitas antibiotik terhadap *S. aureus*. Hal ini dilakukan karena kemampuan



Gambar 1. Hasil uji aktivitas cairan kultur isolat P301.

Tabel 2. Diameter zona hambat radikal terhadap *S. aureus* .

Hari	Diameter zona hambat (cm)	Hari	Diameter zona hambat (cm)
1	-	11	2,175
2	-	12	2,175
3	0,7	13	2,15
4	0,975	14	2,1
5	1,2	15	2,15
6	1,375	16	2,175
7	1,4	17	2,175
8	1,5	18	2,175
9	1,525	19	2,175
10	2,1	20	2,15

produksi antibiotik pada media padat tidak selalu sama dengan bila dikultur pada media cair. Hasil penelitian Moncheva *et al.*⁽¹⁶⁾ dan Sulistiyani⁽¹¹⁾ (juga menunjukkan bahwa hasil uji positif (aktif) pada metode *agar block* tidak selalu menghasilkan aktivitas juga pada cairan kulturnya. Oleh karena itu, bila hasil uji aktivitas dengan metode *agar block* menunjukkan mampu menghambat bakteri tertentu, hasilnya belum tentu sama dengan hasil uji dengan metode sumuran.

Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder.

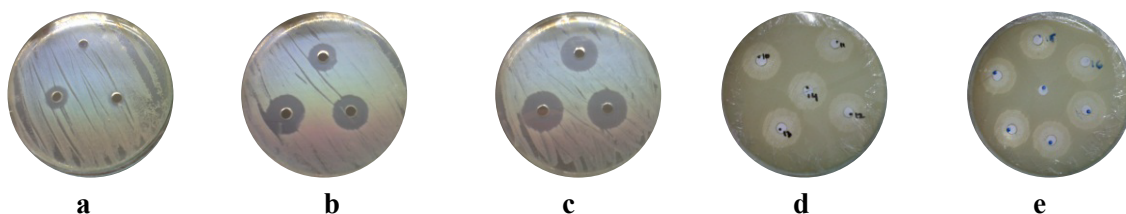
Profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder dapat digunakan untuk menentukan jangka waktu (durasi) yang tepat (optimal) dalam melakukan fermentasi untuk memproduksi antibiotik⁽¹⁷⁾. Pada penelitian ini, profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder ini ditentukan dengan membuat grafik hubungan antara waktu inkubasi dengan diameter zona hambat pertumbuhan *S. aureus* dari tiap cairan kultur yang diambil tiap hari. Gambaran hasil optimasi disajikan pada Gambar 2 dan Gambar 3. Pada Gambar 2, nampak jelas bahwa zona hambat yang berupa jernih melingkar di sekeliling sumuran mulai nampak pada hari ke-3. Dengan bertambahnya hari inkubasi, zona tersebut semakin melebar hingga hari ke-11 dan kemudian konstan. Pertambahan lebar zona hambat menunjukkan bahwa jumlah antibiotik semakin banyak sehingga konsentrasi antibiotik dalam cairan kultur menjadi semakin besar.

Hasil pengukuran diameter zona hambat radikal terhadap *S. aureus* menunjukkan bahwa pada hari ke-3 cairan kultur isolat P301 sudah menghasilkan

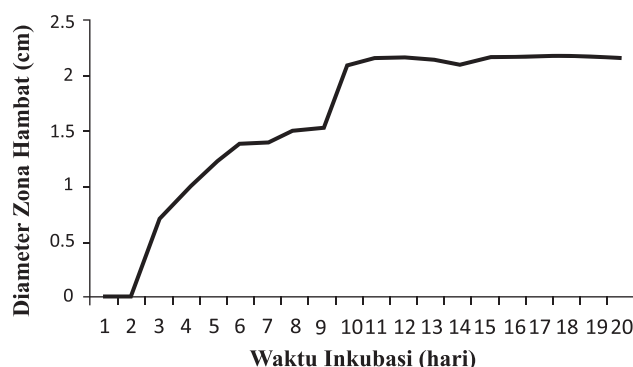
metabolit sekunder berupa antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 0,70 cm. Ukuran diameter tersebut dari hari ke hari semakin bertambah dan produksi antibiotik tertinggi mulai hari ke-11 dengan diameter zona hambat sebesar 2,175 cm. Produksi antibiotik tersebut nampak konstan setelah diinkubasi selama 11 hari, sehingga waktu pemanenan antibiotik yang optimal terhadap *S. aureus* yaitu setelah diinkubasi selama 11 hari. Oleh karena itu, durasi fermentasi yang baik untuk memproduksi antibiotik dari isolat P301 adalah 11 hari.

Durasi fermentasi menjadi salah satu hal yang harus ditetapkan untuk mendapatkan produk metabolit sekunder maupun produk lain yang diinginkan secara optimal. Antibiotik yang merupakan metabolit sekunder banyak dihasilkan pada akhir fase eksponensial dan fase stasioner⁽¹⁸⁾. Optimasi-optimasi yang lain masih diperlukan, karena produksi antibiotik dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu komponen media dan kondisi kultur, seperti agitasi, aerasi, pH, dan temperatur yang berbeda-beda untuk setiap organisme. Komponen media yang berpengaruh adalah struktur kimia media dan konsentrasinya.

Sumber karbon dan nitrogen biasanya memberikan pengaruh dalam produksi antibiotik. Agitasi akan mempengaruhi aerasi dan pencampuran nutrient dalam media fermentasi, sehingga hasil metabolit dapat ditingkatkan melalui peningkatan agitasi⁽¹⁴⁾. Oleh karena itu penelitian ini masih perlu dilanjutkan dengan optimasi berbagai kondisi tersebut, sehingga



Gambar 2. Diameter zona hambat radikal (termasuk diameter sumuran 6 mm) terhadap *S. aureus* dari cairan kultur hari ke 1-3 (a), 4-6 (b), 7-9 (c), 10-14 (d) dan 15-20 (e).



Gambar 3. Profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder dari isolat P301.

data diperoleh kondisi fermentasi yang paling optimal. Setiap isolat mikroba penghasil antibiotik memerlukan kondisi yang berbeda-beda dalam memproduksi antibiotik. Sebagai contoh, penelitian yang dilakukan oleh Sulistyani⁽¹¹⁾ menunjukkan bahwa isolat Actinomycetes yang diisolasi dari tanah Pulau Timur Bagian Barat produksi antibiotik mencapai hasil tertinggi setelah diinkubasi selama 14 hari. Bila dibandingkan hasil tersebut di atas dari segi optimasi waktu, isolat P301 membutuhkan durasi fermentasi yang lebih cepat dibandingkan dengan isolat Actinomycetes yang diisolasi dari tanah Pulau Timur Bagian Barat tersebut.

SIMPULAN

Cairan kultur Isolat P301 mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Pemanenan antibiotik yang optimal dapat dilakukan setelah diinkubasi minimal selama 11 hari berdasarkan uji aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Oskay M, Terner U, Azeri C. Antibacterial activity of some actinomycetes isolate from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology*. 2004. 3(9):441-6.
- Parunago MM, Maceda EBG, Villano MAF. Screening of antibiotic-producing actinomycetes from marine, brackish and terrestrial sediments of Samal Island, Phillipines. *Journal of Research in Science Computing and Engineering*. 2007. 4(3):29-38.
- Sulistyani TR. Isolasi dan karakterisasi antibiotik dari isolat actinomycetes tanah pulau timor bagian barat (NTT). Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor; 2006.
- Berdy J. Bioactive microbial metabolites. A personal view. *J Antibiot*. 2005. 58(1):1-26.
- Dakora FD, Donald AP. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. *Plant and Soil*. 2002. 245:35-47.
- Rao NSS. Mikroorganisme tanah dan pertumbuhan tanaman. Jakarta :Universitas Indonesia Press. 1994.
- Ramadhan H. Isolasi actinomycetes penghasil antibiotik terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* dari tanah sawah. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. 2012.
- Rante H, Murti YB, Alam G. Purifikasi dan karakterisasi senyawa antibakteri dari Actinomycetes asosiasi spons terhadap bakteri patogen resisten. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2010.21(3):158-165.
- Ogunmwonyi IH, Mazomba N, Mabinya L, Ngwenya E, Green E, Akinpelu DA, Olaniran AO, Bernard K, Okoh AI. Studies on the culturable marine Actinomycetes isolated from the Nahoon Beach in the eastern cape Province of South Africa. *Afr J Microbiol Res*. 2010. 2223-30.
- Rollins DM, Joseph SW. Actinomycetes summary. University of Marland. 2000. diambil dari <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424>. diakses 11 September 2012.
- Sulistyani TR. Isolasi dan karakterisasi antibiotik dari isolat actinomycetes tanah pulau timor bagian barat (NTT). Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor; 2006.
- Todar K. Nutrition and growth of bacteria in todar's online textbook of bacteriology. Wisconsin: University Wisconsin-Madison Department of Bacteriology; 2007.
- Ali A. Skrining dan karakterisasi parsial senyawa antifungi dari actinomycetes asal limbah padat sagu terdekomposisi. *Berkala Penelitian Hayati*. 2009.14:219-25.
- Augustine SK, Bhavsar SP, Kapadis BP. Production of growth dependent metabolite active against dermatophytes by *Streptomyces rochei* AK 39. *Indian Journal of Medicine*. 2005. 121:164-170.
- Ambarwati dan Gama T, Azizah. Isolasi actinomycetes dari tanah sawah sebagai penghasil antibiotik. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 2009.10(2):101-11.
- Moncheva P, Tishkov S, Dimitrova N, Chipeva V, Nikolova SA, Bogatzevska N. Characteristics of soil actinomycetes from antarctic. *Journal of Culture Collections*. 2002.3(1):3-4.
- Nanjwade BK, Chandrashekhara S, Goudanavar PS, Shamarez AM, Manvi FV. Production of antibiotics from soil-isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* August. 2010. 9(4):373-7.
- Darwis AA dan Sukara E. Teknik Mikrobial. Bogor: PAU IPB; 1989.