

**OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES* (ISOLAT
TE234) DAN UJI AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI



Diajukan oleh:

Sandi Kurniawan
NPM: 16.0605.0020

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAGELANG
MAGELANG
2020**

**OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES* (ISOLAT
TE234) DAN UJI AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam
Mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi
Universitas Muhammadiyah Magelang**



Oleh :

Sandi Kurniawan

16.0605.0020

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAGELANG
MAGELANG**

2020

PERSETUJUAN PEMBIMBING
OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES*(ISOLAT
TE234) DAN UJI AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus*

Skripsi yang di ajukan oleh:

Sandi Kurniawan

NIM. 16.0605.0020



Telah di setujui oleh

Pembimbing Utama

Tanggal



apt. Ratna Wijayatri, M.Sc
NIDN. 0505128501

17 April 2020

Pembimbing Pendamping

Tanggal



apt. Alfan Syarifuddin, M.Farm
NIDN. 0614099201

30 April 2020

PENGESAHAN SKRIPSI BERJUDUL

OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES*(ISOLAT
TE234) DAN UJI AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus*

Oleh :

Sandi Kurniawan
NIM: 16.0605.0020

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi (S1)
Universitas Muhammadiyah Magelang
Pada tanggal: 4 Mei 2020

Mengetahui
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Magelang
Dekan


(Puguh Widiyanto, S.Kp., M.Kep)

NIDN. 0621027203

Panitia Penguji:

Tanda Tangan

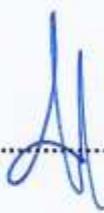
apt. Ni Made Ayu Nila.S., M.Sc


.....

apt. Ratna Wijayatri, M.Sc


.....

apt. Alfian Syarifuddin, M.Farm


.....

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sandi Kurniawan

NIM : 16.0605.0020

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Farmasi

Judul Penelitian : Optimasi Pertumbuhan Isolat *Actinomyces* (Isolat TE234) dan Uji Aktivitas Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa penelitian ini adalah hasil karya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya tidak bersifat materi yang dipublikasikan atau ditulis oleh orang lain atau digunakan untuk menyelesaikan studi di perguruan tinggi lain kecuali pada bagian bagian tertentu yang saya ambil sebagai acuan. Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya.

Magelang, 18 Februari 2020

Yang menyatakan,

Sandi Kurniawan

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi saya persembahkan kepada:

1. Puji syukur kepada Allah SWT, atas semua nikmat, kekuatan, kemudahan, dan anugerah yang telah diberikan kepada saya.
2. Bapak dan ibu sebagai rasa hormat, bakti, kasih dan sayangku kepadanya atas dukunganya dan doa yang diberikan sepanjang masa.
3. Untuk adekku yang telah memberikan arti sebuah semangat.
4. Untuk bapak Alfian Syarifuddin yang telah membimbing dan memberikan ilmu kepada saya juga sebagai senior Actinomycetes.
5. Kepada teman teman yang telah membantu atau memberikan dukungan lainnya.
6. Untuk jas almamaterku Universitas Muhammadiyah Magelang

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan tulisan skripsi dengan judul **“OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES*(ISOLAT TE234) DAN UJI AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*”**. Kegiatan penelitian ini adalah salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana Strata Satu (S1) Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang.

Terselesaikannya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari arahan dan bimbingan dari bapak Alfian Syarifuddin M.Farm.,Apt selaku pembimbing dengan kesabarannya dan ketulusannya memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi serta sumbangan pemikiran kepada saya. Saya mengucapkan banyak terima kasih kepada bapak Alfian Syarifuddin M.Farm.,Apt yang setulus-tulusnya semoga Allah SWT membalasnya dengan pahala yang setimpal, Amin.

Dalam penulisan skripsi yang begitu panjang yang menyita waktu, biaya, tenaga, pikiran serta perasaan ini. Alhamdulillah telah terselesaikan berkat bantuan semua pihak yang telah memberikan dorongan kepada saya. Saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr Suliswiyadi Mag selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Magelang.
2. Bapak Puguh Widiyanto,S.Kp.,M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang.
3. Bapak Alfian Syarifuddin, M.Farm.,Apt selaku pembimbing pertama.

4. Bapak Herma Fanani Agusta, M.Sc., Apt selaku pembimbing kedua.
5. Ibu Ni Made Ayu Nila S., M.Sc., Apt selaku penguji.
6. Seluruh dosen dosen Farmasi Universitas Muhammadiyah Magelang.
7. Seluruh staf laboran farmasi Universitas Muhammadiyah Magelang.
8. Teman temanku angkatan 2016 yang selalu memberikan semangat.

Saya sangat menyadari berbagai kekurangan dan kelemahan yang dimiliki walaupun dilakukan berbagai upaya untuk memberikan hasil yang terbaik dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu adanya kritik dan saran sangat di butuhkan yang sifatnya membangun, supaya tulisan ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca.

Akhir kata, mudah mudahan skripsi ini memberikan manfaat kepada pembaca dan memberikan wawasan keilmuan. Saya berharap semoga bantuan yang telah diberikan mendapatkan balasan dari Allah SWT.

Magelang, 18 februari 2020

Sandi Kurniawan

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI BERJUDUL.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Kajian teori.....	5
B. Kerangka Teori.....	18
C. Kerangka konsep.....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....	20
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	20
B. Sampel.....	20
C. Bahan dan Alat yang Digunakan.....	20
D. Prosedur Penelitian.....	21
E. Analisis hasil	24
F. Jadwal Penelitian.....	25

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
A. Kesimpulan	49
B. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori kekuatan daya hambat antibakteri.....	8
Tabel 2.2 Makromolekul Penyusun Materi Sel Bakteri.....	9

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus pertumbuhan bakteri.....	11
Gambar 2.2 Kerangka Teori.....	18
Gambar 2.3 Kerangka Konsep	19

INTISARI

Mikroorganisme penghasil antibiotik salah satunya adalah bakteri actinomycetes. Salah satu bakteri actinomycetes adalah isolat TE234 yang berasal dari tanah sekitaran tanaman tebu. Pertumbuhan actinomycetes melewati fase lag, merupakan fase awal yaitu jumlah sel sangat sedikit karena belum mengalami pembelahan dalam media baru. Fase log dimana mulai membelah dan mulai memasuki masa pertumbuhan atau penambahan jumlah sel secara logaritmik dan disebut fase eksponensial. Fase stasioner pada fase ini jumlah kematian mengimbangi jumlah sel yang baru dan populasi menjadi stabil. Fase terakhir yaitu fase kematian dimana jumlah kematian pada akhirnya akan melampaui jumlah sel baru. Isolat bakteri actinomycetes terjadi pertumbuhan optimum pada hari ke-9 dengan cara di ambil isolat bakteri actinomycetes TE234 sebanyak 1 ml setiap harinya sampai dengan 14 hari. Pengukuran biomassa dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV VIS. Pengukuran biomassa bertujuan untuk mengetahui pola pertumbuhan dari isolat Actinomycetes yang diperoleh. Banyaknya biomassa Actinomycetes di dalam larutan sebanding dengan besarnya absorbansi yang diperoleh dari hasil pengukuran spektrofotometer pada panjang gelombang 275,5 nm, terjadi pertumbuhan optimal pada hari ke-9. Pengujian produksi metabolit sekunder menggunakan metode sumuran dan dilakukan pengujian dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan hasil optimal pada hari ke-11 yaitu sebesar 7,06 mm dan hari ke-9 yaitu sebesar 6.97 mm.

Kata kunci: Actinomycetes, Spektrofotometri UV-VIS, Metabolit sekunder

ABSTRACT

One of the antibiotic-producing microorganisms is of actinomycetes bacteria. One of the actinomycetes bacteria is isolate TE234 from soil around the surgacane. The growth of actinomycetes passes through the lag phase, an initial phase in which the number of cells is very small because they have not undergone division in new media. The log phase which starts to divide and begins to enter a period of growth or addition of a number of cells in a logarithmic manner and is called an exponential phase. Stationary phase in this phase the number of dead offset the number of new cells and the population becomes stable. The final phase is the phase of death where the number of deaths will eventually exceed the number of new cells. Actinomycetes bacterial isolates occur optimum growth on the 9th day by taking 1 ml of actinomycetes bacterial isolate 1 ml every day for up to 14 days. Biomassa measurements were carried out using the UV VIS Spectrophotometry method. Biomassa measurement purpose to determine the growth patterns of the Actinomycetes isolates obtained. The amount of Actinomycetes biomass in the solution is proportional to the amount of absorbance obtained from spectrophotometer measurements at a wavelength of 275.5 nm, and optimal growth occurs on the 9th day. Testing of secondary metabolite production using the well method and testing with *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* showed optimal results on the 11th day at 7.06 mm and the 9th day at 6.97 mm.

Keywords: Actinomycetes, UV-VIS spectrophotometry, secondary metabolites

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Antibiotika merupakan produk metabolik yang dihasilkan suatu organisme tertentu, dalam konsentrasi kecil bersifat merusak atau menghambat mikroorganisme lain. Kata lain, antibiotika merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang menghambat mikroorganisme lain (Owaga E.E, 2009). Mikroorganisme penghasil antibiotik salah satunya adalah kelompok bakteri actinomycetes. Actinomycetes memiliki potensi yang sangat besar untuk menghasilkan senyawa baru. Sekitar 22.000 metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba, 70% diproduksi oleh actinomycetes, 20 % oleh fungi, 7% *Bacillus spp.* dan 1–2% oleh bakteri lainnya (Ratnakomala et al., 2016).

Pertumbuhan actinomycetes melewati fase lag, merupakan fase awal yaitu jumlah sel sangat sedikit karena belum mengalami pembelahan dalam media baru. Fase ini berlangsung selama satu jam atau selama beberapa hari. Fase log dimana mulai membelah dan mulai memasuki masa pertumbuhan atau penambahan jumlah sel secara logaritmik dan disebut fase eksponensial. Fase stasioner pada fase ini jumlah yang mati mengimbangi jumlah sel yang baru dan populasi menjadi stabil, aktivitas metabolisme juga melambat pada fase ini. Fase terakhir yaitu fase kematian dimana jumlah kematian pada akhirnya akan melampaui jumlah sel baru yang terbentuk dan populasi mulai memasuki penurunan jumlah sel.

Optimasi pertumbuhan isolat *Streptomyces sp.* A11 dalam medium glukosakhamir-pepton menunjukkan bahwa fase lag terjadi sampai dengan jam ke-8, fase pertumbuhan cepat (fase logaritma) terjadi pada selang waktu jam ke-9 sampai dengan jam ke-48, dan fase stasioner terjadi pada selang waktu jam ke-48 sampai dengan jam ke-144. Terjadi pertumbuhan sel cepat maka pada saat itu terjadi represi antibiotik sintetase, sehingga mikroba tidak menghasilkan metabolit sekunder (Sunaryanto, 2011). Optimasi produksi metabolit sekunder menunjukkan bahwa hari kedua merupakan waktu inkubasi terbaik untuk memanen antibiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat T24M Actinomycetes rizosfer tanaman tin (*Ficus carica L.*) menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan MRSA atau bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (Warsi. N, 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti akan melakukan optimasi pertumbuhan bakteri isolat TE234 dan melakukan optimasi waktu produksi metabolit sekunder/antibiotik isolat TE234 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil pertumbuhan bakteri actinomycetes isolat TE234 berdasarkan berat sel yang dihasilkan?
2. Bagaimana profil bakteri actinomycetes berdasarkan serapan pada Spektrofotometri UV-VIS?

3. Bagaimana profil waktu produksi metabolit sekunder dari cairan kultur isolat Actinomycetes (isolat TE234) sebagai penghasil antibiotik berdasarkan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui profil pertumbuhan bakteri Actinomycetes isolat TE234 berdasarkan berat sel.
2. Mengetahui profil pertumbuhan bakteri Actinomycetes berdasarkan serapan Spektrofotometri UV-VIS.
3. Mengetahui waktu produksi metabolit sekunder dari cairan kultur isolat Actinomycetes (isolat TE234) sebagai senyawa penghasil senyawa antibiotik berdasarkan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan manfaat, antara lain:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pertumbuhan bakteri isolat TE234 actinomycetes yang dilakukan sampling selama 14 hari sebagai penghasil antibiotik.
2. Memberikan informasi kepada institusi mengenai profil bakteri isolat TE234 dengan menggunakan uji Spektrofotometri UV-VIS.
3. Memberikan ilmu pengetahuan mengenai zona hambat bakteri isolat TE234 actinomycetes terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

4. Menambah keaneragaman mikroorganisme yang berpotensi menghasilkan antibiotik yang memiliki efek farmakologi lebih besar serta tingkat keamanan yang lebih tinggi dari antibiotik-antibiotik sebelumnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian teori

1. Actinomycetes

Actinomycetes merupakan bakteri Gram positif yang tersebar luas di alam dan didistribusikan di berbagai habitat ekologis seperti tanah, air tawar, lingkungan laut, tanaman atau endofit dan penghasil metabolisme sekunder (Kekuda, 2016). Actinomycetes merupakan bakteri Gram positif yang dicirikan dengan *High Guanine-Cytosine Gram Positive* oleh kandungan GC (*Guanine Cytosine*) tinggi Actinomycetes bersifat aerob, tumbuh lambat, membutuhkan temperatur sekitar 25°-37°C, berukuran besar dengan kecenderungan untuk membentuk rantai atau filament (Masda, 2018).

Actinomycetes bersifat uniseluler seperti bakteri dan tidak memiliki dinding sel yang berbeda, tetapi dapat menghasilkan miselium yang nonseptate dan lebih ramping. Actinomycetes pada umumnya dapat ditemukan di tanah, air tawar, dan laut. Berperan penting dalam dekomposisi bahan organik, seperti selulosa dan kitin, dan bagian penting dalam perputaran bahan organik dan siklus karbon, melengkapi nutrisi di tanah, dan merupakan bagian penting dari pembentukan humus. Koloni Actinomycetes membentuk konsistensi mirip tepung dan menempel kuat pada permukaan agar-agar, menghasilkan hifa dan spora seperti jamur di media kultur (Jiang, 2016).

Beberapa kasus, sering dijumpai kemiripan jenis dalam actinomycetes secara molekuler, namun berbeda secara morfologi dan fisiologi. Hal tersebut

dapat terjadi jika identifikasi molekuler yang dilakukan hanya terhadap satu atau beberapa gen penanda saja. Adanya data morfologi, fisiologi, dan molekuler akan memberikan hasil yang akurat tentang identitas actinomycetes. Karakterisasi tersebut dapat berupa kemampuan asimilasi berbagai jenis gula, toleransi suhu pertumbuhan, toleransi salinitas dan derajat keasaman (pH), produksi beberapa enzim tertentu, observasi morfologi miselium dan spora, serta produksi senyawa tertentu. Perbedaan karakter morfologi, fisiologi, dan biokimia antar isolat actinomycetes, dapat menjadi kunci dalam deskripsi spesies, selain informasi data molekuler (Agusta, 2015).

Menurut (Sastrahidayat, 2013) Actinomycetes termasuk mikroba heterotrof dan bersifat aerob. Keasamaan tanah (pH) yang sesuai untuk pertumbuhannya antara 6,5-8,0 dan populasinya akan menurun seiring dengan menurunnya derajat keasaman tanah. Kelembapan tanah yang sesuai untuk pertumbuhan Actinomycetes adalah 85%, bila kondisi tanah kering akan membentuk konidium. Suhu optimum untuk pertumbuhannya berkisar antara 25-30°C tetapi ada juga yang bersifat termofil dengan kisaran suhu optimum 55-65°C.

2. Antibiotik

Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Berbagai studi menemukan bahwa sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat antara lain untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik. Penelitian kualitas

penggunaan antibiotik di berbagai bagian rumah sakit ditemukan 30% sampai dengan 80% tidak didasarkan pada indikasi (Hadi, 2009).

Antibiotik merupakan senyawa alami maupun sintetis yang mempunyai efek menekan atau menghentikan proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh mikroba. Macam-macam kelompok antibiotik yaitu:

- a. Antibiotik yang mengganggu biosintesis dinding sel bakteri, Contoh antibiotik beta laktam adalah penisilin dan sefalosporin, sedangkan antibiotik kelompok glikopeptida contohnya adalah vankomisin.
- b. Antibiotik yang termasuk kelompok peptida yang mengandung lanthionine contoh nisin dan subtilin merusak molekul membran sel bakteri.
- c. Antibiotik kelompok makrolid bekerja menghambat sintesis protein bakteri.
- d. Antibiotik kelompok aminoglikosida menghambat proses translasi.
- e. Antibiotik kelompok tetrasiklin bekerja pada ribosom bakteri dengan cara menghambat interaksi kodon-antikodon antara mRNA dengan tRNA (Soleha, 2015).

Tabel 2.1 Kategori kekuatan daya hambat antibakteri

Diameter hambat	Kategori
> 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

(Stery B, Febby E.F, Pelealu, & Pandiangan, 2015)

3. Bakteri

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang relatif sederhana. Materi genetik tidak diselubungi oleh selaput membran inti, sel bakteri disebut dengan sel prokariot. Secara umum, sel bakteri terdiri atas beberapa bentuk, yaitu bentuk basil/batang, bukat, atau spiral. Dinding sel bakteri mengandung kompleks karbohidrat dan protein yang disebut peptidoglikan. Bakteri umumnya bereproduksi dengan cara membelah diri menjadi dua sel yang berukuran sama, ini disebut pembelahan biner. Nutrisi bakteri umumnya menggunakan bahan kimia organik yang dapat diperoleh secara alami dari organisme hidup atau organisme yang sudah mati. Beberapa bakteri dapat membuat makanan sendiri dengan proses biosintesis, beberapa bakteri yang lain memperoleh nutrisi dari substansi organik (Radji, 2010).

Tabel 2.2 Makromolekul Penyusun Materi Sel Bakteri

Makromolekul	Sub-unit primer	Terdapat pada
Asam nukleat	Nukleotida (DNA dan RNA)	DNA: nukleotida (kromosom), plasmid rRNA: ribosom, mRNA tRNA: sitoplasma
Protein	Asam amino	Flagel, pili, dinding sel, membran sitoplasma, ribosom, sitoplasma
Polisakarida	Karbohidrat	Kapsul bakteri, badan inklusi, dinding sel
Fosfolipida	Asam lemak	Membran sel

(Radji, 2010)

a. Fase pertumbuhan bakteri:

1) Fase lag

Fase ini merupakan fase awal, yaitu jumlah sel sangat sedikit karena sel belum mengalami pembelahan sel dalam media yang baru. Fase lag ini dapat berlangsung selama 1 jam atau beberapa hari.

2) Fase log

Pada fase ini, sel mulai membelah dan memasuki masa pertumbuhan atau penambahan jumlah sel secara logaritmik dan disebut dengan fase eksponensial. Reproduksi seluler paling aktif pada fase ini dan menunjukkan waktu generasi yang konstan sehingga grafik pertumbuhan

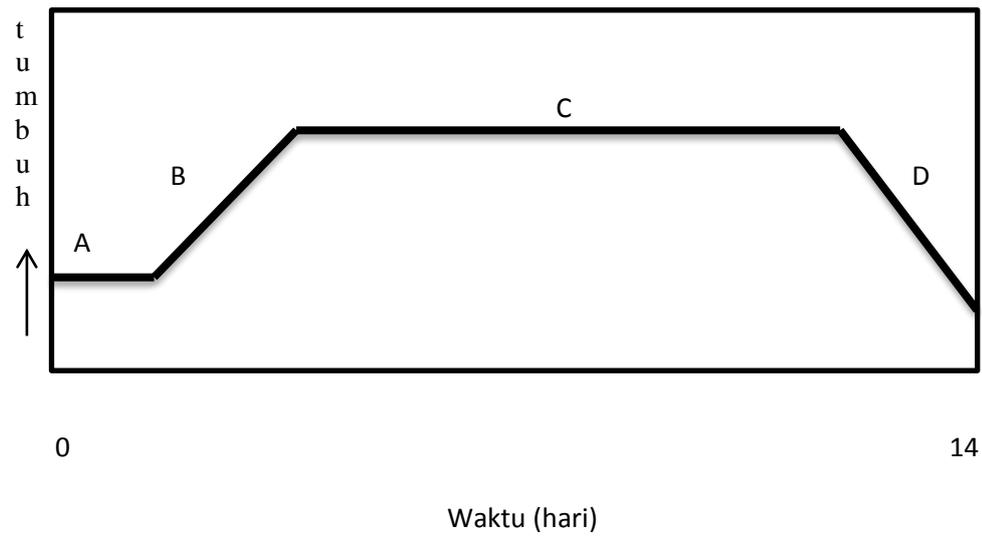
berupa garis lurus. Metabolisme sel paling aktif pada fase log. Selama fase log, bakteri menjadi lebih sensitif terhadap lingkungan yang buruk. Contoh, radiasi dan antibiotik dapat mempengaruhi beberapa tahap penting dalam proses pertumbuhan sel selama fase ini.

3) Fase stasioner

Bila pertumbuhan berlanjut tanpa terkontrol, dapat dihasilkan jumlah sel yang sangat besar. Contoh secara teoritis sel bakteri dengan berat $9,5 \times 10^{13}$ gram per sel yang membelah setiap 20 menit dapat berkembang menjadi populasi sel dengan berat mencapai setara dengan 80.000 ton hanya dalam waktu 25,5 jam. Namun demikian, kenyataannya hal tersebut tidak terjadi. Akhirnya tingkat pertumbuhan melambat, jumlah sel yang mati mengimbangi jumlah sel yang baru dan populasi menjadi stabil. Aktivitas melambat pada fase ini. Periode keseimbangan ini disebut dengan fase stasioner.

4) Fase kematian

Jumlah sel kematian pada akhirnya akan melampui jumlah sel baru yang terbentuk dan populasi sel memasuki fase kematian dan fase penurunan. Fase ini berlanjut sampai populasi menyusut menjadi fraksi kecil atau seluruh populasi mati.



Gambar 2.1 Siklus pertumbuhan bakteri

Keterangan :

- A: fase lag
- B: fase log
- C: fase stasioner
- D: fase kematian

3.1 Bakteri *Escherichia coli*

Kingdom	: <i>Prokaryota</i>
Divisio	: <i>Gracilicutes</i>
Class	: <i>Scotobacteria</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli adalah salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan gastroenteritis, dengan gejala mulai diare ringan sampai

hemolyticuremic syndrome, gagal ginjal dan kematian. *Escherichia coli* merupakan mikroflora alami yang terdapat pada saluran pencernaan manusia dan hewan. Keberadaan flora normal dalam saluran pencernaan akan memberikan keuntungan diantaranya adalah menghambat pertumbuhan bakteri patogen, menghasilkan vitamin B kompleks dan vitamin K (Tim Mikrobiologi, 2013).

3.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Divisi : *Protophyta* atau *Schizophyta*
Kelas : *Schizomycetes*
Bangsa : *Eubacteriales*
Suku : *Micrococcaceae*
Marga : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus berbentuk bulat atau kokus dengan diameter 0,4-1,2 μm . Hasil pewarnaan yang berasal dari perbenihan padat akan memperlihatkan susunan bakteri yang bergerombol seperti buah anggur. Untuk membiakkan bakteri *Staphylococcus* diperlukan suhu optimal antara 28-38 C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan adalah 37 C, pH optimal untuk pertumbuhannya adalah 7,4 (Atikah, 2013).

4. Spektrofotometri UV VIS

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, dan

diemisikan sebagai fungsi dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang di absorpsi.

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Alwi, 2017).

Daerah UV sekitar 10 nm – 380 nm, tetapi paling banyak penggunaannya secara analitik dari 200 – 380 nm dan disebut sebagai UV pendek (dekat). Di bawah 200 nm, udara dapat mengabsorpsi sehingga instrumen harus dioperasikan kondisi vakum, daerah ini disebut dengan daerah UV Vacuum.

Daerah tampak (visibel) sangat kecil panjang gelombang yang dikaitkan dengan cahaya tampak itu mampu mempengaruhi selaput pelangi pada manusia, dan karenanya menimbulkan kesan subyektif akan ketampakan (vision). λ daerah tampak dari 380 nm – sekitar 780 nm.

5. Metode – Metode pengujian antibakteri

Penentuan setiap kepekaan bakteri terhadap suatu bakteri patogen adalah dengan menentukan konsentrasi terkecil dari isolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut:

a. Metode Difusi

Metode ini penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah di inokulasikan dengan mikroba uji. Metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu

1. Metode sumuran

Metode pengujian yang digunakan adalah metode sumuran karena lebih cocok dan praktis untuk uji antibakteri atau obat yang berasal dari isolat bakteri. Metode ini membuat ekstrak dapat berdifusi secara maksimal karena bahan akan bertemu langsung dengan media pertumbuhan sampai ke dasar media melalui sumur yang dibuat pada media pertumbuhan kuman. Penelitian menggunakan dua jenis bakteri yaitu Gram positif *Streptococcus sp.* dan Gram negatif *Escherichia coli* dimana kedua bakteri tersebut bisa menyebabkan infeksi dan berbagai penyakit pada tubuh manusia. Kelebihan metode ini biaya yang digunakan lebih murah, cocok untuk pengujian ekstrak cair yang membutuhkan lebih banyak volume pengujian dan lebih mudah dalam pelaksanaan. Kekurangan perlu memperhitungkan diameter dengan ketebalan media agar supaya saat penuangan ke lubang sumuran tidak melebihi kapasitas lubang. (Lombogia et al., 2016).

2. Metode kirby bauer

Prosedur uji daya hambat dengan teknik difusi metode *Kirby Bauer* dilakukan dengan cara memulaskan suspensi bakteri pada media Muller Hinton Agar sampai seluruh permukaan tertutup

sempurna, lalu diletakan di atasnya *disk blank* yang telah ditetesi oleh konsentrasi bakteri actinomycetes yang akan diuji dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kelebihan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih isolat yang akan diperiksa. Kekurangan harga relatif mahal (Tuntun, 2011).

3. Metode Parit

Suatu lempeng yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat anti mikroba, kemudian di inkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan di peroleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Prayoga, 2013).

b. Metode Dilusi

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian yang diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba di dalam media. Metode ini terdiri dari 2 cara yaitu:

1. Pengenceran serial dalam tabung

Metode serial dalam tabung atau pengenceran bertingkat adalah proses pengenceran bertahap dari suatu zat dalam larutan. Metode ini lebih teliti dan masih dapat menghitung jumlah koloni dengan pengenceran tinggi. Kelebihan digunakan untuk mengujian antibiotik

secara simultan, kekurangan membutuhkan waktu dan biaya yang mahal (Zaki Mubarak, Santi Chismirina, 2016).

2. Penipisan lempeng agar

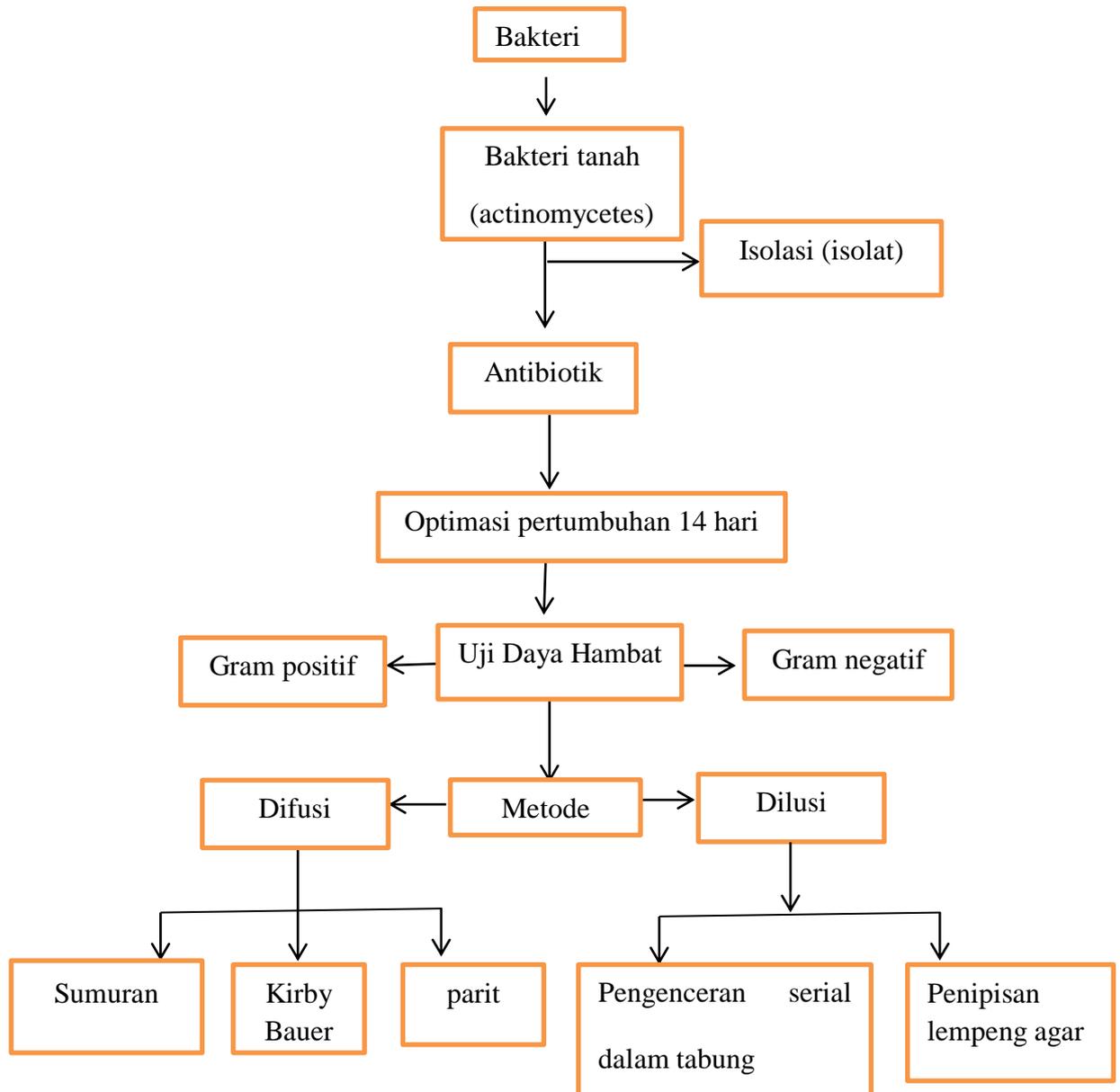
Isolat di encerkan dalam media agar dan kemudian di tuangkan kedalam cawan petri. Agar membeku diinokulasikan bakteri patogen kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsetrasi terendah dari isolat yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimum (Prayoga, 2013).

6. Penelitian yang Relevan

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Astriani, Djide, & Naid, 2018) Berdasarkan hasil uji daya hambat, dari 4 isolat, hanya 1 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Pemeriksaan ornamen rantai spora menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah Actinomycetes. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Ali, 2009) menyatakan jika suatu senyawa antibiotik dikatakan memiliki kemampuan penghambatan yang kuat jika luas zona bening yang dihasilkan di atas 20 mm. Berdasarkan zona hambat yang diperoleh, kemampuan penghambatan Actinomycetes isolat KP4 tergolong lemah. Ciri ini pula yang dapat digunakan untuk membedakan jamur dengan Actinomycetes. Pengambilan dan pengolahan sampel Sampel tanah yang diambil dari rizosfer kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) yaitu tanah yang melekat pada akar kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) sebanyak satu genggam dari 5 tempat yang berbeda dalam

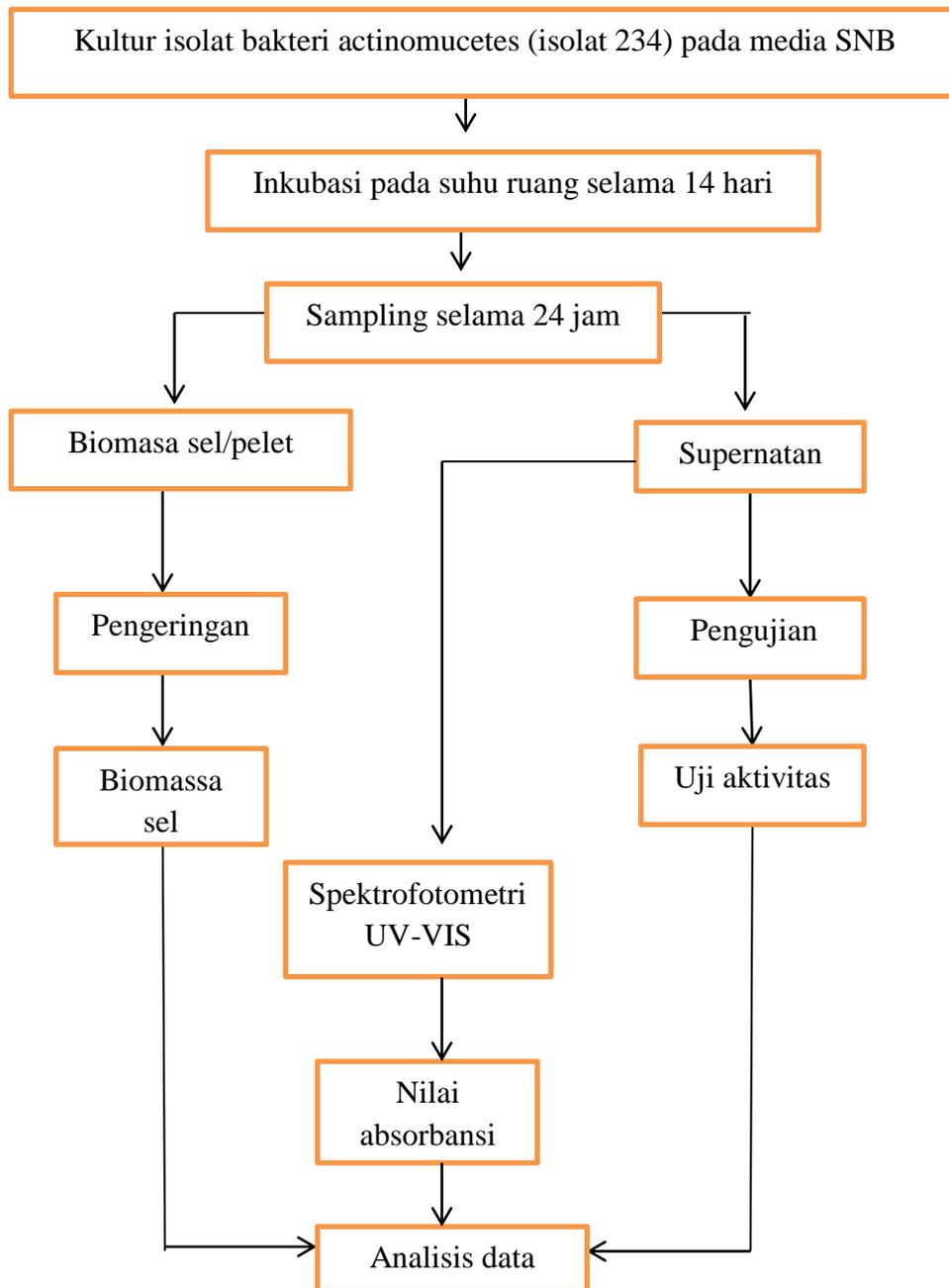
1 rumpun/lahan. Sebanyak 5 gram sampel tanah dilarutkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 45 ml aquadest, lalu dihomogenkan menggunakan vortex, selanjutnya diberi praperlakuan dengan metode heat shock yang dilakukan dengan memanaskan sampel selama 1 jam pada suhu 70⁰C. Kemudian sampel dibuat pengenceran bertingkat sampai 10⁻⁴. Masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml dan diinokulasikan dengan metode sebar (*pour plate*) pada medium *Starch Casein Agar* (SCA) yang sebelumnya telah disuplemensi Nystatin untuk mencegah pertumbuhan fungi di inokulasi pada suhu 30⁰ dan Uji potensi antimikroba dengan metode difusi agar. Optimasi dilakukan dengan metode sama dengan uji aktivitas cairan kultur. Cairan kultur harian yang diambil selama 20 hari diuji aktivitasnya terhadap *Staphylococcus aureus*. 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 (Sulistiyani & Narwanti, 2015).

B. Kerangka Teori



Gambar 2.2 Kerangka Teori

C. Kerangka konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis dan rancangan penelitian ini adalah dengan penelitian eksperimental di bidang mikrobiologi farmasi dan dilakukan di Laboratorium farmasi Universitas Muhammadiyah Magelang.

B. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah stater isolat bakteri TE234 dari tanah tanaman tebu (*Saccharum officinarum L*) yang bertempat di Madugondo, Sitimulyo, Piyungan, Bantul (7°49'57.9"S 110°26'01.1"E).

C. Bahan dan Alat yang Digunakan

1. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah starter isolat TE234 dari tanah tanaman tebu (*Saccharum officinarum L*). Bahan yang digunakan untuk uji adalah cairan kultur isolat bakteri Te234 media BHI, SNB, media Mueller Hinton, dan mikroorganisme yang digunakan untuk pengujian bakteri yaitu bakteri *Escherichia coli* (-) dan *Staphylococcus aureus* (+).

2. Alat

Alat alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain, cawan petri, pipet volume, *erlenmeyer*, tabung reaksi, kapas lidi steril, *magnet stirer*, *vortex*, *autoclaf*, *yellow tip*, timbangan analitik, pinset, lampu spirtus, kertas koran, LAF, kulkas, *sentifuge*, inkubator dan *eppendrof*.

D. Prosedur Penelitian

1. Sterilisasi

Alat – alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu harus dicuci bersih dan kering, untuk alat – alat gelas disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Spatel, jarum ose, dan kaca objek disterilkan dengan cara melewati di atas nyala bunsen selama 30 detik. Ruangan dan lemari kaca aseptis disterilkan dengan larutan alkohol 70 % sebelum dan sesudah kerja (Yosmar et al., 2013).

2. Pembuatan kultur cair

Sebanyak 5 ml starter isolat bakteri *Actinomycetes* isolat Te234 kemudian diinokulasi media dalam 50 ml cair Starch Nitrat Broth (SNB), kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari dengan penggojogan. Hasil kultur 5 hari disebut sebagai kultur starter (M.A. Ramdhani, 2018).

3. Kultur Uji

a. Penyiapan kultur uji

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Isolat bakteri hasil isolasi dari tanah pohon tebu (isolat Te234). Pembuatan starter dilakukan dengan cara mengambil 10 ml starter isolat bakteri Te234 dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL yang berisi media SNB steril sebanyak 50 mL(1:10). Inkubasi pada suhu kamar selama 5 hari dengan pengadukan menggunakan magnetic stirrer. Dilakukan kultur bertingkat dengan perbandingan (1:10) antara hasil kultur sebelumnya dengan media SNB baru hingga volume 3 liter. Kultur uji yang sudah dilakukan kultur bertingkat

diinkubasi selama 14 hari dan dilakukan pemanenan dengan cara disaring menggunakan corong *buchner*, kemudian dipekatkan pada suhu 50°C dan diekstraksi menggunakan etil asetat (Syarifuddin & Sulistyani, 2018).

b. Penyiapan supernatan

Hasil kultur uji yang telah diinkubasi selama 14 hari diambil 2 mL dimasukkan dalam *ependorf*, kemudian sentrifuse menggunakan alat sentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan dari endapannya (biomassa sel), lalu supernatan dimasukkan dalam tabung *ependorf* yang baru dan disimpan dalam *freezer*. Supernatan ini disebut sampel cairan uji (Oskay, 2011).

4. Pembuatan suspensi bakteri

Diambil 100 µL stok bakteri dimasukkan dalam 1 mL BHI, diinkubasi selama 18-24 jam, kemudian diambil 100 µL dimasukkan ke dalam BHI 1 mL, diinkubasi selama 3-5 jam di dalam inkubator. Ambil 100 µL bakteri diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai kekeruhan sama dengan standar Mc Farland $0,5 \times 10^{-8}$ CFU/mL (Syarifuddin & Sulistyani, 2018).

5. Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder berdasarkan aktivitas Antibakteri

Profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder dapat digunakan untuk menentukan jangka waktu (durasi) yang tepat (optimal) dalam melakukan fermentasi isolat tersebut sampai diproduksi antibakteri. Profil optimasi waktu produksi metabolit sekunder ini ditentukan dengan membuat grafik dengan sumbu X adalah lama fermentasi (hari) dan sumbu Y adalah rata-rata diameter zona hambat.

6. Analisis actinomycetes dengan Spektrofotometri UV-VIS

Analisis kultur actinomycetes menggunakan spektromoter ultraviolet-visible (UV-Vis) dengan panjang gelombang 200 – 400 nm dilakukan setelah didapatkan supernatan dalam jangka waktu 14 hari dan direplikasi sebanyak 3 kali.

7. Pemanenan

Kultur uji yang sudah diinkubasi selama 14 hari disaring menggunakan corong buchner. Terpisah antara supernatan dengan biomassa sel kemudian ambil supernatan untuk dilakukan proses ekstraksi.

8. Ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan etil asetat dengan perbandingan volume etil asetat:cairan kultur (1:1). Dilakukan pemisahan antara pelarut dengan senyawa antibakteri dengan menggunakan evaorator. Setelah volume berkurang, pengoptimalan pemisahan dengan cara di pekatkan dengan menggunakan waterbath agar tidak terdapat pelarut.

9. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis dilakukan dengan cara menotolkan ekstrak pada plat dengan bantuan pipa kapiler 5 μ L. Ekstrak etil asetat sebanyak 8 mg dilarutkan dengan metanol 40 μ L. Dielusi dengan larutan pengembang di dalam wadah tertutup rapat. Fase diam yang digunakan adalah silica gel F254. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform : metanol (7:3). Masukkan eluen/ fase gerak kedalam chamber dan dibiarkan hingga jenuh didalam chamber. Plat KLT dimasukkan ke dalam chamber dan biarkan sampel pada

plat KLT terelusi, kemudian dikeringkan. Dilihat profil pemisahan senyawa pada plat, dideteksi dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm kemudian tentukan nilai Rf nya (Alfian Syarifuddin, 2019).

E. Analisis hasil

Analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Pengambilan data berat sel yang dihasilkan selama 14 hari berupa kurva.
- b. Tampilan data kurva dari analisis Spektrofotometri UV-VIS dari supernatan yang di uji.
- c. Pengambilan data dari zona hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- d. Pengukuran diameter zona hambat dengan jangka sorong atau dengan penggaris.
- e. Pengujian zona hambat dengan menggunakan supernatan dari isolasi bakteri actinomycetes TE234 selama 14 hari.
- f. Analisis data menggunakan aplikasi SPSS.

Dilakukan pengujian SPSS yaitu zona hambat yang di hasilkan oleh isolat TE234 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* tujuannya yaitu untuk melihat pengaruh dari isolat TE234 terhadap bakteri uji.

F. Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Bulan/Tahun		
		November	Desember	Januari
1.	Persiapan Laboratorium dan survei bahan			
2.	Preparasi alat dan bahan			
3.	Proses Penelitian (pembuatan kultur bakteri dan mulai melakukan optimasi pertumbuhan isolat bakteri actinomycetes TE234)			
4.	Uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode sumuran terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .			
5.	Pengujian supernatan dengan menggunakan Spektrofotometri UV- Vis dengan panjang gelombang 200-400.			
6.	Pengumpulan data			
7.	Analisis data			
8.	Menyusun laporan			

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Mengetahui profil pertumbuhan bakteri *Actinomyecetes* isolat TE234 berdasarkan berat sel.
2. Mengetahui profil pertumbuhan bakteri *Actinomyecetes* berdasarkan serapan Spektrofotometri UV-VIS.
3. Mengetahui waktu produksi metabolit sekunder dari cairan kultur isolat *Actinomyecetes* (isolat TE234) sebagai senyawa penghasil senyawa antibiotik berdasarkan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai produksi metabolit sekunder sebagai penghasil antibiotik dengan menggunakan ekstrak dari isolat bakteri *Actinomyecetes* (isolat Te234).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai *sequencing* DNA untuk mengetahui strain dari isolat *Actinomyecetes* (isolat Te234).

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. N. & A. (2015). Identifikasi Molekular dan Karakterisasi Morfo - Fisiologi Actinomycetes Penghasil Senyawa Antimikroba. *Jurnal Biologi Indonesia*, 11(2), 195–203.
- Alfian, S., Kamal, S., Yuliasuti, F., Pradani, M. P. K., & Septianingrum, N. M. A. N. (2019). *Ekstraksi dan Identifikasi Metabolit Sekunder dari Isolat AL6 serta Potensinya sebagai Antibakteri Terhadap Escherichia coli (Extraction and Identification of Secondary Metabolites...* (December). <https://doi.org/10.29122/jbbi.v6i2.3516>
- Alfian Syarifuddin, N. S. (2019). *Karakterisasi Fraksi Teraktif Senyawa Antibiotik Isolat KP 13 dengan Metode Densitometri dan KLT-Semprot*. 4(1), 156–166.
- Alwi, H. (2017). *Validasi Metode Analisis Flavonoid dari Ekstrak Etanol Kasumba Turate (Carthamus tinctorius L.) Secara SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS*.
- Andi Dahlan, S. W., & Ansharullah. (2017). *Morfologi dan karakterisasi pertumbuhan bakteri asam laktat (um 1.3a) dari proses fermentasi wikau maombo untuk studi awal produksi enzim amilase* [. 2(4), 657–663.
- Astriani, A. D., Djide, M. N., & Naid, T. (2018). Uji aktivitas antimikroba actinomycetes dari tanah perakaran kunyit putih (Curcuma Zedoaria). *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 6(2), 66–71. Retrieved from http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/jurnal_farmasi/article/view/5803
- Atikah, N. (2013). *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum L) terhadap Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. UIN SYARIF HIDAYATULLAH JAKARTA.
- Bahi, M., & Metode, B. (2016). *Streptomyces sp . Isolation and characterization of secondary metabolites from marine bacterium*. 1(3), 161–164.
- Heri Satria, Dian Herasari, S. D. Y. (2011). *Kinetika Fermentasi Produksi Selulase dari Isolat Actinomycetes ACP-7 pada Media Padat Jerami Padi*. 33(2), 152–159.
- Jiang, D. dan. (2016). *Dhanasekaran and Jiang. 2016. Basic and Biotechnical Applications*.
- Kekuda, T. R. P. (2016). *Isolation , Characterization and Antimicrobial Potential of Endophytic Actinomycetes*. 5(7), 100–116.

- Lombogia, B., Budiarso, F., & Bodhi, W. (2016). Uji daya hambat ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieriae trifasciata folium*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus* sp. *Jurnal E-Biomedik*, 4(1).
- M.A. Ramdhani, N. S. (2018). *Uji Aktivitas Isolat Actinomycetes (Kode Gst, Kp, Kp11, Kp16, T24, Dan T37) Terhadap Staphylococcus Aureus Atcc 25923 Dan Escherichia Coli Atcc 25922*. 01(September), 29–37.
- Masda, N. U. R. R. (2018). *Isolat Actinomycetes SM-2 dari Rizosfer Senyawa Antibakteri Potency of Secondary Metabolisme Actinomycetes SM-2 Isolate From *Andrographis paniculata* Rhizosphere AS Producer of Antibacterial Compounds*.
- Naid, T., Kasim, S., & Marzuki, A. (2013). *Produksi Antibiotika Secara Fermentasi dari Biakan Mikroorganisme Symbion Rumput Laut *Eucheuma cottonii**. 1998(6).
- Owaga E.E, O. C. . and C. . N. E. (2009). Wasilatul Fadilla Hehehe. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 9(3), 1–8.
- Prayoga, E. (2013). *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L .) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus**. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Radji, M. (2010). *buku ajar mikrobiologi panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran*. jakarta: penerbit buku kedokteran EGC.
- Ratnakomala, S., Apriliana, P., Fahrurrozi, & dan Wien Kusharyoto, P. (2016). Antibacterial activity of marine actinomycetes from Enggano Island. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 15(3), 275–283.
- Soleha, T. U. (2015). Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. *Jurnal Kedokteran Unila*, 5(9), 119–123.
- Stery B, O., Febby E.F, K., Pelealu, J., & Pandiangan, D. (2015). UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK METANOL *Selaginella delicatula* DAN *Diplazium dilatatum* TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Sains*, 15(1).
- Sulistiyani, N., & Narwanti, I. I. N. (2015). *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)*. 13(2), 181–186.
- Sunaryanto, R. (2011). *Isolasi, purifikasi, identifikasi, dan optimasi medium fermentasi antibiotik yang dihasilkan oleh aktinomisetes laut*.

- Syarifuddin, A., & Sulistyani, N. (2018). *Aktivitas Antibiotik Isolat Bakteri Kp13 dan Analisa Kebocoran Sel Bakteri Escherichia coli (Activity of Antibiotic Bacterial Isolate Kp13 and Cell Leakage Analysis of Escherichia coli Bacteria)*. 16(2), 137–144.
- Tuntun, M. (2011). *UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN PEPAYA (Carica papaya L .) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Escherichia coli DAN Staphylococcus aureus*. 497–502.
- Warsi, N, S. (2018). *Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder dan Skrining Aktivitas Antibakteri Isolat Actinomycetes Rizosfer Tanaman Tin (Ficus carica)*. 7(1), 15–24. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v7i1.120>
- Yosmar, R., Suharti, N., & Rasyid, R. (2013). *Isolasi dan Uji Kualitatif Hidrolisat Jamur Penghasil Enzim Selulase dari Tanah Tumpukan Ampas Tebu*. *Jurnal Farmasi Andalas*, 1(1), 5–12.
- Zaki Mubarak, Santi Chismirina, H. H. D. (2016). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami dari Sarang Lebah Terhadap Pertumbuhan Enterococcus faecalis*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), 175–186.