

UJI AKTIVITAS DAN PRODUKSI ANTIBAKTERI *BACILLUS LENTUS* YANG DIISOLASI DARI SISTEM PENCERNAAN LANDAK LAUT DALAM MENGHAMBAT BAKTERI PENYEBAB INFEKSI PADA KEHAMILAN

Oleh

I Gusti Agung Ayu Hari Triandini¹⁾, Bambang Fajar Suryadi²⁾

¹⁾Dosen Akademi Kebidanan Bhakti Kencana Mataram

²⁾Dosen Universitas Mataram

Abstrak: Penyakit infeksi pada kehamilan merupakan penyakit yang menempati peringkat ketiga penyebab kematian ibu dan anak setelah perdarahan dan hipertensi. Mikroorganisme dari genus *Bacillus* diketahui telah banyak menghasilkan jenis antibiotik. Diperlukan suatu penelitian lanjutan ke arah produksi antibakteri sekaligus optimalisasi fermentasi dalam media cair untuk memudahkan tahapan isolasi, Identifikasi, purifikasi dan karakterisasi senyawa antibakteri pada tahap selanjutnya. Faktor-Faktor yang dikaji dalam optimalisasi adalah: jenis medium, sumber nitrogen dan waktu inkubasi. Penelitian ini bersifat kuantitatif eksperimental. Variabel bebas: jenis medium, sumber nitrogen tambahan dan waktu inkubasi. Variabel terikat: diameter zona hambat, sedangkan variabel kontrol: diameter zona hambat Polymyxin B dan aquades steril. Jenis percobaan faktorial RAK yang terdiri dari 6 jenis bakteri uji sebagai blok. Faktor jenis medium: m_1 =NBS, m_2 =SAQ; faktor sumber N tambahan: n_1 =tanpa N, n_2 =NH₄Cl, n_3 =asam glutamat; faktor waktu inkubasi t_1 =4 jam hingga t_{12} =48 jam (kelipatan 4 jam). Tahapan kerja: aktivasi kultur stok, karakterisasi ulang kultur stok, penentuan waktu inkubasi kultur starter, pembuatan kultur starter, fermentasi, pengukuran pertumbuhan, pemanenan metabolit, pengujian antibakteri. Antibakteri *Bacillus lentus* sudah mulai diproduksi pada fase log. Produksi antibakteri *Bacillus lentus* di medium tanpa penambahan sumber nitrogen tinggi pada fase log (16-20 jam). Kombinasi medium SAQ tanpa penambahan sumber nitrogen memberikan rata-rata produksi antibakteri *Bacillus lentus* tertinggi. Antibakteri *Bacillus lentus* memiliki aktivitas penghambatan tertinggi pada *Proteus mirabilis*. Produksi antibakteri *Bacillus lentus* yang diproduksi pada medium SAQ tanpa penambahan sumber nitrogen ketika diujikan ke *Proteus mirabilis* pada waktu inkubasi 4 jam, 16 jam dan 20 jam dapat dipertimbangkan untuk dilanjutkan ke tahapan identifikasi, purifikasi dan karakterisasi antibakteri.

Kata kunci: produksi, antibakteri, *Bacillus lentus*

PENDAHULUAN

Menurut data Kemenkes (2014), penyakit infeksi pada kehamilan merupakan penyakit yang menempati peringkat ketiga penyebab kematian ibu dan anak setelah perdarahan dan hipertensi. Penyakit infeksi ini antara lain disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* yang menyebabkan penyakit infeksi saluran kencing dan bakteriuria (Kalalo *et al.*, 2018); *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* menyebabkan infeksi kulit, pencernaan keracunan makanan (WHO, 2018); *Streptococcus viridans* menyebabkan sepsis neonatorum; *Staphylococcus aureus* menyebabkan mastitis pada ibu menyusui.

Mikroorganisme dari genus *Bacillus* diketahui telah banyak menghasilkan jenis antibiotik. Senyawa antibakteri yang diproduksi dari bakteri yg bersimbiosis dengan Echinodermata diketahui dapat mencegah infeksi dari bakteri patogen pada inangnya dan juga manusia (Schillaci *et al.*, 2013).

Eksplorasi tentang senyawa antibakteri yang diproduksi dari bakteri yg berasosiasi dengan landak laut belum banyak diketahui. *Bacillus lentus* yg diisolasi dari sistem pencernaan landak laut menunjukkan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri dari sampel klinis antara lain: *Bacillus cereus* (gram positif), *Bacillus mycoides* (gram positif), dan *Proteus mirabilis* (gram negatif) dengan kisaran zona hambat 12-15 mm, indeks pembentukan zona hambat 1,2-3,0, ketahanan zona 30 jam pada tahap *screening* di medium padat (Amirah, 2010). Diperlukan suatu penelitian lanjutan ke arah produksi antibakteri sekaligus optimalisasi fermentasi dalam media cair untuk memudahkan tahapan isolasi, Identifikasi, purifikasi dan karakterisasi senyawa antibakteri pada tahap selanjutnya. Faktor-Faktor yang dikaji dalam optimalisasi adalah: jenis medium, sumber nitrogen dan waktu inkubasi.

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis Penelitian: kuantitatif eksperimental. Variabel bebas: jenis medium, sumber nitrogen tambahan dan waktu inkubasi. Variabel terikat: diameter zona hambat. Variabel kontrol: Polymyxin B (+), aquades steril (-). Parameter: jumlah populasi bakteri dan diameter zona hambat. Percobaan dirancang dengan menggunakan rancangan dasar RAK (Rancangan Acak Kelompok) yang terdiri atas 6 jenis bakteri uji sebagai blok. Percobaan yang akan dilaksanakan merupakan percobaan faktorial yang terdiri dari 3 faktor yaitu :

- 1) Faktor pertama adalah jenis medium yang meliputi 2 aras yaitu:
 m_1 = NB ditambah suplemen (NBS)
 m_2 = suplemen ditambah aquades (SAQ)
- 2) Faktor kedua adalah pemberian sumber nitrogen tambahan yang meliputi 3 aras yaitu:
 n_1 = tidak diberi tambahan sumber nitrogen
 n_2 = diberi penambahan sumber nitrogen NH_4Cl
 n_3 = diberi penambahan sumber nitrogen asam glutamat
- 3) Faktor ketiga adalah waktu inkubasi pada saat fermentasi yang meliputi 12 aras yaitu : $t_1 = 4$ jam hingga $t_{12} = 48$ jam (kelipatan 4 jam)

Pengulangan dilakukan sebanyak dua kali, sehingga terdapat 216 unit percobaan. Variabel yang diukur adalah diameter zona hambat pada tiap-tiap bakteri uji.

a. Aktivasi Kultur Stok

Kultur stok disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 6 menit, sehingga menghasilkan pellet. Pellet kemudian digoreskan ke atas medium NA dengan teknik *streak plate* yang ditambahkan NaCl 5% w/v dan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C.

b. Karakterisasi Ulang Kultur Stok

Dilakukan uji biokimia dan uji morfologi sel untuk memastikan kemurnian kultur stok. Pencocokan karakteristik disesuaikan dengan buku taksonomi mikrobial.

c. Penentuan Kurva Tumbuh dan Waktu Inkubasi Kultur Starter

Kurva tumbuh ditentukan dengan mengkultur *Bacillus lentus* ke dalam medium NB dengan penambahan NaCl 5% w/v ke dalam beberapa tabung yang kemudian diinkubasi pada suhu 35°C sambil diagitasi dengan kecepatan 125 rpm. Kemudian dilanjutkan dengan metode *viable plate count* dan turbidimetri masing-masing sampel per 2 jam selama 24 jam. Setelah memperoleh data kurva tumbuh, maka waktu inkubasi kultur starter sudah dapat ditentukan yaitu dengan mengambil waktu saat fase stasioner.

d. Pembuatan Kultur Starter

Kultur ditumbuhkan ke dalam media NB dengan penambahan NaCl 5% w/v kemudian diinkubasi pada suhu 35°C sambil diagitasi dengan kecepatan 125 rpm sesuai dengan waktu inkubasi yang telah ditentukan.

e. Fermentasi

Jenis medium yang digunakan dalam penelitian ini yaitu meliputi: NB dengan suplemen tanpa sumber nitrogen, suplemen dengan aquades tanpa sumber nitrogen, NB dengan suplemen ditambah NH_4Cl , suplemen dengan aquades ditambah NH_4Cl , NB dengan suplemen ditambah asam glutamate, suplemen dengan aquades ditambah asam glutamate.

Tabel 1. Komposisi Suplemen yang Ditambahkan ke Medium Fermentasi

No.	Komposisi	Konsentrasi (g/L)
1.	Glukosa	10
2.	KH_2PO_4	0,5
3.	K_2HPO_4	0,5
4.	NaCl	50
5.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,2
6.	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,01
7.	$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01
8.	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01
9.	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,015
10.	NH_4Cl	0,5
11.	Asam glutamat	5

Sumber : Awais *et al.*, 2008

f. Fermentasi dan Pemanenan Metabolit

Sebanyak 5% kultur starter dihomogenisasi dengan masing-masing medium fermentasi kemudian diinkubasi pada suhu 35°C masing-masing selama 4 jam untuk tiap tabung dari 4-48 jam dalam thermoshaker dengan kecepatan agitasi 125 rpm dan kemudian dilanjutkan dengan penghitungan koloni dengan *viable plate count*.

g. Pengujian Metabolit

Sisa kultur *Bacillus lentus* disentrifugasi dengan kecepatan 3200 rpm selama 15 menit sehingga didapatkan supernatant yang kemudian diujikan ke bakteri uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN



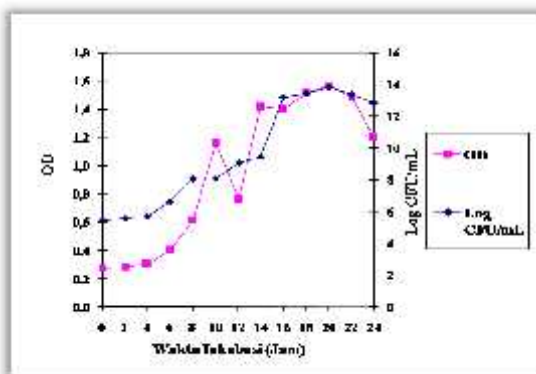
Sumber : Data Primer, 2010

Gambar 1. Morfologi Koloni dan Sel *Bacillus lentus*

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Ulang *Bacillus lentus*

No.	Karakter yang Diamati	Hasil
1.	Reaksi pada Pewarnaan Gram	Positif
2.	Morfologi Koloni	
	Bentuk	Bulat
	Tepian	Licin
	Elevasi	Seperti tombol
	Warna	Putih
	Tekstur	Lembek
3.	Morfologi Sel	
	Bentuk	Batang pendek
	Susunan	Berantai, umumnya tunggal
4.	Morfologi Endospora	
	Bentuk	Oval
	Letak	Sentral
5.	Pemilihan Sumber Karbon (Uji gula-gula)	
	Manitol	-
	Maltosa	-
	Glukosa	+
	Sukrosa	+
	Laktosa	-

Sumber : Data Primer, 2010

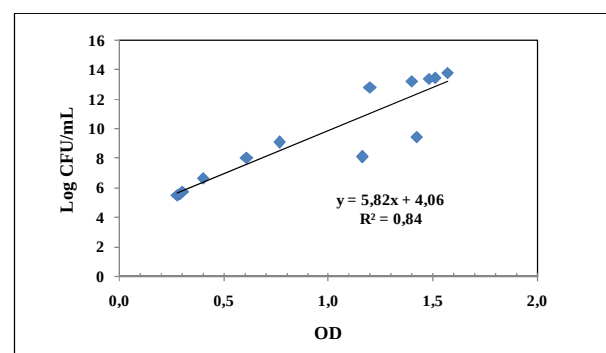


Sumber : Data Primer, 2010

Gambar 2. Grafik Hubungan antara Waktu Inkubasi Kultur Starter *Bacillus lentus* terhadap Optical Density (OD) dan Log CFU/mL

Pada gambar 2 tersebut, terlihat bahwa fase lag berlangsung selama 4 jam. Fase log yang ditempuh yaitu dari jam ke-4 hingga jam ke-16 sedangkan fase stasioner ditempuh pada jam ke-16 hingga jam ke-24. Menurut Brooks *et al.* (2001), aktivitas metabolik bakteri sangat tinggi pada saat fase lag. Aktivitas tersebut dapat berupa biosintesis makromolekul dan enzim untuk keperluan fase

berikutnya. Pada fase log terjadi sintesis material sel baru dengan kecepatan konstan dan peningkatan jumlah sel terjadi secara eksponensial. Saat fase stasioner, komponen medium berada dalam jumlah yang tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan bakteri tersebut. Metabolit sekunder yang bersifat toksik disekresikan ke lingkungan medium. Adanya metabolit sekunder inilah yang berpotensi sebagai senyawa yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Akumulasi metabolit sekunder tersebut menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri namun masih memungkinkan terjadinya pembelahan sel. Jumlah sel hasil pembelahan tidak terlalu signifikan dengan jumlah sel yang mengalami kematian, dengan kata lain jumlah sel total relatif konstan. Waktu inkubasi 18 jam dipilih sebagai waktu inkubasi kultur starter karena pada jam ini merupakan pertengahan fase stasioner. Pemilihan waktu inkubasi kultur starter pada fase stasioner juga dilakukan pada beberapa produksi antibakteri. Menurut Awais, *et al.* (2007), pada produksi Bacitracin dari *Bacillus pumilus* dan *Bacillus subtilis*, digunakan waktu inkubasi 72 jam untuk tahap persiapan inokulum. Haddar *et al.* (2007) menggunakan waktu inkubasi 48 jam dalam persiapan inokulum pada produksi Bacitracin dari *Bacillus licheniformis*. Jamil *et al.* (2007) menggunakan waktu inkubasi 72 jam pada tahap produksi antibiotik polipeptida dari *Bacillus subtilis*. Diharapkan, ketika inokulum dipindahkan ke medium fermentasi pada jam ke-18, produksi antibakteri *Bacillus lentus* akan cepat tercapai dan tinggi pada awal inkubasi sehingga dapat berpengaruh pada efisiensi waktu inkubasi yang diperlukan dalam produksi antibakteri *Bacillus lentus*.

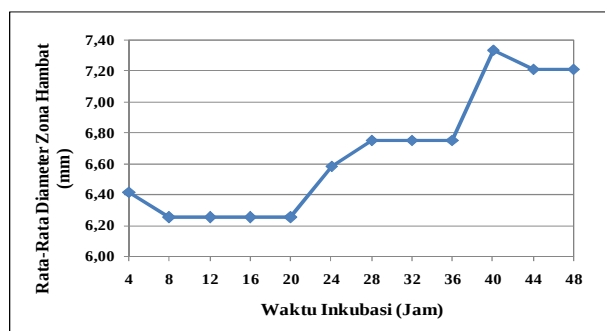


Sumber : Data Primer, 2010

Gambar 3. Kurva standarisasi OD-log CFU

Dengan menghubungkan nilai OD terhadap nilai log CFU/mL yang telah didapatkan, maka dapat dibuat suatu grafik standarisasi antara keduanya. Berdasarkan grafik pada gambar 3, terlihat nilai OD dengan log CFU/mL berbanding lurus. Semakin meningkat nilai OD, semakin meningkat pula jumlah sel yang ditandai dengan peningkatan log CFU/mL. Rumus pada gambar 3

tersebut dapat dijadikan acuan selanjutnya untuk mengkonversi nilai OD kultur starter *Bacillus lentus* pada medium NB ke dalam jumlah sel (log CFU/mL) pada jam tertentu dan jam berikutnya. Jika dilihat pada gambar 3, nilai OD kultur starter pada waktu inkubasi 18 jam menunjukkan nilai 1,51 yang setara dengan nilai log CFU/mL 12,85 atau sekitar 10^{13} sel *Bacillus lentus*.



Sumber : Data Primer, 2010

Gambar 4. Kurva Produksi Antibakteri *Bacillus lentus* di Medium Suplemen+ Aquades Asam Glutamate



Sumber : Data Primer, 2010

Gambar 5. Kurva Produksi Antibakteri *Bacillus lentus* di Medium Suplemen+ Aquades Asam Glutamate



Sumber : Data Primer, 2010

Gambar 6. Hasil Pengujian Metabolit Sekunder *Bacillus lentus* ke bakteri uji *Proteus mirabilis*

Tabel 2. Hasil ANOVA Setiap Pengaruh Faktor yang Diuji

Sumber Keragaman	Hasil ANOVA
Faktor Utama	
Jenis Medium	*
Sumber N Tambahan	***
Waktu Inkubasi (Jam)	Ns
Interaksi	
Jenis Medium x Sumber N Tambahan	***
Jenis Medium x Waktu Inkubasi (Jam)	Ns
Sumber N x Waktu Inkubasi (Jam)	Ns
Jenis Medium x Sumber N Tambahan x Waktu Inkubasi (Jam)	Ns

Sumber : Data Primer, 2010

Keterangan : semakin banyak jumlah * menandakan semakin signifikan pengaruh faktor
Ns = non signifikan

Tabel 3. Kombinasi Medium dan Rata-Rata Diameter Zona Hambat yang Dihasilkan

Kombinasi Medium	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)
Suplemen Aquades Tanpa Nitrogen	7,36
NB+ Suplemen +Asam Glutamat	6,83
Suplemen Aquades Asam Glutamat	6,67
NB+ Suplemen Tanpa Nitrogen	6,57
NB+ Suplemen+ NH ₄ Cl	6,39
Suplemen Aquades + NH ₄ Cl	6,35

Sumber : Data Primer, 2010

Tabel 4. Rata-Rata Diameter Zona Hambat pada Berbagai Jenis Bakteri Uji

Jenis Bakteri Uji	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)
<i>Proteus mirabilis</i>	7,73
<i>Bacillus cereus</i>	6,76
<i>Escherichia coli</i>	6,60
<i>Streptococcus viridans</i>	6,40
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,38
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,31

Sumber : Data Primer, 2010

Medium SAQ tanpa penambahan nitrogen merupakan jenis medium *define* yang memiliki sumber karbon dari glukosa dan memiliki kandungan beberapa jenis mineral. Medium ini sama sekali tidak mengandung sumber nitrogen. Pertumbuhan dapat terjadi ketika *Bacillus lentus*

dikondisikan pada medium ini. Keterbatasan sumber nitrogen pada medium SAQ tanpa penambahan nitrogen kemungkinan diatasi bakteri dengan adanya granula pada struktur selnya. Menurut Brooks *et al.* (2001), bakteri seringkali menyimpan cadangan makanan dalam bentuk granula yang tersimpan sebagai polimer netral. Jika sumber nitrogen terbatas, kelebihan karbon dalam media akan diubah menjadi polimer *poly-β-hydroxybutyric acid* yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi. Semua jenis bakteri mampu mensintesis *poly-β-hydroxybutyric acid* ketika sel berada dalam keadaan defisit nutrisi yang esensial, namun masih memiliki sumber karbon pada media. Mekanisme ini memungkinkan terbentuknya bahan-bahan yang diperlukan bakteri untuk memproduksi metabolit pada aktivitas seluler bakteri termasuk untuk pertumbuhan dan produksi antibakteri.

Pada penelitian ini, digunakan kontrol positif Polymyxin B yang diketahui tergolong antibiotik polipeptida yaitu jenis antibiotik yang diproduksi oleh hampir semua *Bacillus* sp. (Ming dan Epperson, 2002). Hasil analisis terhadap kontrol positif ditampilkan pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengujian Resistensi Keenam Bakteri Uji yang Digunakan dalam Pengujian Antibakteri *Bacillus lentus* terhadap Kontrol Positif Polymyxin B

No.	Bakteri Uji	Rata-Rata Diameter Zona Hambat Polymyxin B (mm)	Kategori
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13,14	Sensitif
2	<i>Bacillus cereus</i>	8,00	Resisten
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,00	Resisten
4	<i>Streptococcus viridans</i>	7,78	Resisten
5	<i>Proteus mirabilis</i>	6,00*	Resisten
6	<i>Escherichia coli</i>	10,22	Resisten

Sumber : Data Primer, 2010

Keterangan : Tanda * berarti tidak ada aktivitas penghambatan. Nilai angka yang diberi tanda * menunjukkan diameter disc antibiotik yang digunakan dalam pengujian.

Pada tabel 5, dapat dilihat bahwa Polymyxin B memiliki aktivitas antibakteri berturut-turut, dari yang terbesar yaitu pada *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*. Polymyxin B tidak mempunyai aktivitas penghambatan pada *Proteus mirabilis*. Menurut

Rao (2010), kategori resisten untuk pengujian dengan Polymyxin B yaitu ≤ 8 mm, 9 mm-11 mm tergolong intermediet dan ≥ 12 mm tergolong sensitif. Polymyxin B paling sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri basil aerob gram negatif yang termasuk pula golongan *Klebsiella* sp., *Escherichia coli* (Gales *et al.*, 2001). Bakteri gram negatif seperti *Proteus* sp. dan semua golongan bakteri gram positif yang bersifat patogen, dalam hal ini termasuk *Streptococcus viridans*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* bersifat resisten terhadap Polymyxin B. Terdapat ketidaksesuaian hasil pada pengujian resistensi *Escherichia coli* terhadap Polymyxin B pada tabel 5. Seharusnya, *Escherichia coli* bersifat sensitif terhadap Polymyxin B. Ketidaksesuaian hasil pengujian yang diperoleh ini dapat disebabkan oleh mekanisme resistensi yang kerap kali dijumpai pada isolat klinik *Escherichia coli*, ketika dihadapkan dengan antibiotik Polymyxin B. Menurut Brooks *et al.* (2001), mekanisme resistensi bakteri terhadap Polymyxin B dilakukan dengan cara memodifikasi permeabilitas membran sel. Moskowitz *et al.* (2004) menambahkan, bahwa mekanisme tersebut berupa modifikasi senyawa lipid menjadi senyawa yang dapat mereduksi muatan negatif lipopolisakarida pada membran sel sehingga mempengaruhi interaksi antara polipeptida kationik (Polymyxin B) dengan molekul lipopolisakarida (LPS) yang bersifat anionik pada membran sel *Escherichia coli*.

Melalui suatu pendekatan dengan menggolongkan diameter zona hambat yang dihasilkan supernatan *Bacillus lentus* dengan kategori sensitivitas beberapa jenis antibiotik polipeptida dari *Bacillus* sp. termasuk Polymyxin B, dapat ditentukan kombinasi medium dan waktu inkubasi yang dapat dipertimbangkan untuk diterapkan ke tahap penelitian selanjutnya (identifikasi, purifikasi dan karakterisasi antibakteri). Beberapa jenis antibiotik tersebut adalah Bacitracin, Colistin dan Polymyxin B. Standar sensitivitas Bacitracin adalah sebagai berikut: ≤ 8 mm tergolong resisten, 9 mm-12 mm tergolong intermediet dan ≥ 13 mm tergolong sensitif. Standar sensitivitas Colistin adalah sebagai berikut: ≤ 8 mm tergolong resisten, 9 mm-10 mm tergolong intermediet dan ≥ 11 mm tergolong sensitif. Antibiotik kategori intermediet hingga sensitif dapat digunakan sebagai terapi pengobatan.

Di antara ketiga jenis medium tersebut, diketahui bahwa medium SAQ dengan penambahan asam glutamat memberikan produksi antibakteri tertinggi yaitu pada diameter zona hambat 12,25 mm yang didapati ketika antibakteri *Bacillus lentus* diujikan ke *Proteus mirabilis* pada waktu inkubasi 40 jam. Medium SAQ dengan

penambahan asam glutamat merupakan medium minimal namun memiliki komposisi nutrisi yang lengkap dan sumber nitrogen bersifat organik yang berupa asam amino. Menurut Haddar *et al.* (2007), produksi Bacitracin strain *Bacillus licheniformis* B5 lebih efisien ketika dikondisikan pada medium dengan komposisi sumber karbon dan sumber nitrogen yang sederhana, daripada pemberian sumber-sumber tersebut dalam komposisi berlebih.

Sebagian besar antibiotik yang dihasilkan *Bacillus* sp. adalah golongan polipeptida (Ming dan Epperson, 2002). Penggunaan asam glutamat sebagai sumber nitrogen terbaik pada produksi antibakteri juga didapatkan pada beberapa kasus produksi antibakteri golongan polipeptida antara lain pada produksi Bacitracin oleh *Bacillus licheniformis* B5 (Haddar *et al.*, 2007) dan *Bacillus subtilis* MH-4 (Jamil *et al.*, 2007). Menurut Brooks *et al.* (2001), asam glutamat berperan dalam proses transaminasi dalam metabolisme mikroba. Dalam proses tersebut, glutamat yang umumnya diperoleh sebagai hasil akhir asimilasi ammonia ditambahkan dengan aseptor kemudian dimetabolisme menjadi α -ketoglutarat dan asam amino. Melalui reaksi ini dihasilkan beberapa asam amino yang terbentuk dari glutamat yaitu glutamin, arginin dan prolin yang ikut berperan sebagai asam amino penyusun antibiotik polipeptida. Dalam kasus pemberian langsung asam glutamat yang siap digunakan, bakteri dapat mensintesis asam amino tanpa melewati asimilasi ammonia terlebih dahulu.

PENUTUP

Secara umum, antibakteri *Bacillus lentus* sudah mulai diproduksi pada fase log. Produksi antibakteri *Bacillus lentus* di medium tanpa penambahan sumber nitrogen, tinggi pada fase log (16-20 jam). Secara umum, produksi antibakteri *Bacillus lentus* belum berakhir sampai waktu inkubasi 48 jam. Interaksi antara jenis medium dengan sumber nitrogen, memberikan rata-rata respon produksi antibakteri *Bacillus lentus* yang berbeda nyata. Kombinasi medium suplemen dengan aquades tanpa penambahan sumber nitrogen memberikan rata-rata respon produksi antibakteri tertinggi. Waktu inkubasi tidak memberikan perbedaan rata-rata yang signifikan pada produksi antibakteri *Bacillus lentus*. Antibakteri *Bacillus lentus* memiliki aktivitas penghambatan pada bakteri gram negatif (*Proteus mirabilis*). Produksi antibakteri *Bacillus lentus* yang diproduksi pada medium SAQ tanpa penambahan sumber nitrogen ketika diujikan ke *Proteus mirabilis* pada waktu inkubasi 4 jam, 16 jam dan 20 jam dapat dipertimbangkan untuk dilanjutkan ke tahapan identifikasi, purifikasi dan karakterisasi antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirah. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri dari *Bacillus* spp. yang Berasosiasi dengan Landak Laut di Perairan Teluk Mentigi Lombok Utara. Skripsi Program Studi Biologi Universitas Mataram. Mataram.
- Awais, M., A. Pervez, S. Qayyum, M. Saleem. 2008. Effect of Glucose, Incubation Period and pH on The Production of Peptide Antibiotics by *Bacillus pumilus*. *African Journal Microbiology Research*. 2: 114-119.
- Awais, M., A.A. Shah, A. Hameed, F. Hasan. 2007. Isolation, Identification and Optimization of Bacitracin Produced by *Bacillus* sp. *Pak. J. Bot.* 39 (4): 1303-1312.
- Brooks, G.F., J.S. Butel, S.A. Morse. 2001. Mikrobiologi Kedokteran Edisi Pertama. Salemba Medika. Jakarta.
- Gales, A.C., A.O. Reis, R.N. Jones. 2001. Contemporary Assessment of Antimicrobial Susceptibility Testing Methods for Polymyxin B and Colistin: Review of Available Interpretative Criteria and Quality Control Guidelines. *J. Clin. Microbiol.* 39: 183-190.
- Haddar, H.O., G.M. Aziz, M.H. Al-Gelawi. 2007. Optimization of Bacitracin Production by *Bacillus licheniformis* B5. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 10 (6): 972-976.
- Jamil, B. F. Hasan, A. Hameed, S. Ahmed. 2007. Isolation of *Bacillus* MH-4 from Soil and Its Potential Polypeptidic Antibiotic Production. *Pak. J. Pharm. Sci.* 20 (1): 26-31.
- Kalalo, L. P., & Subagjo, B. 2018. Pola Bakteri dan Tes Kepekaan Antibiotika Wanita Hamil dengan Bakteriuria Asimtomatis. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 12(3), 103-109.
- Kemenkes RI. 2014. Infodatin: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Kemenkes RI: Jakarta.
- Ming, L.J. dan J.D. Epperson. 2002. Metal Binding and Structure-Activity Relationship of the Metallantibiotic peptide Bacitracin. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 91: 46-58.
- Moskowitz, S.M., R.K. Ernst, S.I. Miller. 2004. PmrAB, A Two-Component Regulatory System of *Pseudomonas aeruginosa* that

- Modulates Resistance to Cationic Antimicrobial Peptides and Addition of Aminoarabinose to Lipid A. *J. Bacteriol.* 186: 575-579.
- Rao, S. 2010. Zone of Inhibition for Various Antibiotics-Kirby Bauer Disk Diffusion. <http://www.microrao.com>. [22 Januari 2011].
- Schillaci, D., Cusimano, M. G., Cunsolo, V., Saletti, R., Russo, D., Vazzana, M. & Arizza, V. 2013. Immune mediators of sea-cucumber *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) as source of novel antimicrobial and anti-staphylococcal biofilm agents. *AMB Express*, 3(1), 35.
- WHO. 2018. Foodborn Illness (Penyakit Akibat Keracunan Makanan). WHO: Jakarta.

