OPTIMASI WAKTU PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES* (ISOLAT TE 325) DAN UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Farmasi

Di ajukan oleh:

ICHSAN FERI KURNIAWAN

NPM: 16.0605.0040

S1 FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAGELANG

2020

PERSETUJUAN PEMBIMBING

OPTIMASI WAKTU PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES* (ISOLAT TE 325) DAN UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

skripsi yang di ajukan oleh
Ichsan Feri Kurniawan
NPM: 16.0605.0040

Telah disetujui oleh

Pembimbing Utama

Ratna Wijayatri, M.Sc.,Apt
NIDN. 0505128501

Tanggal 18 Juli 2020

Pembimbing Pendamping

Alfian Syarifuddin, M.Farm., Apt
NIDN. 0614099201

Tanggal 18 Juli 2020

Pengesahan Skripsi Berjudul

OPTIMASI WAKTU PERTUMBUHAN ISOLAT *ACTINOMYCETES* (ISOLAT TE 325) DAN UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Oleh:

Ichsan Feri Kurniawan
NPM : 16.0605.0040

Dipertahankan di Hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi (S1)
Universitas Muhammadiyah Magelang
Pada tanggal :

Mengetahui
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Magelang
Dekan

Puguh Widiyanto,S.Kp.,M.Kep

Panitia Penguji	Tanda tangan
1. Ni Made Ayu Nila S, M.Sc., Apt	.....
2. Ratna Wijayatri, M.Sc.,Apt	.....
3. Alfian Syarifuddin, M.Farm., Apt	.....

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	:	Ichsan Feri Kurniawan
NIM	:	16.0605.0040
Program Studi	:	Farmasi
Fakultas	:	Fakultas Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian	:	Optimasi Waktu Pertumbuhan Isolat *Actinomycetes (Isolat* TE 325) dan Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

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, 09 April 2020

Yang menyatakan,

Ichsan Feri 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 terimakasih atas doa, semangat, motivasi, pengorbanan, nasehat, kasih sayang yang tidak pernah henti sampai saat ini.
3. Untuk bapak Alfian Syarifuddin yang telah membimbing, memotivasi, dan memberikan ilmu kepada saya, juga sebagai senior Actinomycetes.
4. Kepada tim Actinomycetes yang telah bekerja keras membantu dan tidak pernah lelah untuk penelitian ini.
5. Teman-teman S1 Farmasi 2016 yang telah membantu dan memberikan dukungan.
6. Zulda sarah kusumawati yang telah membantu, menemani jalannya penelitian dan penyusunan skripsi ini.
7. Para sahabat dan semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian hingga ujian.
8. Untuk jas almamaterku Universitas Muhammadiyah Magelang

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Dengan rahmat Allah SWT yang Maha pengasih lagi maha penyayang, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan dan menganugerahkan kasih sayang, rezeki dan kesehatan sehingga saya sebagai penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Optimasi Waktu Pertumbuhan Isolat *Actinomycetes* (Isolat TE 325) dan uji aktivitas ekstrak etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*". Shalawat serta salam penulis panjatkan kepada Nabi Muhammad SAW yang mengantarkan kita dari zaman jahiliyah hingga zaman yang terang benderang seperti saat ini.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat kelulusan Program Studi Strata satu Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang. Terselesaikan skripsi ini dengan waktu yang panjang yang menyita waktu, biaya, tenaga, pikiran serta perasaan. Alhamdulillah skripsi ini dapat teselesaikan dengan adanya kerja keras, tanggung jawab, doa, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, serta kritik dan saran yang membantu terselesaikannya skripsi ini. Saya mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Alfian Syarifuddin, M.Farm.,Apt selaku dosen pembimbing pertama, terimakasih banyak atas bimbingan, arahan, serta motivasi yang diberikan serta kebijaksanaanya dalam membimbing penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

2. Ibu Ratna Wijayatri, M.Sc.,Apt selaku dosen pembimbing kedua, terimakasih banyak atas bimbingan, kritik dan saran untuk perbaikan skripsi ini.
3. Ibu Ni Made Ayu Nila S.,M.Sc.,Apt selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan dan bimbingan dalam skripsi ini.
4. Seluruh bapak dan ibu dosen Program Studi Strata satu Farmasi Universitas Muhammadiyah Magelang yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis.
5. Seluruh staff Laboratorium Program Studi Strata satu Farmasi Universitas Muhammadiyah Magelang
6. Teman temanku angkatan 2016 yang selalu memberikan semangat.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih kurang sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran agar skripsi ini dapat menjadi lebih baik. Mudah-mudahan skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca dan memberikan wawasan keilmuan. Saya berharap semoga bantuan yang telah diberikan mendapatkan balasan dari Allah SWT.

Wassalamualaikum Wr. Wb

Magelang, 09 April 2020

Ichsan Feri Kurniawan

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
PERSETUJUAN PEMBIMBING ii
PENGESAHAN iii
PERNYATAAN iv
HALAMAN PERSEMBAHAN v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
INTISARI xiii
ABSTRACT xiv
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 3
C. Tujuan Penelitian 3
D. Manfaat Penelitian 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4
A. Kajian Teori 4
B. Penelitian yang relevan 15
C. Kerangka Konsep 16
BAB III METODE PENELITIAN 17
A. Bahan dan Alat yang digunakan 17
B. Jalannya Penelitian 17
C. Rancangan Penelitian 21
D. Jadwal Penelitian 22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 40
A. Kesimpulan 40
B. Saran 40
DAFTAR PUSTAKA 41

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Jadwal penelitian..... 22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kurva Fase Pertumbuhan Bakteri 9
Gambar 2.2 Kerangka Konsep 16
Gambar 3.1 Rancangan Penelitian 21

INTISARI

Bakteri merupakan salah satu penyeab Infeksi, Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah menggunakan antibiotik. Seiring perkembangannya banyak bakteri yang mengalami resistensi terhadap antibiotik. Hal ini dikarenakan bakteri lama kelamaan dapat bertahan terhadap antibiotik. yang menyerang (resisten) sehingga perlu mencari antibiotik yang baru. *Actinomycetes* merupakan mikroorganisme yang dapat memproduksi metabolit sekunder yaitu antibiotik. Isolat TE 325 telah di isolasi dari tanah rizosfer tanaman tebu. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak etil asetat isolat TE 325 terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta profil pertumbuhan isolat TE 325 terhadap biomasa sel dan spektrofotometri UV-VIS. Uji aktivitas ekstrak etil asetat dilakukan dengan menggunakan metode sumuran dengan hasil rata-rata diameter 8,04 mm (*Staphylococcus aureus)* dengan kategori sedang dan 9,035 mm (*Escherichia coli)* dengan kategori sedang. Hasil penelitian pada pertumbuhan bakteri *Actinomycetes* isolat TE 325 berdasarkan berat sel dan spektrofotometri UV-vis terjadi pertumbuhan optimal pada hari ke-9.

Kata kuci: *Actinomycetes*, Rizosfer, Spektrofotometri UV-VIS, Metabolit sekunder, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*

ABSTRACT

Bacteria are one of the causes of infection. Treatment of infections caused by bacteria is to use antibiotics. Along with the development of many bacteria that experience resistance to antibiotics. This is because bacteria over time can survive against antibiotics. which attacks (resistant) so it is necessary to find new antibiotics. *Actinomycetes* are microorganisms that can produce secondary metabolites, namely antibiotics. The TE 325 isolate was isolated from the rhizosphere soil of sugarcane. The purpose of this study was to determine the activity of ethyl acetate extract of TE 325 isolates against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* test bacteria and the growth profile of TE 325 isolates on cell biomass and UV-VIS spectrophotometry. The ethyl acetate extract activity test was carried out using the well method with an average diameter of 8.04 mm (*Staphylococcus aureus*) in the medium category and 9.035 mm (*Escherichia coli*) in the moderate category. The results of the study on the growth of the *Actinomycetes* bacteria isolate TE 325 based on cell weight and UV-vis spectrophotometry showed optimal growth on the 9th day.

Keywords: *Actinomycetes*, Rhizosphere, UV-VIS Spectrophotometry, Secondary metabolites, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Bakteri merupakan salah satu penyebab Infeksi. Beberapa rumah sakit melaporkan 50-70% Infeksi yang banyak diderita masyarakat adalah infeksi *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia, Salmonella, Shigella, Klebsiela*, dan *Staphylococcus aureus* serta *Pseudomonas aeruginosa*. (Ramadhan, 2011).

Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah menggunakan antibiotik. Seiring perkembangannya banyak bakteri yang mengalami resistensi terhadap antibiotik. Hal ini dikarenakan bakteri lama kelamaan dapat bertahan terhadap antibiotik yang menyerang (resisten). Bakteri yang resisten terhadap antiobiotik telah menyebabkan beberapa wabah infeksi yang serius dengan banyak kematian. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menemukan zat antibiotik yang baru yang dapat menghambat atau mematikan bakteri yang telah resisten tersebut (Wulandari & Rahayu, 2015). *Actinomycetes* diindikasikan sebagai bakteri gram positif yang mampu menghasilkan antibiotik. Sebanyak 95% dari 2000 antibiotik dihasilkan oleh *Actinomycetes* terutama S*treptomyces* (Pujiati, 2018). *Actinomycetes* banyak ditemukan pada tanah yang tumbuh lambat dan membutuhkan temperatur sekitar 25-37℃ dengan ukuran besar dengan kecenderungan untuk membentuk rantai atau filament. Bakteri *Actinomycetes* banyak ditemukan di tanah berumput (rizosfer) juga di tempat-tempat ekstrim seperti daerah bekas letusan gunung berapi (Wulandari, 2014).

Optimasi produksi metabolit sekunder yang dilakukan oleh (Warsi & Sulistyani, 2018) 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 (*Methicillin Resistant Staphyllococcus aureus).* Waktu optimum produksi metabolit sekunder oleh isolat bakteri Actinomycetes IBPT 01 terhadap bakteri patogen memiliki perbedaan yaitu hari ke-4, hari ke-7, hari ke-8, hari ke-9 dan hari ke-26 (Fitriana, 2018).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Syarifuddin, 2015) mengenai Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder berdasarkan Aktivitas Cairan Kultur Isolat *Actinomycetes* (Isolat J4) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang bertujuan untuk mengetahui waktu optimal dari isolat tersebut dalam memproduksi senyawa Antibiotik. Isolat TE 325 merupakan isolat bakteri *Actinomycetes* yang mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotik tetapi belum pernah dilakukan optimasi waktu produksi metabolit sekundernya berupa antibiotik. Berdasarkan hal tersebut peneliti bermaksud melakukan peneltian mengenai optimasi waktu fase pertumbuhan isolat *Actinomycetes* TE 325 dan uji aktivitas ekstrak etil asetat yang akan diuji kemampuan daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.*

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil pertumbuhan bakteri *Actinomycetes* isolat TE 325 berdasarkan berat sel yang dihasilkan?
2. Bagaimana profil produksi antibiotik bakteri *Actinomycetes* berdasarkan serapan pada spektrofotometri UV-VIS?
3. Bagaimana aktivitas ekstrak etil asetat isolate TE 325 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E.coli*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui profil pertumbuhan bakteri *Actinomycetes* isolat TE 325 berdasarkan berat sel.
2. Mengetahui profil produksi antibiotik bakteri *Actinomycetes* berdasarkan serapan pada spektrofotometri UV-VIS.
3. Mengetahui aktivitas ekstrak etil asetat isolat TE 325 terhadap bakteri *Saphylococcus aureus* dan *E.coli***.**

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi profil produksi antibiotik bakteri *actinomycetes* dengan menggunakan uji spektrofotometri UV-VIS.
2. Memberikan informasi tentang daya hambat isolate TE 325 terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *E.coli*
3. Memberikan informasi mengenai aktivitas ekstrak etil asetat isolate TE 325 terhadap *staphylococcus aureus* dan *E.coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Actinomycetes

Actinomycetes merupakan bakteri Gram positif yang mempunyai ciri- ciri kandungan GC tinggi (*High Guanine-Cytosine Gram Positive*) tinggi sekitar (57-75%). *Actinomycetes* mempunyai sifat aerob, tumbuh lambat, membutuhkan temperatur sekitar 25-37°C, berukuran besar dengan kecenderungan untuk membentuk rantai atau filament. Keistimewaan lain dari *Actinomycetes* selain penghasil antimikroba adalah dapat menghasilkan *plant grow factor*, antioksidan, herbisida, pestisida, antiparasit, serta enzim selulase dan xilanase. *Actinomycetes* memiliki distribusi pertumbuhan yang luas berupa filamen di dalam tanah, koloni di permukaan akar maupun di rizosfer (Masda, 2018).

Actinomycetes merupakan mikroba penghasil antibiotik paling tinggi. Sekitar 70% - 80% antibiotik dihasilkan oleh *Actinomycetes* terutama genus *Streptomyces* (Kanna et al., 2011). Peran *Actinomycetes* pada industri farmasi sangat penting karena *Actinomycetes* dapat memproduksi senyawa metabolit yang bervariasi, baik dari struktur maupun fungsinya. *Actinomycetes* menghasilkan Senyawa metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi. Metabolit yang dihasilkan *Actinomycetes* banyak dikembangkan sebagai bahan obat yang dapat menanggulangi berbagai macam penyakit (Hamidah, 2013).

Actinomycetes dianggap sebagai kelompok peralihan antara bakteri dan jamur tetapi sekarang dikenal sebagai organisme prokariotik. *Actinomycete*s adalah bakteri yang hidup bebas dan tersebar luas di tanah dan air. *Actinomycetes* dapat berasosiasi dengan tanaman tingkat tinggi. Populasi *Actinomycetes* telah diidentifikasi sebagai salah satu kelompok utama populasi tanah. *Actinomycetes* mempunyai morfologi yang berbeda dibandingkan dengan bakteri gram positif pada umumnya. Namun, struktur sel *Actinomycetes* termasuk prokariot dan sepenuhnya berbeda dengan jamur. Struktur sel hifa mirip dengan bagian-bagian bakteri yaitu : sitoplasma yang mengandung DNA genom, ribosom, dan berbagai inklusi, yang diduga menyimpan zat cadangan seperti polifosfat, lipid, atau polisakarida (Vitriani, 2014)**.**

2. Antibiotik

Antibiotik merupakan golongan obat keras yang hanya bisa didapatkan dengan resep dokter dan diperoleh di apotek. Jika dalam menggunakan antibiotik tidak memperhatikan dosis, pemakaian dan peringatan dapat menimbulkan efek yang berbahaya bagi tubuh. *Center for Disease Control and Prevention in USA* mengatakan bahwa terdapat 50 juta peresapan antibiotik yang tidak diperlukan dari 150 juta peresepan setiap tahun. Berbagai studi menemukan bahwa sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak membutuhkan antibiotik. 30-80% Rumah sakit ditemukan menggunakan antibiotik tidak berdasarkan indikasi (Yarza *et al*., 2015).

Antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme (khususnya dihasilkan oleh fungi) yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain. Secara garis besar antimikroba dibagi menjadi dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakterisid) dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik). Beberapa antibiotik golongan bakterisid yaitu penisilin, sefalosporin, aminoglikosida (dosis besar), kotrimoksazol, rifampisin, isoniazid dan lain-lain. Antibiotik golongan bakteriostatik yaitu sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetropim, linkomisin, klindamisin, asam paraaminosalisilat, dan lain-lain (Utami, 2012).

Antibiotik merupakan senyawa alami dan sintetik yang mempunyai efek menekan dan menghentikan proses biokimiawi dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh mikroba. Efek antibiotik pada organisme yaitu :

a. Menghambat sintesis dinding sel.
b. Merusak membran sitoplasma.
c. Menghambat sintesis protein atau.
d. Menghambat sintesis asam nukleat (wijayanti, 2009).

3. Bakteri

a. Jenis bakteri

Bakteri adalah sel prokariotik yang mempunyai genom berbentuk sirkuler dan mempunyai plasmid. Bakteri dikenal sebagai penyebab penyakit, bakteri juga mempunyai manfaat yang besar bagi kehidupan manusia yaitu pemanfaatan bakteri dalam pembuatan yogurt dan antibiotik.

Bakteri dalam tubuh manusia memberikan manfaat sebagai pertahanan untuk melawan infeksi, berperan dalam sistem imun, sumber nutrient dan menstimulasi pergantian epitel. Bakteri dalam tubuh manusia disebut dengan mikroba flora normal. Bakteri tersebut terdapat pada kulit dan selaput mukosa individu sehat dan normal, Kebanyakan bakteri anaerob dan fakultatif anaerob (Yasir, 2015).

Struktur eksternal bakteri meliputi glikokaliks, flagela, filamen aksial, fimbria, dan pili (Padoli, 2016).

1) *Glikokaliks* (selubung gula)

   Glikokaliks adalah substansi yang mengelilingi sel biasanya disebut sebagai kapsul. Kapsul yaitu lapisan disekeliling sel bakteri. Bakteri yang berkapsul umumnya lebih tahan terhadap efek *fagositosis*.

2) *Flagel*

   Flagel merupakan alat gerak pada bakteri yang berbentuk panjang dan ramping, *flagel* sendiri bahannya terdiri dari protein yang disebut *flagelin*.

3) *Filamen aksial* (endoflagela)

   Filamen aksial merupakan sekumpulan benang yang muncul pada ujung sel yang terletak di bawah selaput luar sel dan berpilin yang membentuk spiral di sekeliling sel.

4) *Fimbria*

   Fimbria merupakan golongan protein yang biasanya disebut dengan lektin *Fimbria* dapat mengenali dan terikat pada residu gula khusus pada polisakarida permukaan sel.

5) *Pili*

Pili merupakan organ yang berperan khusus dalam transfer molekul genetik (DNA) dari satu bakteri ke bakteri lain pada peristiwa konjugasi. Karena fungsinya yang spesifik pada transfer DNA bakteri, maka pili disebut sebagai pili seks.

b. Fase pertumbuhan bakteri

Terdapat beberapa fase pertumbuhan bakteri yaitu :

1) Fase lag (adaptasi)

Fase lag dalah fase pertama atau fase awal dimana saat bakteri dipindahkan ke media baru, bakteri tidak langsung tumbuh dan membelah, meskipun kondisi media sangat mendukung untuk pertumbuhan. Bakteri biasanya akan mengalami masa penyesuaian untuk menyimbangkan pertumbuhan dengan kondisi lingkungan seperti: Ph, Suhu, nutrisi dan lain sebagainya, pada fase ini peningkatan jumlah sel bakteri berlangsung lambat (Khoiriyah & Ardiningsih, 2014).

2) Fase log (eksponensial)

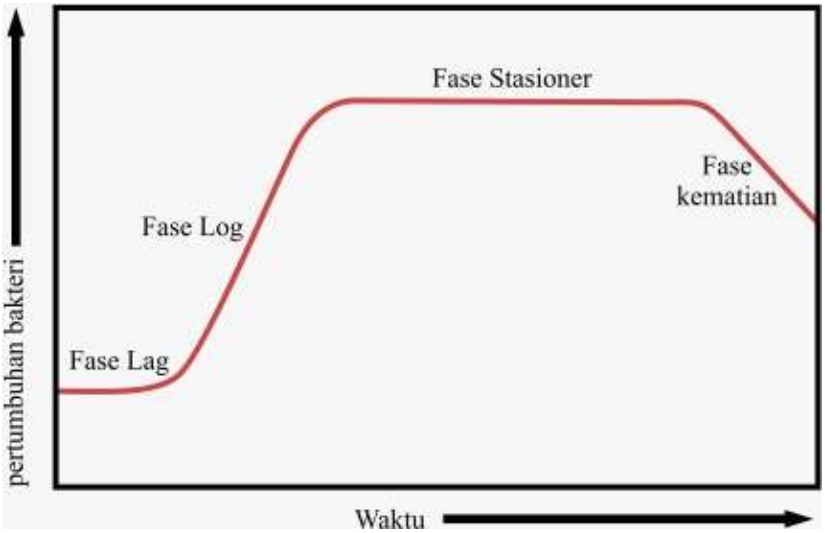
Fase log (eksponensial) ini terjadi peningkatan populasi sebanyak dua kali pada interval waktu yang teratur, jumlah koloni bakteri akan terus bertambah seiring berjalannya waktu dan aktivitas. Pada fase ini pertumbuhan bakteri berkembang sangat cepat (Khoiriyah & Ardiningsih, 2014).

3) Fase Stasioner (tetap)

Fase ini jumlah bakteri yang tumbuh sama dengan jumlah bakteri yang mati karena cadangan makanan sudah mulai menipis dan pada fase ini sel bakteri akan menghasilkan metabolit sekunder sebagai pertahanan diri terhadap lingkungan dan mikroorganisme (Khoiriyah & Ardiningsih, 2014).

4) Fase kematian

Fase ini sel bakteri akan lebih cepat mati dibandingkan dengan terbentuknya sel baru. Hal ini disebabkan karena kurangnya materi pertumbuhan seperti vitamin dan unsur mineral pada sel bakteri (Setyati, *et al*, 2015)



Gambar 2.1 Kurva Fase Pertumbuhan Bakteri

4. Metabolit

Bakteri dapat menghasilkan senyawa dalam melakukan aktivitas metabolisme, Senyawa metabolit berfungsi sebagai pertahanan hidup. Salah satu metabolit yang dihasilkan yaitu antibiotik. Metabolit diklasifikasikan

menjadi dua macam, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Senyawa metabolit primer merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup yang bersifat esensial. pada proses metabolisme sel dan keseluruhan proses sintesis dan perombakan zat-zat ini yang dilakukan oleh organisme untuk kelangsungan hidupnya. Senyawa metabolit primer terdiri dari karbohidrat, protein dan lemak (Wahidah, 2017).

Metabolit sekunder adalah suatu molekul atau produk metabolit yang dihasilkan oleh proses metabolisme sekunder mikroorganisme dimana produk metabolit tersebut bukan merupakan kebutuhan pokok mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh. Metabolit sekunder berupa molekul-molekul kecil, bersifat spesifik, mempunyai struktur yang bervariasi, setiap senyawa memiliki fungsi atau peranan yang berbeda- beda. Senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri atau untuk mempertahankan eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru. Senyawa metabolit sekunder yang umum adalah : alkaloid, flavanoid, steroid, saponin, terpenoid dan tannin (Ergina *et al*, 2014).

5. Bakteri

a. Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus Aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryota

Divisio : Bacteria

Class : Schizomyces

Ordo : Eubacteriales

Family : Micrococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang mempunyai sifat aerob atau anaerob fakultatif dan tahan hidup pada lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi yang tinggi, misal pada NaCl 10%. *Staphylococcus aureus* mempunyai bentuk bulat atau kokus dengan diameter 0,4-12 μm. *Staphylococcus aureus* hidup pada suhu optimal antara 28-38℃. Sebagian besar bakteri *Staphylococcus aureus* dinding selnya terdapat protein yang berkaitan dengan peptidoglikan secara kovalen dan asam teikoat (Atikah, 2013)

b. Bakteri *Eschericia Coli* (E.coli)

Klasifikasi bakteri *Eschericia Coli (E.coli)* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryota

Devisio : Gracilicutes

Class : Scotobacteria

Ordo : Eubacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Eschericiae

Spesies : *Eschericia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang banyak dimanfaatkan pada industri kimia. Pemanfaatan *E.coli*, pada industri kimia misalnya dalam produksi obat-obatan seperti insulin dan antiobiotik. ribuan jenis produk kimia bisa dihasilkan oleh bakteri *E.coli* dengan syarat genetikanya sudah direkayasa sehingga dapat menghasilkan jenis produk yang diinginkan. *E.coli* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit gastroenteritis, dengan gejala mulai diare ringan sampai hemolyticuremic syndrome, gagal ginjal dan kematian (Sutiknowati, 2016).

6. Uji Aktivitas Antibiotik

Uji aktivitas antimikroba dapat ditentukan dengan dua cara yaitu metode difusi dan dilusi. Pada metode difusi terdapat beberapa uji yaitu *disk diffusion* (tes Kirby & Bauer), *ditch plate technique*, *cup plate technique*. Sedangkan pada metode dilusi terdapat metode dilusi cair *(broth dilution test)* dan metode penipisan lempeng agar.

a. Metode Difusi

Pada metode ini, uji aktivitas antimikroba didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidak nya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling

zat antimikroba pada waktu tertentu. Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara,yaitu :

1) Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer)

   Metode ini adalah metode yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Metode ini menggunakan suatu cakram kertas saring (*paper disk*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Hasil dari pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Prayoga, 2013).

2) Metode Parit *(ditch plate technique)*

   Metode parit adalah suatu metode yang menggunakan lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dan dibuat seperti parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh menggunakan metode ini berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Prayoga, 2013).

3) Metode Sumuran *(cup plate technique)*

   Metode Sumuran adalah metode yang menggunakan lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dengan membuat suatu lubang

yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, Hasil pengamatan yang akan diperoleh menggunakan metode ini berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar lubang sumuran (Prayoga, 2013).

b. Metode Dilusi

Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba didalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi minimal dari suatu zat antimikroba uji yang memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode dilusi terdapat 2 cara yaitu :

1) Metode dilusi cair *(broth dilution test)*

Pengujian dilakukan dengan menggunakan beberapa tabung reaksi yang diisi dengan inoculum bakteri uji dan larutan antimikroba dengan berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair,kemudian diinokulasikan dengan bakteri uji dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Larutan antibmikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM (Kadar Hambat Minimum) (Prayoga, 2013).

2) Penipisan Lempeng Agar

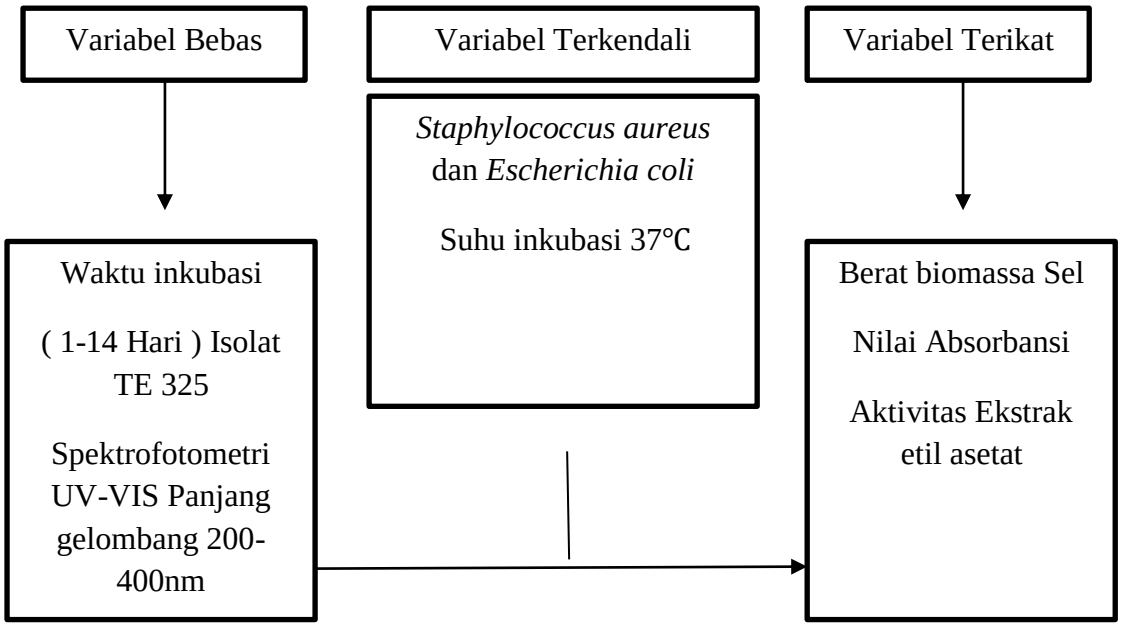
Zat antibakteri diencerkan dalam media agar kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Tunggu hingga agar membeku. Setelah agar membeku, diinokulasikan bakteri uji kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari suatu larutan zat antibakteri yang memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Prayoga, 2013).

B. Penelitian yang relevan

Penelitian yang dilakukan oleh (Ramadhan, 2011) penelitian yang berjudul "Isolasi *Actinomycetes* Penghasil Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dari Tanah Sawah" menunjukkan bahwa dari 30 isolat terdapat 4 isolat yang berpotensi menghasilkan antibiotik. Isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Escherichia coli* (Gram negatif). Penelitian yang dilakukan (Nurkanto & Agusta, 2015) dengan tujuan "Identifikasi Molekular dan Karakterisasi Morfo-Fisiologi *Actinomycetes* penghasil senyawa Antimikroba (*Molecular Identification and Morpho-Physiological Characterization of Actinomycetes with Antimicrobial Properties*)" juga menunjukkan bahwa *Actinomycetes* berpotensi sebagai antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Escherichia coli* (Gram negatif). (Ramadhan, 2011) juga melakukan pembandingan, hasil uji potensi dari isolate *Actinomycetes* dalam menghasilkan antibiotik diatas dapat dibandingkan dengan hasil uji potensi 3 macam antibiotik yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* yaitu tetrasiklin, eritromisin

dan kloramfenikol terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *E. coli.* Tetrasiklin mampu menghambat *E. coli* sebesar 39 mm (kuat) dan *Staphylococcus aureus* sebesar 51 mm (kuat), eritromisin yang hanya mampu menghambat *Staphylococcus aureus* sebesar 38 mm (kuat) dan kloramfenikol yang mampu menghambat *E.coli* sebesar 36 mm. Sedangkan pada *Actinomycetes* diantara 30 isolat hanya 2 isolat yang mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat 20,00 mm (satu isolat) dan kategori sedang 11,00 mm (satu isolat), sedangkan yang mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dan *E.coli* sekaligus ada 2 isolat, keduanya memiliki kategori sedang pada *Staphylococcus aureus* yaitu 10,00 mm dan 11,00 mm tetapi pada *E.coli* memiliki kategori sedang 13,00 mm (satu isolat) dan kategori lemah 6,00 mm (satu isolat).

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat yang digunakan

1. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain: starter isolate TE 325 yang diperoleh dari tanaman tebu (*Saccharum officinarum L*), media BHI, media Mueller Hinton, dan bakteri *Staphylococcus aureus dan Escherichia coli (E.coli).*

2. Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain: Cawan petri, Pipet volume, Erlenmeyer, Tabung reaksi, kapas lidi steril, *Magnetic stirrer*, Vortex, Autoklaf, timbangan analitik, *yellowtip*, LAF, Koran, Kulkas, Inkubator, pinset, *Eppendrof*, buncen, *Micropipet, centrifuge*.

B. Jalannya Penelitian

1. Sterilisasi

Alat-alat gelas dicuci kemudian dikeringkan ditutup menggunakan alumunium foil. Semua alat dan bahan (hanya aquades) yang akan digunakan disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu sebesar 121°C dengan mengatur tekanan sebesar 1,5 atm, kemudian pada sanitasi alat LAF yaitu dengan cara menyalakan sinar UV selama 15 menit kemudian semprotkan dengan alkohol lalu keringkan dengan tissue (Prayoga, 2013).

2. Pembuatan Kultur Stater

Sebanyak 5 ml isolat *Actinomycetes* TE 325 didiinokulasi kedalam erlenmeyer 50 ml yang berisi media cair *Starch Nitrat Broth* (SNB), kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari dengan agitasi menggunakan *magnetic stirer* (Ramadhani, 2018).

3. Kultur Uji

a. Preparasi Kultur Uji

Lakukan sterilisasi dahulu pada media SNB kemudian dilakukan Preparasi kultur uji dengan cara memasukkan 50 mL starter ke dalam Erlenmeyer yang berisi 500 ml media SNB streril. Media tersebut diinkubasi selama 14 hari dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirer*. Preparasi kultur uji ini dilakukan dengan cara steril dan dilakukan diruangan LAF yang telah disterilkan untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi (Syarifuddin & Sulistyani, 2019).

b. Pembuatan Supernatan

Penyiapan kultur uji adalah hasil dari kultur uji yang telah diinkubasi selama 14 hari. Sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam *eppendorf*, kemudian disentrifuse menggunakan alat sentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Kemudian Supernatan dipisahkan dari endapan biomassa selnya, lalu supernatan dimasukkan dalam tabung *eppendorf* yang baru dan disimpan dalam *freezer* (Syarifuddin & Sulistyani, 2019).

4. Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* dari stok bakteri disuspensikan ke dalam 1 mL media cair BHI, diinkubasi selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37°C. Sebanyak 100 µL, dimasukkan kedalam 1 mL BHI dan diinkubasi salama 4 sampai 8 jam pada suhu 37°C. Setelah itu encerkan menggunakan NaCl 0,9% sampai kekeruhannya sama dengan standar *Mc Farland* (10^8 CFU/mL) (Sulistyani, 2013).

5. Analisis Actinomycetes dengan Spektrofotometri UV-VIS

Analisis kultur *Actinomycetes* isolate TE 325 menggunakan spektromoter ultraviolet-visible (UV-Vis) pada panjang gelombang 260 nm yang dilakukan setelah mendapatkan supernatan dalam jangka waktu 14 hari dan dilakukan analisis replikasi sebanyak 3 kali.

6. Pemanenan

Kultur uji yang sudah diinkubasi selama 14 hari disaring menggunakan corong buchner kemudian filtrat dipekatkan dengan cara diuapkan pada suhu 50^0C.

7. Ekstraksi

Setelah dilakukan pemanenan maka kultur yang di agitasi selama 14 hari dilakukan ekstraksi dengan menggunakan etil asetat dengan perbandingan 1:1 antara etil asetat dengan kultur uji.

8. Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat

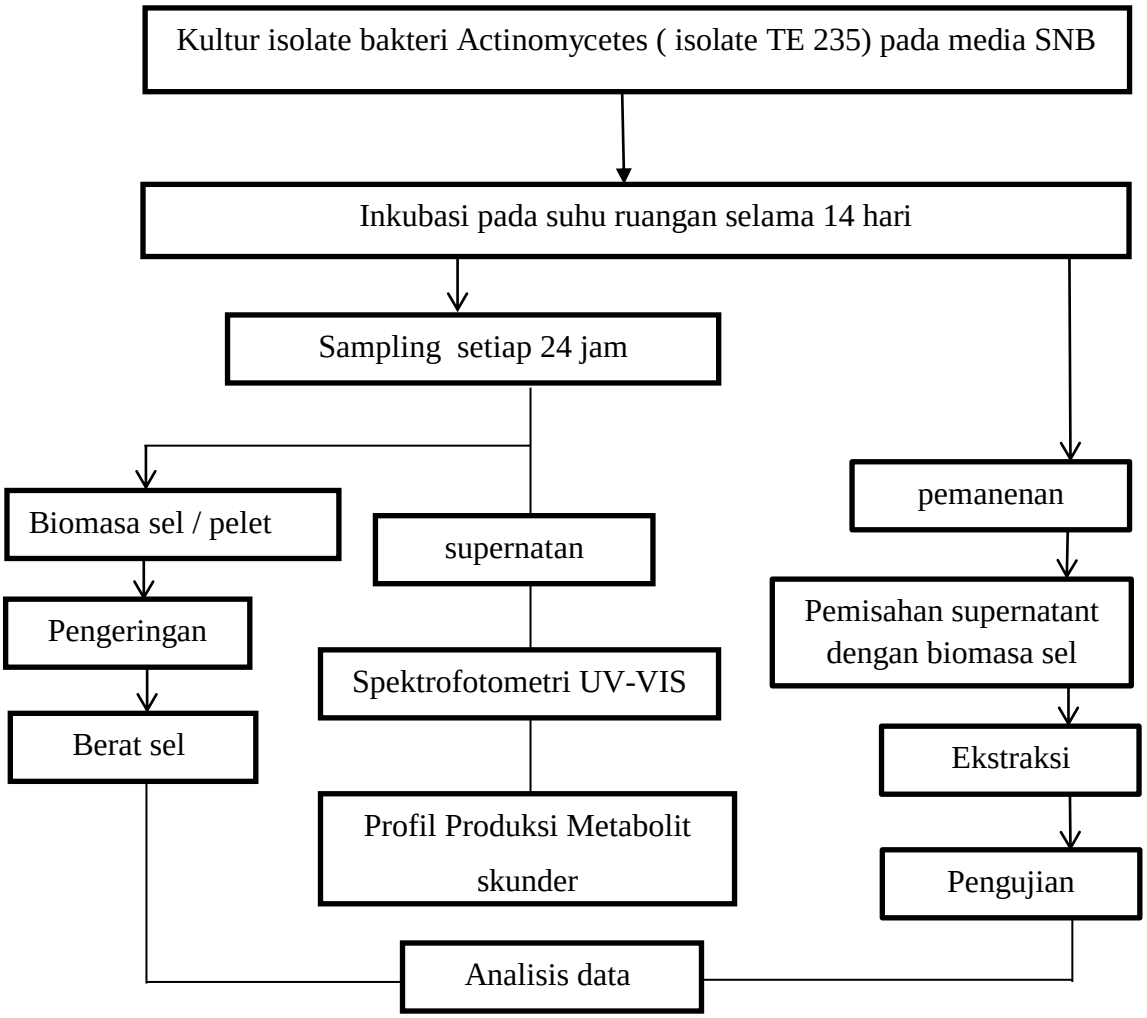
Uji aktivitas ekstrak etil asetat isolat TE 325 *Actinomycetes* ini menggunakan 2 bakteri yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan media agar *Mueller Hinton*. Media Agar *Mueller Hinton* ditanami (diusap secara zigzag dengan kapas steril) biakan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, kemudian kertas cakram tersebut diberi 20 µl ekstrak etil asetat 40% isolat TE 325 *Actinomycetes*. Diinkubasi selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37℃. Hasil dari inkubasi tersebut diamati dan diukur diameter zona hambatnya. Adanya senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh isolat TE 325 *Actinomycetes* dianalisis berdasarkan munculnya zona bening pada kultur bakteri uji di media padat (Sulistyani, 2013).

9. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis dilakukan dengan cara menotolkan ekstrak pada plat dengan bantuan pipa kapiler 5 µL. Ekstrak etil asetat sebanyak 8 mg dilarutkan dengan metanol 40 µL. 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). Fase gerak/eluen dibiarkan hingga jenuh didalam chamber, kemudian masukkan plat KLT kedalam chamber. Setelah dielusi plat KLT dikeringkan. Dilihat pemisahannya, dideteksi dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm kemudian hitung nilai Rf nya (Syarifuddin & Sulistyani, 2019).

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan mengoptimasi pertumbuhan isolat dan uji aktivitas isolat TE 325 *Actinomycetes* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli (E.coli).* Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan starter Isolat TE 325 *Actinomycetes* yang diperoleh dari tanaman tebu (*Saccharum officinarum L*) yang diisolasi oleh (Alfian Syarifuddin, M.Farm.,Apt). Rancangan penelitian dapat dilihat pada bagan dibawah ini.



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

D. Jadwal Penelitian

Tabel 3.1 Jadwal penelitian

No	Jenis Kegiatan	Bulan Kegiatan					
		1	2	3	4	5	6
1	Pembuatan Proposal						
2	Kultur Uji						
3	Kultur Stater						
4	Pemanenan dan Ekstraksi						
5	Aktivitas Antibakteri						
6	Analisis Spektrofotomerti UV-VIS						
7	KLT						
8	Analisis Data						

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa

1. Bakteri *Actinomycetes* bedasarkan berat sel dan absorbansi Spektrofotometri UV-VIS memiliki pertumbuhan optimal pada hari ke-9.
2. Uji aktivitas ekstrak etil asetat isolat TE 325 pada bakteri *Staphylococcus aureus* mendapatkan zona hambat dengan rata-rata diameter 8,04 mm dengan kategori sedang.
3. Uji aktivitas ekstrak etil asetat isolat TE 325 pada bakteri *E.coli* mendapatkan zona hambat dengan rata-rata diameter 9,035 mm dengan kategori sedang.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai optimasi produksi metabolit sekunder yang berdasarkan media sebagai sumber nutrisi, variasi suhu, dan variasi kecepatan putar sentrifugasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai produksi metabolit sekunder sebagai penghasil antibiotik dengan menggunakan ekstrak dari isolat bakteri Actinomycetes (isolat TE 325).
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai *sequencing* DNA untuk mengetahui strain dari isolat *Actinomycetes* (isolat TE 325).
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang KLT Bioautografi.

DAFTAR PUSTAKA

Atikah. (2013). *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum L) terhadap Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. 58Atikah. (2013). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstra.

Dahlan, A., Wahyuni, S., & Ansharullah. (2017). Morfologi dan karakterisasi pertumbuhan bakteri asam laktat (um 1.3a) dari proses fermentasi wikau maombo untuk studi awal produksi enzim amilase. *Jurnal Sains Dan Teknologi Pangan*, *2*(4), 657–663.

Dianty, R., Ardiningsih, P., Buchary, ;, & Rahman, A. (2015). Antimicrobial Activity Of Actinomycetes Extract From Sea Water Of Randayan Island, Bengkayang Againts Salmonella Sp. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, *3*(1), 1–13.

Ergina, Nuryanti, S., & Puspitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (Agave Angustifolia) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (Agave angustifolia) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air da. *J. Akad. Kim*, *3*(3), 165–172.

Fitriana, R. (2018). Penentuan Waktu Optimum Produksi Metabolit Sekunder Isolat Bakteri Actinomycetes Dari Tanah Rhizosfer Akar Tanaman Jarak Pagar (Jatropha Curcas L) Terhadap Bakteri Patogen. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *10 (01)*(9), 74–82. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Hamidah. (2013). *Isolasi dan identifikasi isolat actinomycetes dari rizosfer padi*. http://eprints.ums.ac.id/24203/1/COVER-INTISARI.pdf

Khoiriyah, H., & Ardiningsih, P. (2014). Penentuan Waktu Inkubasi Optimum terhadap Aktivitas Bakteriosin Lactobacillus sp. *Jkk*, *3*(4), 52–56.

Masda, N. R. (2018). *Isolat Actinomycetes Sm-2 Dari Rizosfer Senyawa Antibakteri Potency Of Secondary Metabolites Actinomycetes Sm-2 Isolate From Andrographis Paniculata Rhizosphere As Producer Of Antibacterial Compounds*.

Nur Wahidah, R. dan P. N. (2017). Analisis Senyawa Metabolit Primer Pada Jamur Merang. *Jurnal Akademika Kimia*, *6*(1), 43–47.

Nurkanto, A., & Agusta, A. (2015). Identifikasi Molekular dan Karakterisasi Morfo-Fisiologi Actinomycetes Penghasil Senyawa Antimikroba (Molecular Identification and Morpho-Physiological Characterization of Actinomycetes with Antimicrobial Properties). *Jurnal Biologi Indonesia*, *11*(2), 195–203.

Padoli. (2016). *Mikrobiologi dan Parasitologi Keperawatan* (I. Winarni, N. leo Saputri, & Suparmi (eds.); Vol. 66).

Prayoga, E. (2013). *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper Betle L .) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus*.

Pujiati, P. (2018). Isolasi Actinomycetes Dari Tanah Kebun Sebagai Bahan Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. *Florea : Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, *1*(2), 42–46. https://doi.org/10.25273/florea.v1i2.390

Rahayu, T. (2010). *Potensi Antibiotik Isolat Rare Actinomycetes Dari Material Vulkanik Gunung Merapi Erupsi Tahun 2010*. 1–5.

Ramadhan, H. (2011). *Isolasi Actinomycetes Penghasil Antibiotik Terhadap Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus dari tanah sawah*. *101*, 50–64.

Ramadhani, M. . dan N. S. (2018). *Uji Aktivitas Isolat Actinomycetes (Kode Gst, Kp, Kp11, Kp16, T24, dan 37) Terhadap Staphylococcus aureus Atcc 25923 dan Escherichia coli Atcc 25922*. *01*(2), 29–37.

Ramadhani, M. A., & Sulistyan, N. (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.

Setyati, wilis ari, Martani, E., Triyanto, Subagiyo, & Zainudin, M. (2015). Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen. *Ilmu Kelautan*, *20*(September), 163–169.

Sulistyani, N. (2013). *Aktivitas cairan kultur 12 isolat actinomycetes terhadap bakteri resisten*. *7*(2), 89–96.

Sutiknowati, L. I. (2016). Bioindikator pencemar, bakteri. *Oseana*, *XLI*, 63–71.

Syarifuddin, A. (2015). Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder Berdasarkan Aktivitas Cairan Kultur Isolat Actinomycetes (Isolat J4) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *53*(9), 1689–1699. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004

Syarifuddin, A., Kamal, S., Yuliastuti, 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. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, *6*(2), 210. https://doi.org/10.29122/jbbi.v6i2.3516

Syarifuddin, A., & Sulistyani, N. (2019). Karakterisasi Fraksi Teraktif Senyawa Antibiotik Isolat Kp 13 Dengan Metode Densitometri Dan Klt-Semprot. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, *4*(1), 156–166. https://doi.org/10.36387/jiis.v4i1.263

Utami, E. R. (2012). Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi.

International Journal of Stroke, *13*(5), 469–472. https://doi.org/10.1177/1747493018765493

Vitriani, P. (2014). *Surat Persetuiuan Artikel Publikasi llmiah*.

Warsi, W., & Sulistyani, N. (2018). The Optimization of Secondary Metabolite Production Time and Screening Antibacterial Activity of Actinomycetes Isolate from Tin Plant Rizosfer (Ficus carica). *Jurnal Teknologi Laboratorium*, *7*(1), 15. https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v7i1.120

Wijayanti, E. D. (2009). *Isolasi Dan Uji Aktivitas Antimikrobia Dari Isolat Streptomyces Terhadap Escherichia Coli Dan Uji Bioautografi*. 0–13.

Wulandari, W. (2014). *Aktivitas Antibakteri Isolat Actinomycetes Dari Sampel Pasir Gunung Merapi Dan Bromo Dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda Terhadap Bakteri Escherichia Coli Multiresisten Antibiotik Naskah*.

Wulandari, W., & Rahayu, T. (2015). Aktivitas Antibakteri Isolat Actinomycetes Dari Sampel Pasir Gunung Merapi Dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda Terhadap Bakteri Escherichia Coli Multiresisten Antibiotik. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, *1*(2), 53–59.

Yarza, H. L., Yanwirasti, Y., & Irawati, L. (2015). Hubungan Tingkat Pengetahuan dan Sikap dengan Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep Dokter. *Jurnal Kesehatan Andalas*, *4*(1), 151–156. http://jurnal.fk.unand.ac.id/index.php/jka/article/view/214

Yasir, Y. (2015). Bakteri dan Kesehatan Manusia. *Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman*, 72245. http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/article/view/2101