

**OPTIMASI WAKTU PRODUKSI ANTIBAKTERI ISOLAT
ACTINOMYCETES (ISOLAT TE 235) TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI PADA *ESCHERICHIA COLI* DAN
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

**OPTIMIZATION ANTIBACTERIAL PRODUCTION TIME OF
ACTINOMYCETES ISOLATES (TE 235 ISOLATES) AGAINST
ANTIBACTERIAL ACTIVITY ON *ESCHERICHIA COLI* AND
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Sutiara Prihatining Tyas¹, Alfian Syarifuddin^{1*}, Ni Made Ayu Nila Septianingrum¹

¹ Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Magelang, Jalan Mayjend Bambang Soegeng km 5, Mertoyudan 56172, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah

Submitted: 05-05-2020

Revised: 05-06-2020

Accepted: 30-01-2021

Corresponding author:
alfiansy@ummg.ac.id

ABSTRAK

Pencarian antibiotik baru sangat dibutuhkan karena multiresistensi yang mengakibatkan peningkatan kematian akibat penyalahgunaan antibiotik dalam mengatasi penyakit infeksi sehingga perlu dilakukan eksplorasi untuk mendapatkan antibiotik baru yang poten. Actinomycetes merupakan bakteri yang dapat memproduksi antibiotik. Isolat Actinomycetes (isolat TE 235) hasil isolasi rizosfer, yaitu tanaman tebu. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji waktu optimal isolat TE 235 dalam memproduksi metabolit sekunder berupa antibiotik pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta profil pertumbuhan isolat TE 235 ditinjau berdasarkan produksi biomassa sel. Metode uji aktivitas yang digunakan adalah metode uji sumuran. Hasil penelitian menunjukkan cairan kultur isolat Actinomycetes (isolat TE 235) mempunyai waktu optimal produksi metabolit sekunder (Antibiotik) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah inkubasi selama 10 hari dengan diameter zona hambat sebesar 6,67±0,94 mm, sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* pada hari ke-7 dengan diameter zona hambat sebesar 10,00±0,82 mm. Pertumbuhan bakteri Actinomycetes isolat TE 235 berdasarkan berat biomassa sel mengalami fase stasioner pada hari ke-9. Waktu optimal yang diperlukan untuk inkubasi kultur Isolat Te 235 untuk menghasilkan perolehan senyawa antibiotik secara optimal setelah 10 hari inkubasi yang ditinjau terhadap aktivitas antibiotik pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta fase pertumbuhan isolat TE 235 telah memasuki fase stasioner.

Kata kunci: Antibiotik; Isolat TE 235; Metabolit sekunder; Optimasi

ABSTRACT

The search for new Antibiotics is needed in the hospital because of the multi-resistance Antibiotics that result in an increase in deaths due to Antibiotic abuse in dealing with infectious diseases, so it is necessary to explore to get potential new antibiotics. Actinomycetes are microorganisms that can produce is antibiotics. Actinomycetes isolate (isolate TE 235) has been isolated from rizosphere soil of sugarcane root crops. This study aimed to determine the optimal time of TE 235 isolates in producing secondary metabolites in the form of antibiotics that can test bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and the growth profile of TE 235 isolates were reviewed based on the production of cell biomass. The activity test method used in this study is a suitable test method. The results showed that the liquid culture of Actinomycetes isolates (isolate TE 235) had an optimal time to produce secondary metabolites (Antibiotics) against *Staphylococcus aureus* bacteria after incubation for ten days with inhibition zone diameter of 6.67 ± 0.94 mm, whereas against *Escherichia coli* bacteria on the seventh day with a diameter of inhibitory zone of 10.00 ± 0.82 mm. The results of research on the growth of Actinomycetes bacteria isolate TE 235 based on the weight of cell biomass that underwent the stationary phase on the 9th day. The incubation time of the culture of Isolate TE 235 to obtain optimal approval of antibiotics after ten days of incubation in terms of antibiotic activity on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and the growth phase of TE235 isolates as the stationary phase.

Keywords: Antibiotic; Optimization; Secondary Metabolites; TE 234 isolates

1. PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu penyebab kematian di dunia. Kematian yang terjadi di rumah sakit dilaporkan sekitar 50-70 % disebabkan oleh infeksi. Infeksi dapat menyebabkan kematian karena obat Antibiotik yang digunakan untuk pengobatan infeksi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang disebabkan adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Tandon, 2015). Eksplorasi senyawa antibiotik baru diperlukan untuk mencegah terjadinya peningkatan kasus resistensi tersebut, sehingga didapatkan antibiotik yang berpotensi tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat menekan penyebab kasus infeksi dan kematian. Eksplorasi penemuan antibiotik baru dapat dilakukan pada mikroorganisme. Mikroorganisme yang dapat menghasilkan antibiotik. Salah satunya adalah bakteri Actinomycetes. Actinomycetes berperan penting dalam memproduksi senyawa metabolit yang banyak dikembangkan sebagai bahan obat yang mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (Wulandari & Rahayu, 2015).

Actinomycetes melakukan pembelahan sel dalam pertumbuhannya. Actinomycetes dapat menghasilkan metabolit sekunder, 70% - 80% berupa senyawa antibiotik (Ramadhan, 2019). Waktu yang diperlukan bakteri Actinomycetes dalam produksi metabolit sekunder berupa Antibiotik sangat varitatif. Penelitian yang dilakukan oleh Warsi and Sulistyani (2018) mengenai optimasi waktu produksi Antibiotik pada isolat T24M menghasilkan waktu optimal pada hari ke-2 yang ditunjukkan aktivitas antibiotik isolat T24M terhadap bakteri MRSA. Penelitian lainnya, yaitu optimasi waktu produksi antibiotik NRC-S4 yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphinoclum*, *E-coli inoclum*, *Candida inoclum*, *Staph spore*, *Ecoli spore*, *Candida spore* terjadi pada hari ke-12 waktu inkubasi (Ismail dkk., 2017).

Isolat TE 235 merupakan hasil dari isolasi bakteri pada tanah rizofe tanaman tebu. Actinomycetes memperoleh nutrisi dari eksudat akar tanaman dapat yang mengandung bahan organik sebagai sumber nutrisi untuk mikroorganisme pada rizosfer (Ramadhani & Sulistyani, 2018). Ekstrak etilasetat isolat TE 235 berpotensi antibiotik pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dengan kategori potensi tinggi (Aini & Sulistyani, 2019). Namun, isolat tersebut belum dilakukan optimasi waktu produksi antibiotik, sehingga dapat menentukan lama waktu yang tepat untuk melakukan inkubasi kultur isolat TE 235 dan profil pertumbuhannya.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil pertumbuhan bakteri Actinomycetes isolat TE 235 berdasarkan berat sel yang dihasilkan dan mengetahui waktu yang optimal untuk melakukan inkubasi sehingga diperoleh antibiotik pada cairan kultur isolat Actinomycetes isolat TE 235, berdasarkan aktivitas Antibiotik terhadap bakteri *Staphlococcus aureus* dan bakteri *Eschericia coli*.

2. METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Laboratorium Farmasi Universitas Muhammadiyah Magelang, bulan Oktober 2019–Maret 2020.

Alat

Cawan petri (IWAKI), Erlenmeyer (IWAKI), tabung reaksi (IWAKI), *hot plate magnetic stirer* (Thermo Scientific), vortex (IKA), *Autoclaf*(All American), *yellow tip*, *mini tube*, timbangan analitik, pinset, lampu spiritus, Aluminium foil, LAF, kulkas, mikropipet, inkubator, *corkborer*, dan *sentrifuse*.

Bahan

Starch Nitrat Broth (SNB) (MERCK, Germany), cairan kultur isolat TE235, media *Brain Heart Infussion* (BHI) (Oxoid, Jepang), media *Mueller Hinton* (Oxoid, Jepang), aquades, etil

asetat p.a (Merck, Germany), methanol pa (Merck, Germany), biakan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Mc Farland 10^8 CFU/mL.

Pembuatan Kultur Starter

Pembuatan stater dengan cara memasukkan 5mL isolat TE 235 kedalam erlenmeyer yang berisi 50 ml media cair SNB, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu ruang selama 5 hari disertai agitasi menggunakan *magnetic stirrer* (Mitrovic dkk., 2017). Kultur bertingkat dilakukan dengan perbandingan antara stater dengan medium kultur (1:10), yaitu 50 mL kultur uji kedalam 500 mL media SNB steril dan diinkubasi selama 14 hari (Katili, 2017). Sebanyak 1 mL kultur dimasukkan ke dalam *Eppendorf* dan simpan kultur di *freezer*. Preparasi kultur uji ini dilakukan diruangan LAF untuk meminimalkan terjadinya kontaminasi (Syarifuddin dkk., 2019). Setrifugasi pada kultur dilakukan dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit yang bertujuan untuk memisahkan antara supernatan dan biomassa sel. Supernatan sebagai cairan kultur uji (Lani, 2014).

Preparasi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Diambil 1 ose bakteri masukkan kedalam 1 mL BHI dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, selanjutnya 100 μL suspensi bakteri dimasukkan dalam tabung dan encerkan dengan 1 mL BHI, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-5 jam. Sebanyak 1 ml suspense diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai mendapatkan kekeruhan sama dengan standar Mc Farland 10^8 CFU/mL (Yulastuti dkk., 2020).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri isolat TE 235 actinomycetes menggunakan media agar *Mueller Hinton*. Cawan petri yang berisi media *Mueller Hinton* yang telah diinokulasi suspensi bakteri uji secara merata, pada masing-masing cawan petri dibuat sumuran sebanyak 9 lubang menggunakan alat *corkborer* dengan diameter lingkaranya 6,00 mm. setiap lubang sumuran diisi larutan uji sebanyak 50 μL dengan menggunakan mikropipet lalu dibiarkan selama 2 jam, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Syarifuddin dkk., 2018).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

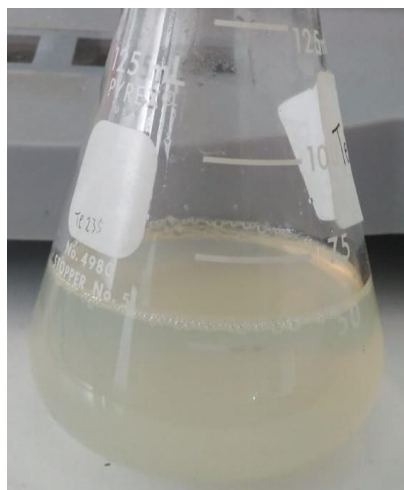
Pembuatan kultur starter *Actinomycetes* isolat TE 235 dilakukan dengan menggunakan media cair SNB steril. Media ini mempunyai nutrisi, karbon, dan mineral yang digunakan untuk pertumbuhan *Actinomycetes* (Mulyadi & Sulistyani, 2013). Kultur starter dalam media SNB digunakan sebagai kultur biakan awal yang digunakan untuk membuat kultur bertingkat dalam jumlah volume lebih besar starter dan tetap dikondisikan mencapai fase log/ eksponensial, yaitu fase optiomal dalam pertumbuhan sel (Peddi & Donthireddy, 2018). Pengadukan media selama inkubasi dengan *magnetic stirrer* berfungsi sebagai agitasi yang mempengaruhi sistem aerasi dan homogenitas nutrient dalam media fermentasi yang menyebabkan peningkatan hasil metabolit (Syarifuddin dkk., 2018). Pembuatan kultur uji dilakukan kultur bertingkat dengan tujuan untuk peremajaan media atau mempertahankan fase log (eksponensial) karena media baru mengandung nutrisi yang cukup, sehingga mendukung perkembangan bakteri lebih baik (Ramadhani & Sulistyan, 2018). Pembuatan kultur uji diinkubasi selama 14 hari karena *Actinomycetes* telah memasuki fase stasioner sehingga menghasilkan metabolit sekunder, diantaranya adalah pigmen dan antibiotik. Selama inkubasi 14 hari, setiap 24 jam kultur disampling sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam *ependorf* steril (Oskay, 2011). Hasil pengamatan pada kultur yang Inkubasi selama 14 hari mengalami perubahan warna cairan kultur uji ditunjukkan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Perubahan warna yang terjadi selama waktu inkubasi menunjukkan adanya produksi pigmen dan metabolisme (Mohamed dkk., 2017). Perubahan warna yang terjadi dari warna putih kekuningan sampai kuning dan peningkatan jumlah pelet sampai inkubasi hari ke-14.

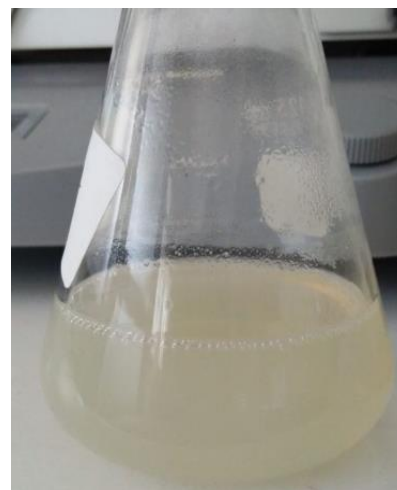
Keadaan ini membuktikan bahwa Actinomycetes mengeluarkan pigmen warna yang mampu berdifusi ke dalam media selama masa inkubasi (Ramadhan, 2019).

Tabel 1. Hasil pengamatan perubahan warna kultur uji

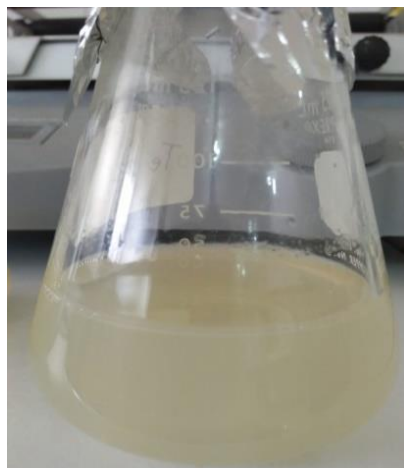
Hari	Warna	Hari	Warna
1	Putih kekuningan	8	Kuning muda
2	Putih kekuningan	9	Kuning muda
3	Putih kekuningan	10	Kuning
4	Kuning muda	11	Kuning
5	Kuning muda	12	Kuning
6	Kuning muda	13	Kuning
7	Kuning muda	14	Kuning



Hari 1



Hari 5



Hari 10



Hari 14

Gambar 1. Perubahan warna pada kultur uji

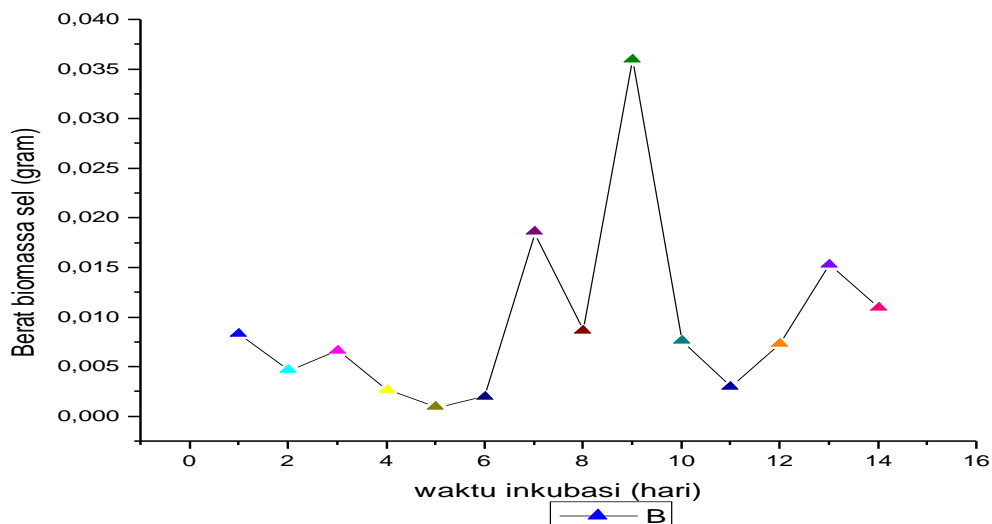
Profil Pertumbuhan Bakteri Actinomycetes Isolat TE 235 Berdasarkan Berat Sel

Profil pertumbuhan bakteri actinomycetes isolat TE 235 berdasarkan berat sel bertujuan untuk mengetahui kekeruhan pada larutan uji karena bakteri mengalami rmultiplikasi pada media SNB sehingga menyebabkan media menjadi keruh. Hasil kurva pertumbuhan pada biomasa sel semakin kecil kekeruhan biomasa sel semakin sedikit, sebaliknya semakin besar kekeruhan, biomasa sel semakin banyak (Satria, 2011). Hasil profil pertumbuhan bakteri Actinomycetes isolat TE 235 berdasarkan berat sel ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Isolat TE 235 mengalami fase *lag* pada hari ke 1 hingga hari ke 5. Fase *lag* Isolat TE 235 menunjukkan bahwa isolat TE 235 memerlukan waktu untuk beradaptasi dengan media yang baru selama 5 hari. Isolat TE 235 mengalami fase log mulai hari ke 6 hingga hari ke 8. Pada fase tersebut sel bakteri mengalami pembelahan sel yang cepat dan terakumulasi. fase log dalam penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Satria, 2011). Fase log pada isolat Acp-7 terjadi pada hari ke 9 sampai hari ke 21, sedangkan pada Isolat TE 235 terjadi fase log pada hari ke 6 sampai hari ke 8 disebabkan karena masing-masing isolat bakteri memiliki perbedaan waktu fase pertumbuhan yang sangat variatif. Terjadinya fase stasioner mulai hari ke-9. Pada hari ke-9 dapat dianggap telah mencapai fase stasioner jumlah sel tidak lagi mengalami peningkatan.

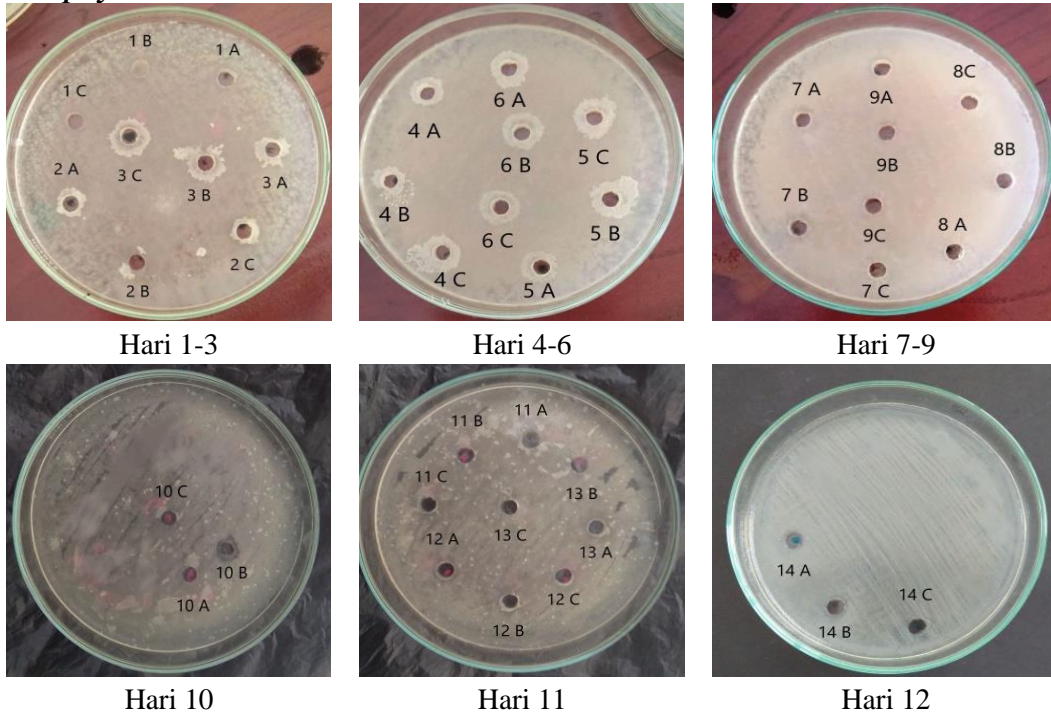
Tabel 2. Profil pertumbuhan bakteri *actinomycetes* isolat TE 235 berdasarkan berat sel

Waktu Inkubasi (Hari)	Berat Biomassa Sel (gram)
	Rata-rata±SD
1	0,008±0,001
2	0,005±0,001
3	0,007±0,004
4	0,003±0,001
5	0,001±0,00
6	0,002±0,001
7	0,019±0,004
8	0,009±0,009
9	0,036±0,021
10	0,008±0,007
11	0,003±0,000
12	0,007±0,003
13	0,015±0,005
14	0,011±0,004



Gambar 2. Profil pertumbuhan bakteri *actinomycetes* isolat TE 235 berdasarkan berat sel

Aktivitas Cairan Kultur Isolat *Actinomyces* Isolat TE 235 Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 3. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 3. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

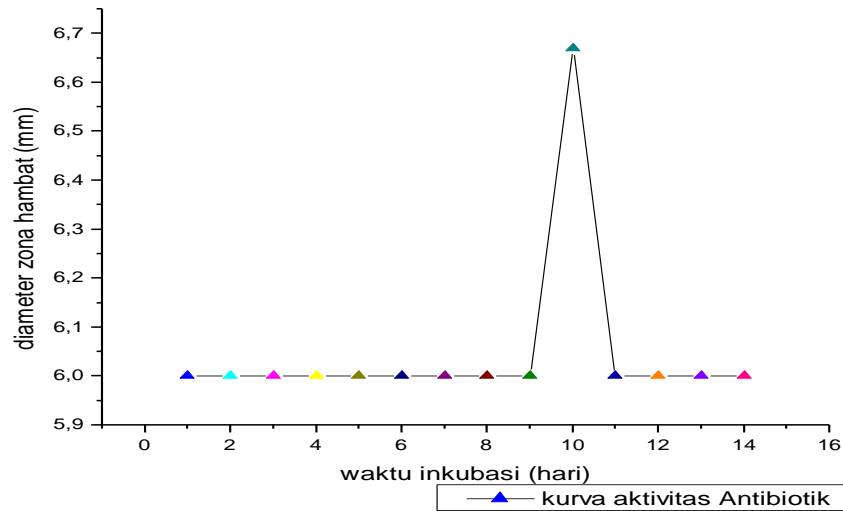
Waktu Inkubasi (Hari)	Rata-rata (mm) ± SD
1	6,00±0,00
2	6,00±0,00
3	6,00±0,00
4	6,00±0,00
5	6,00±0,00
6	6,00±0,00
7	6,00±0,00
9	6,00±0,00
10	6,67±0,94
11	6,00±0,00
12	6,00±0,00
13	6,00±0,00
14	6,00±0,00

Keterangan: zona hambat belum dikurangi diameter sumuran sebesar 6 mm

Hasil pengukuran zona hambat dapat dilihat dari **Gambar 3** dan **Tabel 3** menunjukkan bahwa metabolit sekunder terdapat pada hari ke 10 yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada hari ke 10 menunjukkan adanya zona hambat di sekeliling lubang dengan diameter 6,7 mm. Zona hambat senyawa antibiotik pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa hari ke-2 inkubasi merupakan waktu yang optimal untuk memproduksi metabolit sekunder sebagai antibiotik sehingga waktu pemanenan metabolit sekunder (antibiotik) terhadap *Escherichia coli*, yaitu setelah diinkubasi selama 10 hari karena metabolit sekunder pada cairan kultur sudah terakumulasi sehingga zat antibiotik yang dihasilkan banyak seperti pada **Gambar 4**.

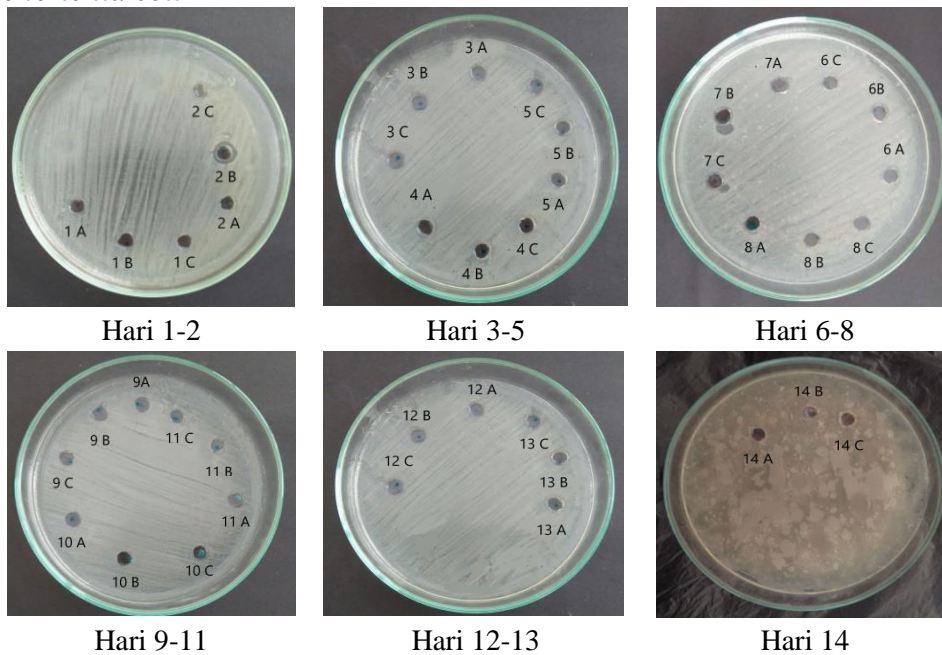
Analisis menggunakan SPSS pada uji bakteri *Staphylococcus aureus* terdistribusi normal tetapi tidak homogen sehingga perlu dilakukan uji *Kruskal-Wallis* yang mendapatkan nilai *P*-

value pada bakteri *Staphylococcus aureus* $0,448 > 0,05$, artinya data tersebut tidak memberikan pengaruh bermakna terhadap zona hambat.



Gambar 4. Profil Uji aktivitas cairan kultur isolat *actinomycetes* isolat TE 235 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Aktivitas Cairan Kultur Isolat *Actinomycetes* Isolat TE 235 Terhadap Bakteri *Escherichia coli*



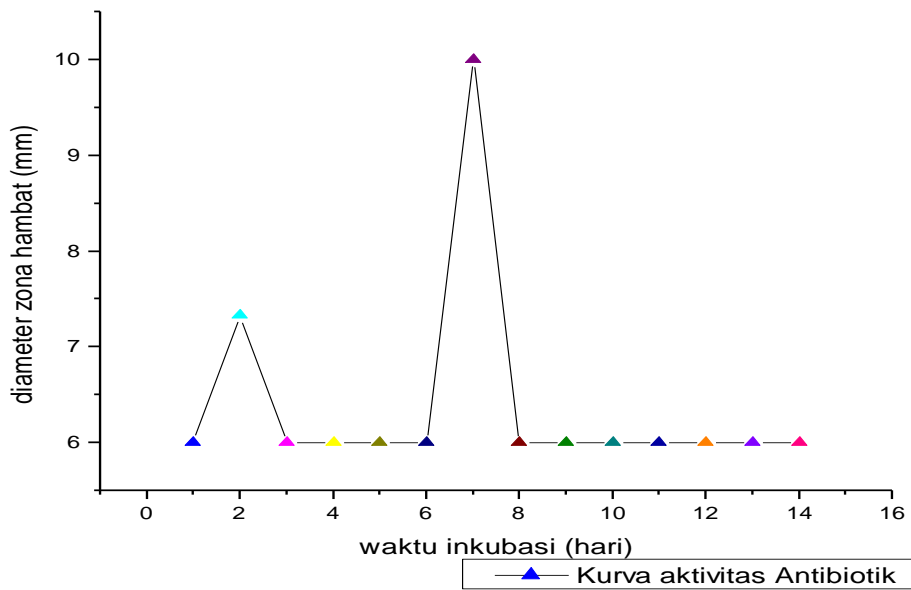
Gambar 5. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*

Hasil zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* tercantum pada Gambar 5 dan Tabel 4. Hasil pengukuran zona hambat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa produksi metabolit sekunder terjadi pada hari ke-2 dan ke-7 karena menunjukkan zona hambatan yang terbesar dibanding dengan waktu inkubasi hari lainnya, pada hari ke-2 zona hambat sebesar 7,33 mm dan pada hari ke-7 inkubasi, zona hambat sebesar 10 mm. Menurut (Indrawati & Rizki, 2017) tentang kategori potensi antibiotika, hasil dari hari 2 dan 7 diameter zona hambat tersebut masuk dalam kategori aktivitas penghambatan sedang.

Tabel 4. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*

Waktu Inkubasi (Hari)	Rata-rata (mm) ±SD
1	6,00±0,00
2	7,33±1,89
3	6,00±0,00
4	6,00±0,00
5	6,00±0,00
6	6,00±0,00
7	10,00±0,82
8	6,00±0,00
9	6,00±0,00
10	6,00±0,00
11	6,00±0,00
12	6,00±0,00
13	6,00±0,00
14	6,00±0,00

Keterangan: zona hambat belum dikurangi diameter sumuran sebesar 6 mm



Gambar 6. Profil Uji aktivitas cairan kultur isolat *Actinomycetes isolat* TE 235 terhadap bakteri *Escherichia coli*

Uji aktivitas cairan kultur pada **Gambar 6** menunjukkan bahwa produksi metabolit sekunder (antibiotik) dari isolat TE 235 dihasilkan pada hari ke-2 dan hari ke 7. Produksi antibiotik terjadi kenaikan dan penurunan yang ditunjukkan dengan hasil diameter zona hambat. Produksi metabolit sekunder (antibiotik) tertinggi pada hari ke-7 yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat sebesar 10 mm, sehingga untuk waktu pemanenan metabolit sekunder (antibiotik) optimal terhadap *Escherichia coli*, yaitu setelah diinkubasi selama 7 hari untuk memperoleh zat antibiotik yang optimal. Terjadinya peningkatan produksi metabolit sekunder dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu agitasi dan aerasi yang berbeda setiap mikroorganisme.

Analisis menggunakan SPSS pada uji bakteri *Escherichia coli* terdistribusi tidak normal dan tidak homogen sehingga perlu dilakukan uji *Kruskal-Wallis* yang mendapatkan nilai *P-value* 0,002 <0,05, artinya data tersebut memberikan pengaruh bermakna terhadap zona hambat di hari ke -7 yang ditunjukkan dengan produksi metabolit sekunder terjadi peningkatan yang signifikan.

4. KESIMPULAN

Waktu produksi metabolit sekunder isolat Actinomycetes (isolat TE 235) sebagai penghasil antibiotik yang optimal berdasarkan aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah inkubasi selama 10 hari dengan diameter zona hambat sebesar 6,67±0,94 mm, sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* setelah inkubasi selama 7 hari dengan diameter zona hambat sebesar 10,00±0,82 mm.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Aini, N. N., & Sulistyani, N. (2019). Isolation of Actinomycetes from Sugarcane (*Saccharum officinarum*) Rhizosphere and the Ability to Produce Antibiotic. *Proceedings of the 2019 Ahmad Dahlan International Conference Series on Pharmacy and Health Science (ADICS-PHS 2019)*. Proceedings of the 2019 Ahmad Dahlan International Conference Series on Pharmacy and Health Science (ADICS-PHS 2019), Yogyakarta, Indonesia. <https://doi.org/10.2991/adics-phs-19.2019.3>
- Indrawati, I., & Rizki, A. F. M. (2017). Potensi Ekstrak Buah Buni (*Antidesma bunius* L) Sebagai Antibakteri Dengan Bakteri Uji Salmonella thypimurium Dan Bacillus cereus. *Jurnal Biodjati*, 2(2), 138–148.
- Ismail, S. A., El-Modather, A., Ewais, E. A., & Refaat, B. M. (2017). Antimicrobial Activity of Isolated Actinomycetes and Optimization of Bioactive Metabolites Production. *Inventi Rapid: Pharm Biotech & Microbio*, 2017(3), 9.
- Katili, A. S. (2017). Short Communication: Isolation of Actinomycetes from mangrove ecosystem in Torosiaje, Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 18(2), 826–833. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180256>
- Lani, M. N. (2014). Antimicrobial Activity of Cell Free Supernatant of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Durian Flesh against Multiple Antibiotic Resistance's Salmonella Associated with Food Poisoning Cases in Malaysia. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(6), 60–65. <https://doi.org/10.9790/3008-09646065>
- Mitrovic, I., Grahovac, J., Dodic, J., Grahovac, M., Dodic, S., Vucurovic, D., & Vlajkov, V. (2017). Effect of agitation rate on the production of antifungal metabolites by *Streptomyces hygroscopicus* in a lab-scale bioreactor. *Acta Periodica Technologica*, 48, 231–244. <https://doi.org/10.2298/APT1748231M>
- Mohamed, H., Miloud, B., Zohra, F., García-Arenzana, María, J., Veloso, A., & Rodríguez-Couto, S. (2017). Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities. *Int J Mol Cell Med Spring*, 6(2), 110–120. <https://doi.org/10.22088/acadpub.BUMS.6.2.5>
- Mulyadi & Sulistyani, N. (2013). Aktivitas Cairan Kultur 12 Isolat Actinomycetes Terhadap Bakteri Resisten. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (Journal of Public Health)*, 7(2), 89–96. <https://doi.org/10.12928/kesmas.v7i2.1043>
- Oskay, M. (2011). Effects of some Environmental Conditions on Biomass and Antimicrobial Metabolite Production by *Streptomyces* Sp. *International Journal of Agriculture & Biology, January 2011*, 317–324.
- Peddi, P., & Donthireddy, S. R. R. (2018). Optimization of process parameters for the production of bioactive compound by marine actinomycetes *Streptomyces enissocaesilis* PVNRHB2 under submerged fermentation. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 6(5), 80–85.
- Ramadhan, H. (2019). Isolasi Actinomycetes Penghasil Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Dari Tanah Sawah. *Jurnal Stikes Borneo Lestari Banjarbaru*, 50–64.
- Ramadhani, M. A., & Sulistyan, 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. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 1(2).
- Satria, H. (2011). Kinetika Fermentasi Produksi Selulase Dari Isolat Actinomycetes ACP-7 Pada Media Pada Jerami Padi. *Jurnal Kimia Kemasan*, 33(2), 152–159.
- Syarifuddin, A., Kamal, S., Yuliasuti, F., Pradani, M. P. K., & Septianingrum, N. M. A. N. (2019). Ekstraksi Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Dari Isolat AL 6 Serta Potensinya Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*. *Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 6(2), 210–218. <https://doi.org/ISSN 2548 – 611X>

- Syarifuddin, A., Sulistyani, N., & Kintoko, K. (2018). Activity of Antibiotic Bacterial Isolate Kp13 and Cell Leakage Analysis of Escherichia coli Bacteria. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 137. <https://doi.org/10.35814/jifi.v16i2.529>
- Tandon, C. (2015). *Andrographis paniculata* Nees (Kalmegh): A Review on Its Antibacterial Activities and Phytocompounds. *European Journal of Medicinal Plants*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2015/16280>
- 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>
- 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*, 1(2), 53–59. <https://doi.org/ISSN 2460-1365>
- Yuliasuti, F., Hapsari, W. S., Syarifuddin, A., & Pradani, M. P. K. (2020). Fractionation antibiotic isolate: Trial protocol for antibiotic compound from *Barleria prionitis* L. extract. *Technology Reports of Kansai University*, 62(03), 6.