

M E T A M O R F O S A
Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Pengaruh pH dan Suhu terhadap Produksi Antibiotika dari Isolat Bakteri Endofitik pada Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.)

Effect of pH and Temperature to Production Antibiotic from Isolate Bacteria Endophytes at Andalas Plant (*Morus macroura* Miq.)

Riski Budi Yani*, Anthoni Agustien, Feskaharny Alamsjah

Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, 25163

* Email: riskibudiyani1014@gmail.com.

INTISARI

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen data yang dianalisis secara deskriptif. Seleksi bakteri penghasil antibiotika dilakukan dengan metode kertas cakram menggunakan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian telah berhasil didapatkan pH optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah pH 7,0 sedangkan, suhu optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah suhu 37°C.

Kata Kunci: pH, suhu, antibiotika, bakteri endofitik, Morus macroura Miq.

ABSTRACT

The study used survey method and the data were analysed descriptively. The selection of the bacteria which produce antibiotic had been with paper disk method and used *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as the sample bacteria. This result showed pH 7,0 was succesful optimum pH antibiotic produced for *Bacillus* sp.1 and *Bacillus* sp.2. and 37°C was the optimum temperature to antibiotic produced from *Bacillus* sp.1 and *Bacillus* sp.2.

Keyword: pH, termperature, antibiotic, endophytes bacteria, Morus macroura Miq.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara terbesar yang mengimpor bahan baku obat dalam pembuatan antibiotika. Sebagai negara yang menghadapi berbagai penyakit infeksi, antibiotika merupakan kebutuhan obat mendasar di Indonesia. Impor bahan baku obat rentan terhadap perubahan harga, kualitas dan kesinambungan pasokan. Padahal, obat merupakan komoditas berfungsi sosial dan menentukan hidup orang banyak. Saat ini, 96 persen bahan baku obat diimpor. Untuk mengurangi ketergantungan terhadap negara lain, pemerintah Indonesia telah menetapkan

bahwa secara bertahap bahan baku antibiotika akan diproduksi secara fermentasi penuh didalam negeri dan memanfaatkan sumber daya alam yang dimiliki (Djamaan *et al.*, 1993). Produksi antibiotika dapat dilakukan dengan proses sintesis kimiawi dari tumbuhan dan mikroba (Crueger and Crueger, 1984 *cit.* Agustien, 2000).

Mikroba endofitik adalah mikroba yang hidup dalam jaringan tumbuhan. Mikroba ini hidup di antara sel tumbuhan dan bersimbiosis mutualisme dengan inangnya (Kumala *et. al.*, 2006). Dari sekitar 300.000 jenis tumbuhan yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing

tumbuhan mengandung satu atau lebih mikroba endofit. Secara teori, mikroba endofit yang diisolasi dari suatu tumbuhan obat dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tumbuhan aslinya atau bahkan dalam jumlah yang relatif tinggi (Radji, 2005).

Tumbuhan andalas (*Morus macroura* Miq.) merupakan tumbuhan flora identitas atau maskot daerah Sumatera Barat yang termasuk ke dalam famili Moraceae (Wydiastuti, 1993, *cit.* Desniwarni, 1996). Tumbuhan Andalas mengandung senyawa fenol golongan stilben, termasuk turunan resveratrol (3,5,4-trihidroksi-trans-stilben) dan oksiresveratrol (2,4,3,5-tetrahidroksi-trans-stilben) yang sangat potensial dalam bioindustri kosmetik (Soekamto *et. al.*, 2003) dan berhasil menemukan sejumlah senyawa turunan stilben. Dari tumbuhan Andalas juga diperoleh turunan oksiresveratrol, seperti oksiresveratrol (1), lunularin (2), dan dua senyawa baru dimer oksiresveratrol yang diberi nama andalasin A (3) dan andalasin B (4). Biotransformasi oksiresveratrol, sedangkan andalasin A, telah dilaporkan sebelumnya, merupakan inhibitor tirosinase yang kuat, yang sangat berguna dalam industri kosmetik.

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

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

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang dilakukan di Laboratorium

Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. Data yang didapatkan disajikan secara deskriptif yaitu membuat gambaran dalam bentuk Tabel (Nazir, 1998).

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

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

Sterilisasi Alat dan Medium

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan, lalu dibungkus dengan kertas kacang. Kemudian, alat-alat dan medium yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit. Hal ini dilakukan untuk pencegahan kontaminasi dari alat-alat dan medium yang akan digunakan. Sedangkan pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara dipijarkan diatas nyala api lampu spritus selama beberapa detik (Hadioetomo, 1990).

Medium Nutrien Agar (NA)

Medium NA terdiri atas *beef extract* 3 g, pepton 5 g, dan agar 15 g, Medium NA ditimbang sebanyak 23 g, lalu di masukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 1000 ml air suling. Kemudian campuran ini dipanaskan di atas *hotplate* sambil diaduk dengan magnetik stirer sampai homogen dan mendidih larutan dicukupkan 1000 ml dengan penambahan air suling. Selanjutnya, medium disterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit (Atlas, 1993).

Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *E. coli* dan *S. aureus*. *E. coli* dipilih mewakili bakteri Gram negatif, dan

S. aureus dipilih mewakili bakteri Gram positif (Jawetz *et. al.*, 2005). Kultur bakteri diperoleh dari Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

Pembuatan Inokulum

Disiapkan medium produksi antibiotika pH 7,0 sebanyak 1L dengan komposisi air rendaman jagung 3%, sukrosa 3%, CaCO₃ 0,5%, FeSO₄ 0,1%, MgCl₂ 0,2%, ZnSO₄ 0,01%. Medium dipanaskan sampai mendidih dan homogen. Sebanyak 25 ml media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer ukuran 100 ml lalu disterilisasi. Di inokulasi 1-2 ose biakan bakteri *Bacillus*. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C, agitasi 120 rpm selama 24 jam (Rahayu, 2006; Udin *et. al.*, 1991).

Efek pH Terhadap Produksi Antibiotika

Disiapkan medium produksi antibiotika dengan komposisi sama dengan pembuatan inokulum dengan variasi pH yang berbeda yakni : 6,5 ; 7,0 dan 7,5. Pembuatan medium produksi antibiotika dengan pH berbeda dilakukan penambahan 1N NaOH. Inokulum diinokulasi sebanyak 2,5 ml pada Erlenmeyer yang mengandung 47,5 ml medium produksi. Kultur di inkubasi pada suhu 37°C, agitasi 120 rpm selama 24 jam. Larutan antibiotika diperoleh dengan cara melakukan sentrifugasi pada sampel dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh merupakan larutan kasar antibiotika. Kemudian diuji potensi antibiotikanya (Haryanto *et. al.*, 1999).

Efek Suhu terhadap Antibiotika yang Dihasilkan

Disiapkan medium produksi antibiotika dengan komposisi sama dengan pembuatan inokulum menggunakan pH optimum yang sudah didapatkan. Kultur di inkubasi pada suhu yang berbeda yaitu 31-37°C, agitasi 120 rpm selama 24 jam. Larutan antibiotika diperoleh dengan cara melakukan sentrifugasi pada sampel dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh merupakan larutan kasar antibiotika. Kemudian diuji potensi antibiotikanya (Haryanto *et. al.*, 1999).

Uji Antibiotika

Pengujian antibiotika dari masing-masing bakteri dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram. Kertas cakram dibuat dengan merekatkan 3 lapis kertas saring Whatman No. 42, lalu dilubangi dengan pelubang kertas sehingga didapatkan cakram berdiameter 6 mm. Lalu disterilisasi dengan autoklaf. Lalu disediakan medium NA. Selanjutnya masing-masing medium di dalam cawan Petri dioleskan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan bakteri uji yang sudah diukur OD nya 0,4-0,6 yang sama dengan larutan max farland. Kertas cakram secara aseptis diletakkan diatas medium NA yang telah dioles dengan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C, selama 24 jam. Diameter hambatan yang terbentuk diukur dengan bantuan jangka sorong (Madigan *et. al.*, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek pH Terhadap Produksi Antibiotika

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

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

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

Tabel 1 menunjukkan bahwa *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 dapat menghasilkan antibiotika dengan zona hambat dari 0,75-1,30 mm pada bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*. Zona hambat yang paling besar dihasilkan pada isolat *Bacillus* sp.1 dengan pH 7,0 bakteri uji *S. aureus* (dapat dilihat pada Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofitik isolat dari daun tumbuhan Andalas mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan

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



Gambar 1. Zona hambat (a) yang terbentuk di sekeliling kertas cakram (b).

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa kedua jenis isolat *Bacillus* memiliki kemampuan untuk menghasilkan antibiotika yang mempunyai aktivitas terhadap kedua bakteri uji pada medium produksi dengan pH 6,5-7,5. Menurut Brooks (2008) pertumbuhan mikroba memerlukan faktor-faktor penunjang yang berbeda-beda tiap spesiesnya. Medium yang cocok untuk pertumbuhan harus mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba yang ditanam dan memenuhi faktor-faktor pertumbuhan yang terkontrol seperti pH, temperatur, dan aerasi. Sebagian besar mikroorganisme tumbuh dengan baik pada pH 6,0-8,0. sedangkan pada penelitian ini didapatkan pH yang optimum untuk pertumbuhan *Bacillus* adalah pH 7,0.

Adanya zona hambat yang terbentuk disekeliling bakteri menandakan adanya kemampuan isolat bakteri endofitik

menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa antibiotika yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Antibiotika diproduksi melalui alur sintesis khusus yang digolongkan sebagai metabolisme sekunder yang dihasilkan dalam alur metabolisme dan enzim yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel, dimana zona hambat yang terbentuk akibat difusi senyawa antibiotika keluar dari cakram yang mengandung supernatan ke dalam agar pada media dan mengakibatkan terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri uji (Schlegel dan Schmidt, 1994). Menurut Todar (2005), senyawa antibiotik yang dihasilkan *Bacillus* sp adalah basitrasin, pumulin, laterosporin, gramisidin, dan tirocidin yang efektif terhadap bakteri Gram positif serta kolistin dan polimiksin bersifat efektif terhadap bakteri Gram negatif.

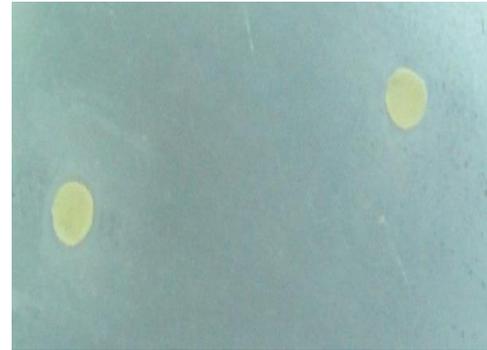
Bacillus sp.1 yang ditumbuhkan pada medium produksi dengan pH 7,0 menghasilkan aktifitas antibiotika paling tinggi (zona hambat sebesar 1,30 mm) pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*, sedangkan bakteri uji *Escherichia coli* aktivitas antibiotika yang paling tinggi pada isolat *Bacillus* sp.1 dan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

Efek Suhu terhadap Antibiotika

Efek suhu terhadap antibiotika yang dihasilkan dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 pada pH 7,0 disajikan pada Tabel 2. Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp. 2 yang tumbuh pada medium produksi, dapat menghasilkan antibiotika pada kisaran suhu 33-37⁰C. Pemberian suhu yang berbeda pada medium produksi bertujuan untuk mengetahui pada suhu berapakah yang paling

optimum dalam menghasilkan antibiotik. Adapun suhu yang digunakan dalam penelitian ini adalah: suhu 31⁰C-37⁰C. Kedua *Bacillus* pada suhu 31⁰C tidak menghasilkan antibiotika. Menurut Purwakusumah (2010), perbedaan suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada media. Isolat bakteri endofitik ini tergolong pada kelompok bakteri mesofilik. Mikroorganisme mesofilik merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang hidup pada kisaran suhu 25-40⁰C dan dengan kisaran suhu optimum 25-37⁰C (Black, 2005). Produksi antibiotika dipengaruhi oleh kondisi fermentasi yaitu pH awal medium, suhu fermentasi, aerasi, pemilihan biakan, dan yang terpenting adalah komposisi nutrisi dalam medium untuk pertumbuhan sel dan untuk produksi antibiotika.

bakteri, dimana zona hambat membuktikan bahwa senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri. Diameter zona hambat merupakan petunjuk kepekaan bakteri uji. Semakin besar zona hambat terhadap bakteri maka antibakteri tersebut mempunyai aktivitas yang semakin baik.



Gambar 2. Zona hambat yang tidak terbentuk

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

Isolat	Suhu (°C)	Zona hambat bakteri uji (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Bacillus</i> sp.1	31	-	-
	33	0,65	0,65
	35	0,75	0,75
	37	1,30	1,15
<i>Bacillus</i> sp.2	31	-	-
	33	0,75	0,75
	35	0,75	0,85
	37	0,75	1,15

Keterangan: tanda (-) menunjukkan tidak terbentuk zona hambat.

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

Menurut Dharma (1985), terhambatnya pertumbuhan bakteri terlihat dengan adanya diameter daerah bebas bakteri di sekitar kertas cakram. Besar diameter daerah bebas bakteri tergantung pada zat antimikroba yang ada. Terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram merupakan penentu dari aktivitas

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

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kedua jenis *Bacillus* memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotika paling tinggi yang mempunyai aktivitas terhadap kedua bakteri uji pada medium produksi dengan suhu 37⁰C (zona hambat 0,75-1,30 mm). Menurut Waluyo (2004), suhu merupakan salah satu faktor penting dalam kehidupan mikroba. Adapun yang berkaitan dengan suhu pertumbuhan dikenal dengan suhu minimum, maksimum, dan minimum. Suhu minimum adalah suhu terendah dimana kegiatan mikroba masih berlangsung. Suhu maksimum adalah dimana suhu tertinggi mikroba masih bisa hidup pada tingkat kegiatan fisiologi yang masih rendah. Sedangkan suhu

optimum adalah suhu yang paling baik untuk pertumbuhan mikroba.

KESIMPULAN

Dari penelitian diperoleh pH optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah pada pH 7,0 sedangkan suhu optimum dalam menghasilkan antibiotika dari *Bacillus* sp.1 dan *Bacillus* sp.2 adalah 37°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustien, A. 2000. Penapisan Jamur Endofitik Penghasil Antibiotika dari Hutan Pendidikan dan Biologi Universitas Andalas. Jurusan Biologi FMIPA Unand. Padang.
- Ardiansyah. 2005. Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan, <http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2005-05-31-Daun-Beluntas-Sebagai-Bahan-Antibakteri-dan-Antioksidan.html>.
- _____. 2009. Daun Baluntas Sebagai Antibakteri dan Antioksidan. Artikel IPTEK. Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan.
- Atlas, R.M. 1993. Handbook of Microbiological Media. CRS Press. Florida.
- Backman PA, Brannen PM & Mahaffe WF. 1994. Plant Respon and Disease Control Following Seed Inoculation with *Bacillus* sp. Di dalam: Ryder MH, Stephen PM, Bowen GD, editor. Improving Plant Production with Rhizosphere Bacteria. Australia: Pruc. Third Int. Work. PGPR South Australia.
- Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. 1985. Rancangan Kebijakan Dasar Pengembangan Produksi Bahan Baku Obat di Indonesia, BPPT, Jakarta.
- Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological Control of Plant Pathogens. San Fransisco: Freeman and Company.
- Black and Hawks. 2005. Medical Surgical Nursing Clinical Management for Positive Outcomes (Ed.7). Missouri: Elsevier Saunder.
- Black, J.M. and J.H. Hawks .2005. Medical Surgical Nursing. New York: Elsevier.
- Brock, T.D. and K.M. Brock. 1978. Basic Microbiology with Applications. Second edition. New Jersey: Prentice-hall Inc.
- Brooks, G.F., J.S. Butel, and S.A. Morse. 2008. Adelberg's Medical Microbiology, 24th Edition, USA: McGraw-Hill Companies pp 601-604.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 2001. Microbiology: A Laboratory Manual. 2nd Edition. New York: The Benjamin Cummings Publishing Company.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clement and E.A. Barka. 2005. Mini review: Use of Plant Growth, Promoting Rhizobacteriafor Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanism of Action and Future Prospect. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 4951-4959.
- Desniwarni. 1996. Studi Beberapa Aspek Ekologi dari Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) di Katiagan Paninjauan dan Batu Anjing Maninjau. Skripsi. Padang: Universitas Andalas.
- Dharma, A.P. 1985. Tanaman Obat Tradisional Indonesia. Jakarta: Penerbit Balai Pustaka.
- Djamaan, H., Arifin dan Hendri. 1993. Penelitian Pendahuluan Penapisan Mikroorganisme Tanah yang Dapat Menghasilkan Senyawa Antibiotika dari Sampel Tanah Kawasan Hutan Raya Bung Hatta Padang. *Majalah Farmasi Indonesia* 4(3).
- Fuad, A.M., R. Rahmawati dan N.R. Mubarik. 2004. Produksi dan Karakterisasi Parsial Protease Alkali Termos Tabil *Bacillus thermoglucosidasius* Af-01. *Journal Mikrobiology Indonesia* 9(1): 29-35.
- Hadioetomo, R.S. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek, Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Jakarta: PT Gramedia.
- Hakim, E.H. 2002. Puluhan Zat Kimia Baru dari Tumbuhan. <http://www.chem-istry.netfirms.com/berita/berita>.
- Hakim, E.H., S.A. Achmad, L.D. Juliawaty, L. Makmur, Y.M. Syah, N. Aimi, M. Kitajima, H. Takayama, E.L.Ghisalberti.

2006. Prenylated Flavonoids and Related Compounds of the Indonesian Artocarpus (Moraceae), *J Nat Med*, 60: 161-184.
- Haryanto, M. Singgih dan D. Kustaryono. 1999. Pengaruh monosakarida dan penggunaan sumber karbon lokal pada pembentukan eritromisin pada fermentasi *Streptomyces erythreus*. *Majalah Farmasi Indonesia* 10(3): 149-155.
- Jasmansyah. 2002. Kandungan Kimia Maskot Daerah Sumatera. [Http://www.chemistry.net.firms.com/berita/berita](http://www.chemistry.net.firms.com/berita/berita).
- Jawetz. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII, 317, Jakarta: Penerbit Salemba Medika