

Effectiveness of Metabolite Substance Filtrates of Actinomycetes isolates from Kebun Raya Bogor against the growth of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi*: In Vitro study

Muhammad Zaidan Tsani Ariandi¹, Meiskha Bahar^{2*}, Hany Yusmaini³, Fajriati Zulfa⁴, Cut Fauziah⁵, Andri Pramesyanti²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, FK UPN Veteran Jakarta

²Departemen Mikrobiologi, FK UPN Veteran Jakarta

³Departemen Farmakologi, FK UPN Veteran Jakarta

⁴Departemen Parasitologi, FK UPN Veteran Jakarta

⁵Departemen Biologi, FK UPN Veteran Jakarta

Article History

Received : February 03th, 2021

Revised : March 02th, 2021

Accepted : March 06th, 2021

Published : March 13th, 2021

*Corresponding Author:

Meiskha Bahar,

Departemen Mikrobiologi,

Fakultas Kedokteran UPN

Veteran Jakarta

Email: meiskha27@gmail.com

Abstract: Actinomycetes are found in soils with loose, humus, dry characteristics and around plant roots. Actinomycetes produce secondary metabolite compounds as antibacterial. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi* are Gram negative bacteria that can cause infection in humans. This study aims to determine the ability of the Actinomycetes metabolite filtrate from Bogor Botanical Gardens as an antibacterial agent against the growth of *E. coli*, *P.aeruginosa* and *S. typhi* in vitro. This study used an experimental design with samples of Actinomycetes isolats originating from the Bogor Botanical Gardens soil using the disc diffusion method on Muller Hinton Agar (MHA) media by looking at the clear zone of bacterial growth around the disc paper. Of the three concentration groups, namely 50%, 60%, and 70%, the largest average inhibition zone is found at a concentration of 70% with the average for the three test bacteria *E. coli*, *P.aeruginosa* and *S. typhi* respectively: 4.23 mm; 3.0 mm and 8.43 mm. The results of the Kruskal - Wallis test with p value = 0.01 showed that there was an effect of the Actinomycetes metabolite filtrate on the growth of the three tested bacteria as antibacterials.

Keywords: *Actinomycetes*; Antibacterial; Filtrate

Pendahuluan

Indonesia merupakan Negara berkembang yang memiliki angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) akibat penyakit infeksi yang tergolong tinggi. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroba patogen yang masuk ke dalam tubuh manusia seperti bakteri, jamur, dan virus. (Morse et.al, 2015). Bakteri patogen yang paling sering menjadi penyebab infeksi nosokomial salah satunya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini merupakan penyebab penyakit infeksi saluran kemih, meningitis, diare, nekrosis entrokolitis dan pneumonia (Harvey et.al, 2013). Penyakit infeksi yang paling sering ditemukan pada sistem pencernaan adalah dari golongan Enterobacteriaceae, Bakteri yang

tergolong ke dalam kelompok ini adalah bakteri batang, dengan sifat Gram negatif antara lain: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Klebsiella* dan *Campylobacter*.

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli*, *Salmonella*, adalah bakteri yang tergolong ke dalam Penyakit infeksi pada manusia yang disebabkan karena mikroorganisme patogen seperti bakteri merupakan permasalahan kesehatan yang cukup serius dan pengobatan dilakukan dengan pemberian antibiotik. Antibiotik merupakan senyawa organik yang dihasilkan oleh beragam spesies mikroorganisme dan bersifat mengganggu terhadap spesies mikroorganisme lain. Sifat dari antimikroba yang terbentuk adalah kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (efek

bakteriostatik) dan kemampuan untuk langsung membunuh bakteri (efek bakterisid). Menurut Ambarwati dalam Fatoni 2016 zat antimikroba yang diperoleh dari mikroorganisme lebih menguntungkan dari pada zat antimikroba yang diperoleh dari tanaman. Senyawa metabolit sekunder berupa antimikroba yang terkandung di dalam mikroorganisme seperti jamur atau bakteri telah dimanfaatkan selama beberapa dekade terakhir (Talukdar, 2016).

Actinomycetes merupakan bakteri Gram positif, berbentuk seperti filamen, membentuk spora dan dapat tumbuh pada suhu antara 25 – 30°C (Hasyim, 2013). Bakteri ini memiliki metabolit sekunder yang luas dan menghasilkan sekitar dua pertiga antibiotik yang digunakan pada pengobatan klinis saat ini (Barka et.al; 2016) Sekitar 70% antibiotik yang sudah ditemukan sampai saat ini yang diisolasi dari *Actinomycetes*, dimana sebagian besar berasal dari kelompok strain *Streptomyces* (Utami, 2020). Senyawa metabolit dari *Actinomycetes* telah cukup banyak yang sudah dikomersialkan. Sebagai contoh senyawa metabolit yang sudah dikenal yaitu Rapamisin, Rifamisin, dan Doksorubisin. Ketiga contoh senyawa tersebut telah diproduksi secara komersial sebagai antibiotik, antifungi, dan antikanker (Nurkanto, 2012).

Actinomycetes dapat dijumpai dan tumbuh pada tanah pekarangan serta perkebunan dengan karakteristik humus, kering, lebih dingin, dan di sekitar akar tumbuhan (Pujiati, 2014). Kebun Raya Bogor merupakan kebun botani terbesar yang memiliki beragam koleksi tanaman dan tumbuh-tumbuhan dengan iklim yang mendukung pertumbuhan beberapa jenis mikroba tanah salah satunya seperti *Actinomycetes*. Penelitian yang dilakukan Fatoni 2016 menemukan isolat *actinomycetes* asal pantai Baron Gunung Kidul Yogyakarta yang mampu menghambat dengan kategori penghambatan yang lemah terhadap bakteri *P.aeruginosa* (Fatoni, 2016). Selain terhadap *P.aeruginosa*, *Actinomycetes* juga mampu menghambat bakteri patogen lainnya seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Stenotrophomonas maltophilia* (Ceylan et.al; 2008).

Bahan dan Metode

Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan desain penelitian yang digunakan *posttest only control group*. Pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram untuk menguji fitrat zat metabolit *Actinomycetes* dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi* dengan hasil berupa zona hambat pada daerah sekitar kertas cakram.

Sampel Penelitian

Sampel dari penelitian ini adalah *Actinomycetes* yang berasal dari tanah Kebun Raya Bogor.

Alat Penelitian

Ose steril, Batang penyebar, Pembakar bunsen, Gelas Beker 500 ml, Pensil penanda alat gelas, Tabung biakan yang berisi 1 ml air steril, Rak tabung uji, Tabung uji, Spuit 5 ml, Bak pewarnaan, Mikroskop (*olympus*), Inkubator (*Memmert*), Cawan Petri, *Autoclave*, Pipet, Jangka sorong digital (*vernier*), Sentrifuge, Kertas filtrasi.

Bahan Penelitian

Isolat *Actinomycetes* yang digunakan pada penelitian setelah diremajakan, Suspensi biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*. Media selektif untuk isolat *Actinomycetes* adalah *Starch Casein Agar (SCA)*, *Media Mueller Hinton Agar (MHA)*, Media cair selektif untuk isolat *Actinomycetes* adalah *Starch Casein Nutrient Broth (SCNB)*, Antibiotik Tetrasiklin untuk kontrol positif, Nystatin untuk dicampurkan pada media SCA, *Aquades* untuk kontrol negatif. Bahan untuk pewarnaan yang digunakan adalah Ungu Kristal Karbol, Cairan Lugol, NaCl 0,9%, Safranin, Alkohol 96%.

Cara Kerja

Isolasi *Actinomycetes*

Isolat *Actinomycetes* yang diambil asal tanah Kebun Raya Bogor dilakukan peremajaan terlebih dahulu. Media *Starch Casein Agar (SCA)* ditambahkan dengan nystatin dan dituang ke cawan petri. Isolasi peremajaan *actinomycetes* diinokulasi ke dalam cawan petri menggunakan metode *streak plate*. Isolat selanjutnya

diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37° selama 14 hari.

Identifikasi *Actinomyces*

Identifikasi *Actinomyces* pada penelitian ini dilakukan dengan cara identifikasi makroskopik pada media SCA dan identifikasi mikroskopik melalui pewarnaan Gram.

Pembuatan Filtrat *Actinomyces*

Pada proses ini diperlukan sterilisasi alat terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Koloni pada isolat *Actinomyces* pada media SCA diinokulasikan pada media cair SCNB. Koloni diambil sebanyak satu ose dan ditumbuhkan pada 100 ml media SCNB dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Selanjutnya media SCNB dengan pertumbuhan *Actinomyces* disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan antara supernatant dan pelet.

Pembuatan variasi konsentrasi filtrat zat metabolit *Actinomyces* dengan menambahkan aquades pada masing masing konsentrasi. Rumus ($M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$) digunakan dalam pembuatan variasi konsentrasi filtrat *Actinomyces*.

Pembuatan Media

Pada pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA), sebanyak 38 gr MHA dilarutkan pada 1000 mL dan dipanaskan sampai mendidih dan diaduk lalu ditutup dengan kapas. Setelah disterilisasi selanjutnya melakukan suspensi pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi* sampai standar dengan kekeruhan standar yaitu 0,5 *McFarland* (konsentrasi 10^8 CFU/mL).

Pengukuran Daya Hambat

Media MHA yang telah ditumbuhkan *Pseudomonas Aeruginosa* dibagi menjadi 3 kuadran lalu diletakkan kertas cakram berdiameter 6 mm untuk uji aktivitas daya hambat terhadap *P.aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*. Selanjutnya dinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam setelah itu diamati zona bening yang terbentuk pada cawan petri. Pada pengujian ini zona hambat dapat diketahui klasifikasinya menurut Davis & Stout 2009: sangat kuat (zona bening > 20mm), kuat (zona

bening 10-19mm), sedang (zona bening 5-10mm), lemah (<5mm) (Davis & Stout, 2009).

Analisa Data

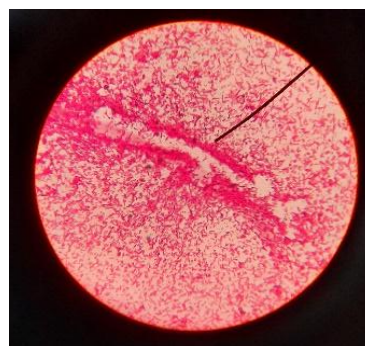
Analisis data hasil penelitian ini dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan kemudian dilanjutkan dengan uji Post Hoc (*Mann-Whitney*) untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok.

Hasil dan Pembahasan

Daya Hambat Filtrat

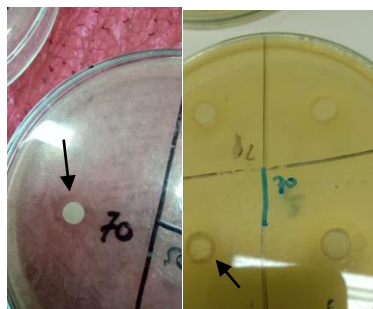
Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Difusi Cakram untuk mengetahui daya hambat Filtrat zat metabolit *Actinomyces* pada konsentrasi 50%, 60%, 70% terhadap bakteri uji pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Identifikasi mikroskopik dari pewarnaan Gram pada isolat *Actinomyces* menunjukkan bakteri basil halus berwarna ungu.



Gambar 1. Identifikasi mikroskopik isolat *Actinomyces*.

Daya hambat yang dihasilkan dari hambatan oleh isolat *Actinomyces* dapat dilihat dari zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram seperti yang terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Zona hambat berupa zona bening di sekitar kertas cakram.

Hasil penelitian zona hambat filtrat zat metabolit Actinomycetes terhadap *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi* dipaparkan dalam tabel berikut.

Tabel 1. Pengukuran Diameter Zona Hambat Terhadap *P.aeruginosa*

Zona Hambat Filtrat Zat Metabolit Actinomycetes Terhadap <i>P.aeruginosa</i> (dalam milimeter)					
Percobaan	50%	60%	70%	(+)	(-)
1	2.7	3.0	3.4	23.7	0
2	2.1	2.6	2.7	23.5	0
3	2.1	3.1	3.2	26.7	0
Rata-rata	2.22	2.68	3.0	24.5	0

Tabel 2. Pengukuran Diameter Zona Hambat Terhadap *E.coli*

Zona Hambat Filtrat Zat Metabolit Actinomycetes Terhadap <i>E.coli</i> (dalam milimeter)					
Percobaan	50%	60%	70%	(+)	(-)
1	1,4	2,4	4,2	24,7	0
2	1,5	2,5	4,1	23,9	0
3	1,7	2,8	4,4	24,5	0
Rata-rata	1,53	2,56	4,23	24,36	0

Tabel 3. Pengukuran Diameter Zona Hambat Terhadap *S.typhi*

Zona Hambat Filtrat Zat Metabolit Actinomycetes Terhadap <i>S.typhi</i> (dalam milimeter)					
Percobaan	50%	60%	70%	(+)	(-)
1	6,5	7,7	8,7	23,7	0
2	6,6	7,1	8,2	23,5	0
3	6,5	7,3	8,4	26,7	0
Rata-rata	6,53	7,36	8,43	24,63	0

Berdasarkan Tabel diatas menunjukkan filtrat zat metabolit Actinomycetes pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, dan kontrol (+) dapat menghambat pertumbuhan ketiga bakteri uji. Pada tabel menunjukkan kontrol (+) menggunakan tetrasiklin menunjukkan memiliki zona hambat terbesar dan kontrol (-) dengan menggunakan aquades tidak menunjukkan adanya daya hambat. Kelompok konsentrasi Actinomycetes 50%, 60%, dan 70% yang diperoleh dari rata-rata keseluruhan pengulangan

dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*, *E. coli*, dan *S. typhi*.

Pada uji *kruskal wallis* diperoleh nilai p signifikansi 0.001 ($p < 0,05$) yang dapat dilihat pada tabel dibawah. Pada uji tersebut dapat disimpulkan bahwa filtrat zat metabolit Actinomycetes memiliki pengaruh dan perbedaan daya hambat antibakteri terhadap bakteri uji untuk masing masing konsentrasi.

Tabel 2 Uji Kruskal-Wallis

Uji Data	Chi-Square	df	Sig.
Kruskal-Wallis	21.648	4	.001

Pada uji *Mann-Whitney* memperlihatkan hasil dengan nilai p signifikansi ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dan masing-masing kelompok konsentrasi filtrat zat Actinomycetes 50%, 60%, dan 70%. Perbedaan tidak bermakna terjadi pada kelompok konsentrasi 60% dengan kelompok konsentrasi 70% dengan nilai p signifikansi ($p > 0,05$).

Filtrat zat Actinomycetes

Pada identifikasi mikroskopik dengan pewarnaan Gram didapatkan gambaran bakteri berbentuk batang halus yang bersusun tunggal dan ada juga yang berantai berwarna ungu dengan sifat Gram Positif (Morse et.al, 2015). Identifikasi mikroskopik dilakukan berdasarkan pewarnaan Gram untuk melihat dan mengidentifikasi morfologi dari bakteri Actinomycetes.

Hasil pada penelitian daya hambat filtrat zat metabolit Actinomycetes asal tanah Kebun Raya Bogor terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi* ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi bahan yang digunakan berbanding lurus dengan kemampuan senyawa bioaktifnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Adhanti, 2012). Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi bahan antimikroba, maka semakin banyak zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga efektivitas dalam menghambat bakteri akan semakin meningkat dan menghasilkan zona bening yang lebih luas. Sebaliknya, pada

konsentrasi yang rendah maka zat antimikroba yang terdapat di dalam suatu bahan antimikroba akan semakin sedikit, sehingga aktivitasnya akan semakin berkurang (Pratiwi, 2008).

Menurut Davis dan Stout hasil pada penelitian ini berdasarkan rata-rata diameter zona hambat dikategorikan lemah karena diameter zona hambat yang terbentuk kurang dari 5 mm tetapi pada konsentrasi 70% memiliki diameter zona hambat dengan rata – rata yang tertinggi dari konsentrasi lainnya. Diameter zona hambat yang terbentuk dapat dipengaruhi beberapa faktor antara lain adalah konsentrasi senyawa antibakteri, jumlah bakteri, jenis bakteri, dan suhu (Hamzah, 2019). Dalam hal ini ketiga bakteri uji yang merupakan bakteri Gram negatif memiliki membran luar yang dapat membatasi penetrasi antibiotik, peptida – peptida antimikroba, dan molekul kecil lainnya karena rendahnya permeabilitas membran luar dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Oleh karena itu hal ini dapat mempengaruhi aktivitas kerja antibakteri actinomycetes dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (Leetanasaksakul, 2018)

Terbentuknya zona bening disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* asal tanah Kebun Raya Bogor dan memiliki aktivitas antibakteri. Secara umum mekanisme antibakteri yaitu dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat sintesis protein bakteri. Mekanisme antibakteri yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* dengan genus *Streptomyces* adalah menghambat sintesis protein bakteri Gram negatif. Secara umum dinding sel bakteri Gram negatif terutama tersusun atas membran membran luar yang terdiri dari lipid, protein, peptidoglikan, dan lipopolisakarida. Dinding sel dari bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis sehingga lapisan dinding sel akan mudah dirusak oleh senyawa antibakteri yang dihasilkan (Morse *et.al*, 2015).

Pada penelitian yang dilakukan Masda 2018 isolat *Actinomycetes* asal tanah dilakukan uji bioautografi untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif pada *Actinomycetes* (Masda, 2018) Penelitian menyatakan hasil skrining ekstraksi *Actinomycetes* terdapat kandungan flavonoid dan alkaloid. Kandungan senyawa

bioaktif tersebut memiliki kemampuan mengganggu permeabilitas sel bakteri. Selain itu pada penelitian yang dilakukan Subramani & Aalbersberg 2013 senyawa metabolit sekunder *Actinomycetes* menunjukkan aktivitas biologi sebagai immunosupresan, antifungi, antikanker, antibakteri, penghambat enzim, hingga insektisida (Subramani *et.al*, 2013).

Penelitian sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nur tahun 2013 mendapatkan hasil pengamatan bahwa filtrat *Actinomycetes* asal tanah sekitar pembungan limbah pabrik gula dapat menghambat pertumbuhan 2 bakteri uji yang merupakan bakteri Gram negatif yaitu *Salmonella thyposa* dan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 10 mm dan 12 mm (Nur, 2013).

Kandungan flavonoid dan alkaloid dari isolat *Actinomycetes* memiliki kemampuan mengganggu permeabilitas sel bakteri yang terdiri dari membran dalam dan membran luar. Membran luar tersusun dari lipopolisakarida (LPS) dan fosfolipid sebagai barrier terhadap benda asing. Namun, membran luar cenderung lebih permeabel karena terdapat porin yang tersusun dari protein sebagai jalan keluar masuk nutrisi dan senyawa kecil lainnya (López *et al.*, 2019). Semakin permeabel maka semakin mampu untuk menyerap senyawa yang lebih besar dan bersifat toksik, contohnya zat antibakteri

Kesimpulan

Filtrat zat *Actinomycetes* memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypoid* pada masing masing konsentrasi dan paling besar pada kelompok konsentrasi 70%.

Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada pihak Kebun raya Bogor yang telah memberikan izin untuk mengambil sampel tanah, untuk Bu Titik yang mambantu dalam pengerjaan di Laboratorium Mikrobiologi FKUPNVJ.

Referensi

Adhanti, R. (2012). Konsentrasi Efektif Ekstrak

- Daun Tembakau (*Nicotiana Tabacum*) Sebagai Pembersih Gigi Tiruan Resin Akrilik terhadap Jumlah *Streptococcus Mutans*.
<https://repository.unej.ac.id/handle/123456789/19381>
- Ambarwati, G. T. (2009). Isolasi aktinomycetes dari tanah sawah sebagai penghasil antibiotik. *J Penel Sains Teknol*, 10(2), 101-111.
<https://publikasiilmiah.ums.ac.id/bitstream/handle/11617/437/1.%20AMBARWATI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43. Available from: <https://mmbr.asm.org/content/80/1/1.short>
- Brooks, GF, Janet, SB, Stephen A. Jawetz, Melnick & Adelbergs (2007). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2007.
- Ceylan, Ö., Ökmen, G., & Uğur, A. (2008). Isolation of soil *Streptomyces* as source antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria.
<http://acikerisim.mu.edu.tr/xmlui/handle/20.500.12809/7761>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied microbiology*, 22(4), 659-665.
<https://aem.asm.org/content/22/4/659.short>
- Fatoni, J., Yuliani, R., & St, M. B. (2016). *Uji Potensi Antibakteri Isolat Rare Actinomycetes Material Pasir Pantai Baron Gunung Kidul Yogyakarta terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
<http://eprints.ums.ac.id/45796/>
- Hamzah, A. (2019). Analisis In Vitro Aktivitas Antibakteri Daun Sisik Naga (*Drymoglossum Pilosellaoides*) Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi* Dan *Vibrio Parahaemolyticus*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 8(2), 86-91.
- Hasyim, A., & Tulak, Y. F. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Actinomycetes Sebagai Penghasil Antibiotik Dari Sampel Tanah Pada Peternakan Sapi di Kecamatan Galesong Kabupaten Takalar. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 1(2), 97-100.
<http://103.55.216.56/index.php/biogenesis/article/view/454>
- Harvey C, Cornellissen CN, Fisher BD, AR. (2013). Lippincott's illustrated reviews Pharmacology 7th Edition pdf Free Download - Free Medical Books [Internet]. [cited 2020 Jul 29]. Available from: <https://mdlecture.blogspot.com/2019/11/lippincotts-illustrated-reviews-pdf-Free-Download.html>
- Kurniawan DC (2017). Daya Hambat Infusa Batang Bidara Laut (*Strychnosingustrina Blume*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Universitas Muhammadiyah Semarang [Internet]. Available from: <http://repository.unimus.ac.id/12.64/>
- Leetanasaksakul K, Thamchaipenet A. (2018). Potential anti-biofilm producing marine actinomycetes isolated from sea sediments in Thailand. *Agric Nat Resour* [Internet]. 52 (3):228–33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.09.003>
- Masda NR. (2018). Potensi Metabolit Sekunder Isolat Actinomycetes Sm-2 Dari Rizosfer *Andrographis Paniculata* Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. Universitas Hassanuddin Makassar [internet]. Available from: http://digilib.unhas.ac.id/uploaded_files/temporary/DigitalCollection/NmRkYmQ2NmI4ZDUxM2I5MzFmNGM5OGI1NjZ

- [mNjk3YzY4NjM2MDQ2NA==.pdf](#)
- Morse AS, Brooks GF, Butel JS. Jawetz Melnick & Adelbergs (2015). *Medical Microbiology* 27 E (Lange): 9780071824989: Medicine & Health Science Books @ Amazon.com [Internet]. [cited 2020 Jul 29]. Available from: <https://www.amazon.com/Jawetz-Melnick-Adelbergs-Medical-Microbiology/dp/0071824987>
- NUR AA. (2013). Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika Dari Tanah Sekitar Pembuangan Limbah Pabrik Gula Takalar. Universitas Hasanuddin Makassar [Internet]. Available from: http://digilib.unhas.ac.id/uploaded_files/temporary/DigitalCollection/OTA0ZmY2YTM3ZGQyYzZmMTZlZjY2Y2RmZjY1YzgzODE4MWMzNGEwNQ==.pdf
- Nurkanto A. (2012). Penapisan Actinomycetes Asal Raja Ampat, Papua Penghasil Antimikroba Dan Antikanker, Dan Identifikasi Molekuler Isolat-Isolat Terpilih. Universitas Indonesia [Internet]. Available from: <http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/20376144-T40830-Arif%20Nurkanto.pdf>
- Pratiwi S. (2008). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cincau Hijau Rambat (*Cyclea Barbata* Miers.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Bacillus Cereus* Dan *Shigella Dysenteriae* Secara In Vitro Dengan Metode Difusi. Repository UPN Veteran Jakarta [Internet]. [cited 2020 Jul 29]. Available from: <http://repository.upnvj.ac.id/2025/>
- Pujiati P. (2014). Isolasi Actinomycetes Dari Tanah Kebun Sebagai Bahan Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. *Florea, J Biol dan Pembelajarannya* [Internet]. 1 (2):42–6. Available from: DOI: 10.25273/florea.v1i2.390
- Subramani R, & Aalbersberg W. (2013). Culturable rare Actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. [cited 2020 Jul 29];97(21):9291–321. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24057404/>
- Talukdar M, Bordoloi M, Dutta PP, Saikia S, Kolita B, Talukdar S, et al. (2016). Structure elucidation and biological activity of antibacterial compound from *Micromonospora auratinigra*, a soil Actinomycetes. *J Appl Microbiol* [Internet]. [cited 2020 Jul 30]; 121 (4):973–87. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jam.13233>