

Growth Curve and Antibacterial Activity Test of Endophytic Bacteria Isolates 1 (IBE1) from Labu Koteka (*Lagenaria siceraria*) Against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and MRSA

Silvy Rizka Putri¹, Akmal Djamaan¹, Anthoni Agustien^{2*}

¹Departemen Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang, Indonesia;

²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang, Indonesia;

Article History

Received : February 07th, 2025

Revised : March 20th, 2025

Accepted : April 16th, 2025

*Corresponding Author:

Anthoni Agustien, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Indonesia;

Email:

anthoniagustien@sci.unand.ac.id

Abstract: The rising incidence of antibiotic-resistant bacteria presents a considerable global health threat, requiring the immediate creation of new antimicrobial drugs. A possible strategy involves investigating antibiotics sourced from endophytic bacteria, which are microorganisms that inhabit plant tissues symbiotically. This research is to assess the inhibitory efficacy of endophytic bacteria derived from *Lagenaria siceraria* against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The identified endophytic bacteria were cultivated in a fermentation medium to synthesize antibiotics, and their growth curves were examined. Subsequently, antibacterial activity assays were performed against the three harmful bacteria, measuring the sizes of the clear inhibitory zones. The results indicated that Isolated Bacteria Endophytic (IBE) 1 attained optimal inoculum levels at 24 hours and sustained the stationary phase from 24 to 36 hours. The isolates exhibited optimum fermentation on a medium utilizing glucose as the carbon source, with a carbon-to-nitrogen ratio of 5. IBE 1 had the most effective antibacterial action against *P. aeruginosa*, with a moderate inhibition characterized by clear zone widths of 10.80 mm. The findings indicate that endophytic bacteria from *Lagenaria siceraria* may serve as promising sources of new antimicrobial drugs, especially against *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Antibiotic, drug discovery, secondary metabolite.

Pendahuluan

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat telah menjadi masalah global yang serius, baik dari segi kesehatan maupun ekonomi. Menurut Center for Disease Control and Prevention (CDC) di Amerika Serikat, sekitar 50 juta resep antibiotik yang tidak diperlukan diberikan setiap tahun dari total 150 juta resep (Akalin, 2002). Di Indonesia, Menteri Kesehatan Endang Rahayu Sedyaningsih menyatakan bahwa 92% masyarakat tidak menggunakan antibiotik secara tepat (Utami, 2012). Antibiotik, meskipun memberikan manfaat besar jika digunakan dengan benar, dapat menimbulkan dampak buruk seperti resistensi antibiotik jika digunakan secara tidak rasional. Resistensi antibiotik tidak

hanya mengancam kesehatan individu tetapi juga membebani sistem kesehatan dan ekonomi global. Oleh karena itu, pencarian sumber senyawa bioaktif baru, terutama yang berasal dari alam, menjadi semakin penting seiring dengan munculnya penyakit-penyakit baru yang resisten terhadap pengobatan konvensional.

Mikroba endofit, yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit, telah menarik perhatian para peneliti karena kemampuannya menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai obat (Shore dan Sathisha, 2010). Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antimalaria, dan antijamur (Castillo et al., 2002; Simanjuntak et al., 2004). Keunggulan mikroba endofit dibandingkan tanaman inangnya adalah

kemudahan dalam budidaya dan siklus hidup yang pendek, sehingga lebih efisien untuk produksi senyawa bioaktif dalam skala besar. Indonesia, dengan kekayaan biodiversitasnya, terutama di kawasan hujan tropis, memiliki potensi besar sebagai sumber senyawa bioaktif baru (Redell dan Gordon, 2000). Selain itu, Indonesia juga dikenal sebagai sumber bahan baku obat tradisional karena keanekaragaman tumbuhan yang dimilikinya.

Masa mendatang, ada peluang besar untuk mengembangkan dan memanfaatkan mikroorganisme endofit yang mampu menghasilkan metabolit sekunder untuk mengatasi masalah infeksi (Astari et al., 2021). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah labu Koteka, atau *Lagenaria siceraria*, dari famili Cucurbitaceae. Tanaman ini mudah ditanam dan ada di seluruh dunia, dari tropis hingga subtropis. Buktinya, tanaman ini dapat ditanam di tempat berhawa dingin seperti dataran tinggi maupun tempat berhawa panas seperti dataran rendah (Sastrapraja, 1980). Mikroorganisme endofit yang dikumpulkan dari tanaman Labu Koteka ini sangat berpotensi menghasilkan produk antibiotik alami baru. Banyak zat fitokimia dalam labu koteka, tetapi kebanyakan orang tidak tahu manfaatnya (Shah, et al., 2010). Kalsium, zat besi, vitamin C, polifenol, dan saponin adalah beberapa contoh fitokimia yang dimaksud (Robinson, 1995). Ekstrak kasar etanol dari buah labu koteka *Lagenaria siceraria* (Molinda) Standl mengandung saponin, steroid, dan fenol (Marliana dan Saleh, 2011).

Jika tidak digunakan dengan benar, penggunaan antibakteri dapat mempengaruhi perkembangan bakteri patogen. Akibatnya, perkembangannya melebihi populasi asli, yang membuat bakteri patogen menjadi lebih resisten (Henri et al., 2015). Bakteri endofitik dari tanaman labu koteka, yang mengandung alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, dan steroid, merupakan salah satu sumber senyawa baru yang dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri novel (The Wealth of India, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi bakteri endofit dari tanaman Labu Koteka (*Lagenaria siceraria*) sebagai sumber senyawa antibakteri baru. Kebaruan penelitian ini berfokus terhadap mikroba endofit dari tanaman Labu Koteka,

yang belum banyak diteliti sebelumnya, meskipun tanaman ini diketahui memiliki kandungan fitokimia yang beragam. Dengan mengidentifikasi dan menguji senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit ini, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan obat antibakteri baru yang efektif melawan bakteri patogen resisten. Urgensi penelitian ini didasarkan pada kebutuhan mendesak untuk menemukan senyawa antibakteri baru guna mengatasi ancaman resistensi antibiotik yang semakin meningkat.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Biota Sumatra Universitas Andalas dan Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Andalas dan Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari 2023 hingga bulan Juni 2023.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain Autoclave, petri dish, lampu bunsen, jarum ose, gelas beker, Erlenmeyer, pinset, gelas ukur, tabung reaksi, vortex, mikropipet, mikrotips, tabung eppendorf, sentrifugasi, shaker incubator, hot plate, kamera, keranjang, rak tabung reaksi, spatula, karet gelang, jangka sorong, pH meter, laminar air flow.

Adapun bahan yang digunakan yaitu bakteri endofitik tanaman labu koteka *Lagenaria siceraria* (Molinda) Standl dan bakteri patogen uji *E. coli*, *P. aeruginosa* dan MRSA koleksi Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas, alkohol dan spiritus merk (Brataco®), media NA (Nutrient Agar) (Merck®), aquadest steril, kloramfenikol 3 mg/ml, larutan NaCl fisiologis 0,9%, serta spiritus. Media produksi antibiotik yang terdiri dari konsentrasi glukosa c/n 5, c/n 10, c/n 15, K₂HPO₄, KH₂PO₄ 0,2 M, Glukosa, dan MgSO₄ merk (Merck®), Vit B Complex dan Air rendaman jagung.

Metode penelitian

Penelitian ini akan menggunakan eksperimen yang dilakukan di laboratorium. Proses penelitian dimulai dengan mensterilisasi semua alat dan bahan yang digunakan. Setelah itu, autoklaf digunakan untuk sterilisasi selama lima belas menit pada suhu 121 derajat Celcius dan tekanan 15 pound.

Selanjutnya, media Nutrient Agar dibuat untuk menumbuhkan bakteri endofitik dan bakteri eksperimen. Dalam erlenmeyer, 20 gram serbuk NA dicampur dengan 1 liter air steril di atas hotplate. Aduk semuanya sampai rata. Setelah itu, media dibersihkan selama lima belas menit di autoklaf pada suhu 121 derajat Celcius dan tekanan 15 pound.

Dilakukan pembuatan medium fermentasi penghasil antibiotik sebagai perbandingan untuk uji antibiotik. Dalam media fermentasi terdapat 3 gram KH_2PO_4 , 3 gram K_2HPO_4 , 3 gram MgSO_4 , 5 gram NaCl , air rendaman jagung 6%, vitamin 0,1%, dan ditambah aquadest hingga mencukupi 1 liter. Selanjutnya, larutan medium disterilkan. Tiga variasi konsentrasi glukosa digunakan: C/N 5 : 4,8 g/l glukosa, C/N 10 : 9,7 g/l glukosa, dan C/N 15 : 14,6 g/l glukosa (Djamaan & Dewi, 2014). Terakhir, sumber nitrogen dibuat dengan melarutkan 1,1 gram $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ ke dalam 1 liter aquadest. Setelah itu, sumber nitrogen juga disterilkan.

Bakteri endofitik isolat 1 (IBE 1) adalah jenis bakteri yang digunakan, yang diisolasi dari buah tanaman labu koteka. Isolat bakteri endofitik ini kemudian diperbarui dengan mengambil 1 ose bakteri dan menggoreskannya pada medium NA miring melalui streak plate. Isolat kemudian disimpan pada suhu ruang selama 24 jam.

Setelah sumber inokulum yang telah ditumbuhkan sebelumnya diinkubasi selama 24 jam, inokulum sebanyak 5% (v/v) ditambahkan ke dalam medium cair produksi antibiotika untuk membuat kurva pertumbuhan. Medium cair produksi antibiotika diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C dengan agitasi 150 rpm. Pencuplikan dilakukan setiap dua belas jam untuk mengukur biomassa bakteri dan aktivitas antibakteri.

Variasi C/N glukosa terdiri dari glukosa C/N 5, C/N 10, dan C/N 15 serta 1,1 g/l sumber nitrogen untuk masing-masing varian. masing-masing dimasukkan ke dalam 100 mililiter medium fermentasi penghasil antibiotika.

Selanjutnya, inokulum bakteri ditambahkan ke dalam media fermentasi dengan perbandingan 5% (v/v). Selanjutnya, dishaker pada suhu 30 °C pada kecepatan 150 rpm dan dicuplik pada waktu yang tepat untuk pengujian antibakteri.

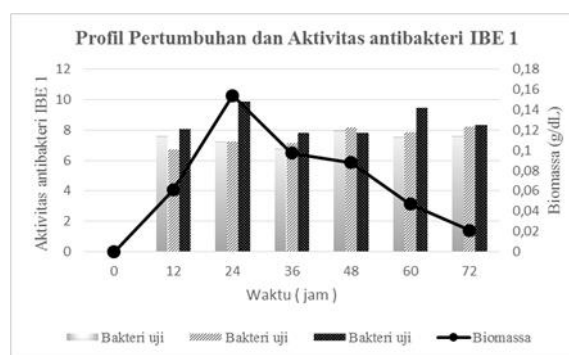
Bakteri uji (patologis) diuji dengan medium yang telah difermentasi. Kultur disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 5000 rpm untuk menguji. Antibiotik murni yang diperoleh diuji pada supernatan (Djamaan et al., 2012).

Kertas cakram steril direndam dalam larutan antibiotika dari masing-masing isolat. Kemudian, secara aseptis, kertas cakram dipindahkan ke wadah steril dan ditunggu hingga kering. Selanjutnya, kertas cakram dioleskan dengan bakteri uji pada medium NA. Kemudian disimpan selama 48 jam pada suhu kamar. Jangka sorong digunakan untuk mengukur diameter hambatan yang terbentuk di sekitar kertas cakram (Djamaan et al., 2012).

Hasil dan Pembahasan

Kurva Pertumbuhan Isolat IBE1

Kurva pertumbuhan dari kedua isolat menunjukkan pola yang hampir sama (Gambar 1 dan Gambar 2). Siklus pertumbuhan bakteri yang pertama terjadi merupakan fase adaptif (Lag Phase). Pada isolat bakteri IBE 1 terlihat tidak mengalami fase lag. Ketika kultur bakteri dicuplik pada media produksi baru, bakteri tidak membutuhkan waktu lama untuk beradaptasi dan langsung melakukan aktivitasnya sehingga langsung berada pada fase logaritmik.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan dan Aktivitas Antibakteri IBE1

Pendapat ini didukung oleh Madigan et al., (2012) Fase lag tidak terjadi ketika biakan yang berkembang secara eksponensial

dipindahkan ke dalam medium baru dengan kondisi yang sama.

Berikutnya pada isolat bakteri IBE 1 fase eksponensial terjadi dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-24. Pada fase ini bakteri terjadi fase pertumbuhan bakteri yang sangat cepat membelah diri. Pada kurva dapat dilihat bahwa isolat bakteri IBE 1 mengalami fase stasioner yang sangat singkat yang dimulai pada jam ke-24, namun menuju jam ke 36 sel bakteri mengalami penurunan yang sangat drastis sehingga tidak terlihat fase stasioner pada bakteri. Kemungkinan fase stasioner terjadi dalam rentang waktu jam ke-24 hingga sebelum jam ke-36. Fase stasioner yang singkat ini disebabkan karena nutrisi di dalam media tidak cukup dengan jumlah sel bakteri yang hidup sehingga terjadi kompetisi dalam medium untuk mendapatkan nutrisi guna pertumbuhan dan perkembangan sel.

Tabel 1. Uji aktivitas antibakteri isolat bakteri IBE1

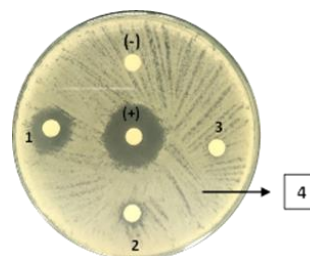
Isolat Bakteri	Waktu Cuplik (jam)	Rata-rata daya hambat (mm)		
		<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	MRSA
IBE 1	0	-	-	-
	12	7,58	6,68	8,06
	24	7,23	7,20	9,83
	36	6,78	7,10	7,78
	48	7,94	8,12	7,76
	60	7,54	7,8	9,43
	72	7,57	8,21	8,28

Kurva terus mengalami penurunan hingga pada jam ke 72, kurva yang terus turun menunjukkan bakteri berada ke fase kematian. Pertumbuhan sel bakteri berhenti dan bakteri menghabiskan energi cadangan (ATP) untuk respirasi, menyebabkan fase kematian pada pertumbuhan sel bakteri (Brock & Madigan, 1991 ; Respati, et al.,2017).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel 1 merupakan daya hambat dari isolat bakteri IBE 1 terhadap bakteri uji yang patogen terhadap manusia terjadi pada waktu jam ke-24 dengan log jumlah sel terbesar (0.154 gr/dl) dengan aktivitas daya hambat yang paling luas dalam menghambat bakteri uji MRSA pada isolat bakteri IBE 1 sebesar 9,83 mm.

Media fermentasi yang digunakan adalah media fermentasi antibiotika dengan memberikan perlakuan variasi terhadap rasio

C/N glukosa sebagai sumber karbon yaitu C/N 5, C/N 10 dan C/N 15. Kemudian dilihat apakah dengan perlakuan variasi C/N Glukosa dapat berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri IBE 1. Kinerja sel bakteri juga dipengaruhi oleh bahan media fermentasi yang digunakan, seperti penambahan glukosa atau nitrogen.



Gambar 2. Uji Antibakteri isolat bakteri IBE1. (+) kontrol positif, (-) kontrol negatif, (1) fermentasi bakteri dengan c/n 5 glukosa, (2) fermentasi dengan c/n 10 glukosa, (3) fermentasi dengan c/n 15 glukosa, (4) bakteri uji *P.aeruginosa*

Tabel 2. Rata-rata zona hambat uji aktivitas antibakteri IBE1

c/n Glukosa	Rata-rata zona hambat (mm)		
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	MRSA
5	7,41	10,80	9,08
10	7,54	7,87	6,99
15	7,35	7,39	7,86

Luas zona hambat antibakteri pada variasi konsentrasi c/n glukosa pada setiap bakteri uji berbeda-beda. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel diatas yang menunjukkan aktivitas zona hambat Bakteri isolat IBE 1 terhadap bakteri uji *E. coli* hasil optimasi c/n glukosa yang dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi glukosa c/n 10 yaitu 7,54 mm. Pada bakteri uji *P. aeruginosa* yang memiliki zona hambat yang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu pada konsentrasi c/n 5 sebesar 10,80 mm dan pada konsentrasi glukosa c/n 5 dikategorikan kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan luas zona hambat sebesar 9,08 mm. Diantara 3 bakteri uji yang diujikan, isolat bakteri IBE 1 paling mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *P.aeruginosa* pada konsentrasi glukosa c/n 5.

Zona bening yang terbuat di sekitar kertas cakram menunjukkan aktivitas antimikroba atau

daya hambat. Zona hambat pertumbuhan bakteri dihitung dalam skala milimeter (mm) (Kusumawati et al., 2008). Zona bening diukur menggunakan jangka sorong untuk dapat mengukur kekuatan daya hambatnya. Dengan menggunakan standar dari CLSI, daya hambat bakteri antibiotik linezolid terhadap MRSA dinilai dengan cara berikut: sensitif dengan diameter zona bening lebih dari 21 mm; intermediat dengan diameter zona bening antara 20 dan 20,9 mm; dan lemah dengan diameter zona bening kurang dari 5 mm. Menurut Davis dan Stout (1971), daya hambat bakteri adalah sangat kuat jika zona bening melebihi 20 mm.

Perlu ditambahkan variasi konsentrasi glukosa dan lama fermentasi untuk mencapai hasil yang diinginkan dari senyawa metabolit yang dihasilkan dan waktu produksi yang efisien. Sel bakteri menggunakan glukosa sebagai sumber energi untuk metabolisme dan mempengaruhi senyawa yang dihasilkan. Konsentrasi glukosa yang ideal untuk proses fermentasi berkisar antara 10–18% (Ajizah et al., 2021), dan lama proses fermentasi memengaruhi jumlah senyawa yang dihasilkan. Semakin lama proses fermentasi berlangsung, semakin banyak senyawa seperti bioetanol yang dihasilkan (Azizah et al., 2012). Namun, nutrisi dalam substrat akan habis jika fermentasi berlangsung terlalu lama (Nasrun et al., 2015).

Pemilihan sumber karbon dan nitrogen perlu dilakukan untuk menghasilkan senyawa antibiotik terbaik (El-banna, 2006). Karena karbon dan nitrogen terlibat dalam proses metabolisme, yang mungkin menginisiasi biosintesis prekursor yang mengontrol metabolisme dan dalam sintesis produk (Elibol, 2004). Caldwell (1995) menambahkan, karbon berperan sebagai komponen mayor asam amino diseluruh bagian sel, komponen mayor cincin purin dan purimidin, serta komponen substansial murein dan lipid kompleks.

Aktivitas metabolisme bakteri juga dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi sumber nitrogen seperti halnya dengan sumber karbon. Penambahan sumber nitrogen anorganik seperti ammoniumnitrat, ammonium sulfat dan ammonium klorida. Penambahan nitrogen anorganik ammonium klorida memberikan efek meningkatkan kepadatan sel (Subagiyo et al, 2015).

Kesimpulan

Bakteri isolat IBE memiliki umur inokulum terbaik pada jam 24 dan memasuki fase stasioner dari jam 24 hingga 36. Bakteri IBE 1 memiliki kondisi fermentasi optimum paling baik berada pada media yang mengandung karbon glukosa pada c/n 5. Bakteri IBE1 memiliki daya hambat terbaik (sedang) terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. apt. Akmal Djamaan, MS. PhD dan Dr. Anthoni Agustien, M.Si yang telah membimbing yang telah membimbing sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

Referensi

- Ajizah, N. L., Wijaya, I. M. M., & Antara, N. S. (2021). Variasi konsentrasi glukosa pada media tumbuh dan lama fermentasi dalam memproduksi etanol oleh isolat BM-CP14. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 9(2), 208-218..
- Akalin, H. E. (2002). Surgical prophylaxis: the evolution of guidelines in an era of cost containment. *Journal of hospital infection*, 50, S3-S7. doi: 10.1053/jhin.2001.1121
- Astari, S. M., Rialita, A., & Mahyarudin, M. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(2), 9-16.
- Azizah, N., Al-Barrii, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3).
- Brock, T. D., & Madigan, M. T. (1991). Host-Microbe relationships and disease processes. *Biology of Microorganisms 6th edition*. Prentice-Hall Inc, 379-380.
- Caldwell, D. R. (1995). Microbial physiology and metabolism. Wm. C. C. Brown.

- Castillo, U. F., Strobel, G. A., Ford, E. J., Hess, W. M., Porter, H., Jensen, J. B., ... & Yaver, D. (2002). Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*. *Microbiology*, 148(9), 2675-2685. DOI: 10.1099/00221287-148-9-2675
- CDC. (2013). *Pseudomonas aeruginosa* in Healthcare Settings. Tersedia di: <http://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html> [diakses: 7 November 2014].
- 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. DOI: 10.1128/am.22.4.659-665.1971
- Djamaan, A., Agustien, A., & Yuni, D. (2012). Isolasi bakteri endofit dari tumbuhan surian (*Toona sureni* blome. M) yang berpotensi sebagai anti bakteri. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(1), 37-40.
- Djamaan, A., Asia, A., & Wahyuni, R. (2017). Isolasi mikroba endofit dari kulit batang, daun, dan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) pengkulturan serta uji aktivitas antimikrobanya. *Jurnal Farmasi Higea*, 6(1), 90-97.
- El-Banna, N. M. (2006). Effect of carbon source on the antimicrobial activity of *Corynebacterium kutscheri* and *Corynebacterium xerosis*. *African Journal of Biotechnology*, 5(10).
- Elibol, M. (2004). Optimization of medium composition for actinorhodin production by *Streptomyces coelicolor* A3 (2) with response surface methodology. *Process Biochemistry*, 39(9), 1057-1062. DOI: 10.1016/j.procbio.2003.05.002
- Heni, S. A., & Zaharah, T. A. (2015). Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1).
- Kusumaningati, M. A., Nurhatika, S., & Muhibuddin, A. (2013). Pengaruh konsentrasi inokulum bakteri *Zymomonas mobilis* dan lama fermentasi pada produksi etanol dari sampah sayur dan buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(2), E218-E223.
- Kusumawati, N., Estikomah, S. A., & Amal, S. (2018). Uji Efektivitas Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Dan Madu Randu Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Pharmasipha: Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 2(2), 17-22.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). A brief journey to the microbial world. Brock biology of microorganisms, 13th edition. *Benjamin Cummings*, New York, 25-30
- Marliana, E., & Saleh, C. (2011). Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol dari buah labu air (*Lagenaria siceraria* (molina) standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2), 63-69.
- Nasrun, N., Jalaluddin, J., & Mahfuddhah, M. (2017). Pengaruh jumlah ragi dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi kulit pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(2), 1-10. DOI: <https://doi.org/10.29103/jtku.v4i2.68>.
- Reddell, P., & Gordon, V. (2000). 'Lessons from nature': can ecology provide new leads in the search for novel bioactive chemicals from tropical rainforests?. *The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK*, 205-212.
- Respati, N. Y., Yulianti, E., & Rahmawati, A. (2017). Optimasi suhu dan pH media pertumbuhan bakteri pelarut fosfat dari isolat bakteri termofilik. *Kingdom (The Journal of Biological Studies)*, 6(7), 423-430.
- Robinson T. (1995). Kandungan organik tumbuhan tinggi. Terjemahan: Koensoemardiyah. *IKIP Semarang Press*, Semarang.
- Sastrapradja, S. (1980). Sayur-sayuran. Jakarta : *Balai Pustaka*.
- Shah, B. N., Seth, A. K., & Desai, R. V. (2010). Phytopharmacological profile of *Lagenaria siceraria*: A review. *Asian Journal of Plant Sciences*.
- Shore, S. J., & Sathisha, G. (2010). Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free

- broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(4), 345-352.
- Simanjuntak, P., Bustanussalam, O. D., Rahayuningsih, M., & Said, E. G. (2004). Isolasi dan identifikasi artemisinin dari hasil kultivasi mikroba endofit dari tanaman *Artemisia annua*. (Studi mikroba endofitik tanaman *Artemisia* spp.). *Majalah Farmasi Indonesia*, 15(2), 68-74.
- Subagiyo, S., Margino, S., & Triyanto, T. (2016). Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen Dan Fosfor pada Medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid. *Jurnal Kelautan Tropis*, 18(3), 127-132.
- The Wealth of India, (2004). A Dictionary of Indian raw materials & industrial products. *CSIR*, New Delhi III, 16-19
- Utami, E. R. (2011). Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Sainstis*. Vol 1, No 1, ISSN:2089-0699