

Optimization of Fermentation Conditions of Andalas Endophytic Fungi (*Morus macroura* Miq.) CEB 2 Isolate to Produce Antimicrobial Compounds

Optimasi Kondisi Fermentasi Cendawan Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) Isolat CEB 2 untuk Menghasilkan Senyawa Antimikroba

Desvita Rahma¹, Umi Sarofa¹, Dezi Handayani^{1*}

¹ Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: dezihandayani3252@gmail.com

Abstract

Fermentation is the process of chemical changes in an organic substrate with the help of enzyme activity by microorganisms. Factors in the early stages of fermentation that need to be optimized are temperature, pH and fermentation medium. CEB 2 isolate from Andalas plant stems is an isolate that has the ability to inhibit *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* quite well, but the optimum fermentation conditions are not yet known. This study aims to determine the time, pH and optimum temperature of fermentation of CEB 2 isolates. This research is a descriptive research and is presented in graphic form. The results showed that CEB 2 isolates produced maximum antibacterial compounds on day 5 with an average inhibitory zone against *S. aureus*, namely 8.5 mm and 10.3 mm against *E. coli*. The results of pH optimization showed that CEB 2 isolates for *S. aureus* had a maximum inhibitory zone of pH 5 with an average inhibitory zone of 16.3 mm and pH 6 for *E. coli* test bacteria with an average inhibitory zone of 6.7 mm. The temperature optimization results showed that CEB 2 isolates had the highest antibacterial activity at 26 °C with an average *S. aureus* inhibitory zone of 0.74 mm, while the growth of *E. coli* 7.4 mm at room temperature (28 °C-30 °C) had no effect on the temperature difference made.

Key words: andalas plant, antibacterial, CEB 2, endophytic fungus, fermentation

Abstrak

Fermentasi adalah proses perubahan kimia pada suatu substrat organik dengan bantuan aktivitas enzim oleh mikroorganisme. Faktor tahapan awal fermentasi yang perlu dioptimasi adalah suhu, pH dan medium fermentasi. Isolat CEB 2 yang diisolasi dari batang tumbuhan Andalas merupakan isolat yang memiliki kemampuan menghambat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* cukup baik, namun kondisi fermentasi optimum belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu, pH dan suhu optimum fermentasi isolat CEB 2. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dan disajikan dalam bentuk grafik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat CEB 2 menghasilkan senyawa antibakteri maksimal pada hari ke-5 dengan rata-rata zona hambat terhadap *S. aureus* yaitu 8,5 mm dan 10,3 mm terhadap *E. coli*. Hasil optimasi pH menunjukkan bahwa isolat CEB 2 untuk *S. aureus* memiliki zona hambat maksimal pH 5 dengan rata-rata zona hambat yaitu 16,3 mm dan pH 6 untuk bakteri uji *E. coli* dengan rata-rata zona hambat 6,7 mm. Hasil optimasi suhu menunjukkan bahwa isolat CEB 2 memiliki aktivitas antibakteri paling

tinggi pada suhu 26 °C dengan rata-rata zona hambat *S. aureus* 0,74 mm, sedangkan pertumbuhan *E. coli* 7,4 mm pada suhu ruang (28°C-30°C) tidak berpengaruh terhadap perbedaan suhu yang dilakukan.

Kata Kunci: antibakteri, CEB 2, cendawan endofit, fermentasi, tumbuhan andalas

Pendahuluan

Antibiotik merupakan obat yang digunakan pada penyakit yang disebabkan bakteri. Salah satu permasalahan dalam penggunaan antibiotik adalah resistensi antibiotik (Brunton et al., 2008). Resistensi merupakan suatu keadaan dimana bakteri tidak memberi respon terhadap obat yang diberikan (Wirda et al., 2020). Tumbuhan andalas merupakan salah satu tumbuhan obat (Kumar et al., 2008), karena memiliki senyawa kimia (Hakim et al., 2008) yang bersifat antibakteri. Penggunaan tumbuhan andalas sebagai sumber antibakteri tidaklah bijaksana, apalagi tumbuhan ini termasuk tumbuhan langka. Cendawan endofit diketahui mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sehingga dapat menggantikan biomassa tumbuhan sebagai sumber senyawa antibakteri (Radji, 2005).

Beberapa peneliti telah berhasil mengisolasi mikroba endofit. Yandila et al., (2018) berhasil mendapatkan 4 isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan andalas dan Handayani et al., (2020) melaporkan bahwa 7 isolat cendawan endofit yang diisolasi dari batang tumbuhan andalas memiliki kemampuan menghambat *E. coli* dan *S. aureus*. Diantara 7 isolat tersebut, isolat CEB 2 memiliki zona hambat yang cukup besar terhadap pertumbuhan *E. coli* (4,08 cm) dan *S. aureus* (4,63 cm), sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa antibakteri. Dalam penelitian lain, Handayani et al., (2018) juga berhasil mendapatkan 7 isolat cendawan endofit yang diisolasi dari akar tanaman padi. Fifendy et al., (2016) mendapatkan 3 isolat cendawan endofit yang diisolasi dari daun sitawa memiliki potensi sebagai antibakteri. Erianti et al., (2023) berhasil mengisolasi 9 isolat dari daun *Taxus sumatrana* dan mampu menghambat *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*.

Fermentasi merupakan proses perubahan kimia yang dihasilkan mikroorganisme melalui aktivitas enzim (Hidayat, 2006). Faktor-faktor eksternal fermentasi yang perlu dioptimasi pada tahapan awal diantaranya adalah waktu, pH medium, dan suhu fermentasi. Waktu yang diperlukan untuk menghasilkan senyawa antibakteri optimal berbeda untuk setiap organisme penghasilnya. Al-ghazali et al., (2017) memperoleh waktu optimum 7 hari untuk menghasilkan antibiotik tertinggi dari strain *Streptomyces* sp. lainnya. Selain waktu fermentasi, pH medium yang digunakan dalam fermentasi juga mempengaruhi senyawa antibakteri yang dihasilkan. Ripa et al., (2009) menyatakan bahwa *Streptomyces* sp. RUPA-08PR memiliki pH optimum untuk produksi antibiotik adalah pH 8. Pereira et al., (2013) menyatakan bahwa, *Hypholoma fasciculare* memiliki suhu optimum aktivitas antimikroba terhadap *Saccharomyces cerevisiae* adalah 25°C, akan tetapi kondisi yang terbaik untuk mencapai potensi antimikroba tertinggi pada 30°C.

Waktu fermentasi, suhu dan pH merupakan kondisi awal fermentasi yang perlu segera diketahui sebelum melangkah ke tahap selanjutnya. Waktu, pH medium dan suhu optimum fermentasi isolat CEB 2 untuk menghasilkan senyawa antibakteri belum diketahui. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu, pH dan suhu optimum fermentasi isolat CEB 2.

Bahan dan Metode

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang dilakukan dari bulan Januari-Juni 2021 di Laboratorium Penelitian Terpadu dan Biologi Umum Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah jarum ose, *hot plate*, tip, *magnetic stirrer*, *beaker glass*, batang pengaduk, pinset, erlenmeyer, gelas ukur, *autoclave*, *ependorf*, timbangan analitik, *petridish*, mikropipet, botol semprot, pipet volumetrik, tabung reaksi, bunsen, cutter, spektrofotometer, gelas objek, *shaker incubator*, kaca penutup, mistar, jangka sorong, kamera digital, mikroskop dan *vortex*. Sedangkan bahan yang digunakan adalah isolat cendawan endofit batang (CEB 2) dari tumbuhan Andalas (koleksi Dezi Handayani), kertas cakram, aquadest, kapas, alkohol 70%, NaCl 0,05%, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), Kaldu *Potato Dextrose*, medium *Nutrien Agar* (NA), *ampicillin*, NaCl 0,9%, *tissue*, spatel, kapas swap, aluminium foil, *wrapping*, *cotton bud*, spiritus, kain kasa, dan mikroba uji yang digunakan ada 2 yaitu : *E. coli* dan *S. aureus*.

Prosedur Penelitian

a. Peremajaan Isolat CEB 2 dan Mikroba Uji

Isolat CEB 2 diremajakan dengan cara mengambil dua potong miselium CEB 2 dari koleksi dan diletakkan di tengah medium PDA dalam *petridish*. Selanjutnya cendawan diinkubasi pada suhu ruang untuk keperluan berikutnya. Mikroba uji diremajakan dengan cara menginokulasi satu ose biakan murni bakteri *E. coli* ke dalam medium NA miring. Hal yang sama juga dilakukan untuk *S. aureus*. Mikroba uji diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C.

b. Optimasi Waktu Fermentasi

Sebanyak 2 potong miselium cendawan endofit isolat CEB 2 (diameter 0,5 cm) dimasukkan ke dalam 50 mL kaldu dextrose kentang dalam erlenmeyer 100 mL (duplo). Kultur diinkubasi pada suhu ruang di atas *shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Kultur diambil sebanyak 5 mL setiap hari sampai hari ke-7 setelah inkubasi. Masing-masing kultur yang diambil disaring menggunakan kertas saring steril untuk memisahkan miselium dengan larutan. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar senyawa antibakteri. Sebanyak 20 µL ekstrak diteteskan sampai jenuh pada kertas cakram. Selanjutnya, kertas cakram diletakkan di atas medium NA yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri uji (duplo). Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan kondisi cawan petri dibalikkan selama 24 jam. Zona hambat yang dihasilkan setiap waktu fermentasi diukur menggunakan jangka sorong. Diameter zona bening disekitar cakram diukur dari beberapa sisi yang berbeda.

c. Optimasi pH Fermentasi

Sebanyak 2 potong miselium cendawan endofit isolat CEB 2 (diameter 0,5 cm) dimasukkan ke dalam 25 mL kaldu dextrose kentang dalam erlenmeyer 100 mL dengan berbagai pH yang berbeda (5, 6, 7, dan 8) duplo. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan sedikit demi sedikit HCl/NaOH sampai pH yang diinginkan. Kultur diinkubasi di suhu ruang di atas *shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Kultur pada masing-masing pH dipanen pada hari optimum sesuai pekerjaan sebelumnya. Masing-masing kultur yang diambil disaring menggunakan kertas saring steril untuk

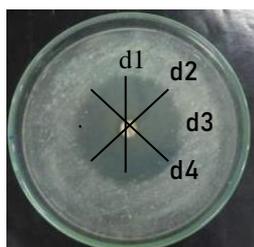
memisahkan miselium dengan larutan. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar senyawa antibakteri. Sebanyak 20 µL ekstrak diteteskan sampai jenuh pada kertas cakram. Selanjutnya, kertas cakram diletakkan di atas medium NA yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri uji (duplo). Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan kondisi cawan petri dibalikkan selama 24 jam. Zona hambat yang dihasilkan setiap waktu fermentasi diukur menggunakan jangka sorong. Diameter zona bening disekitar cakram diukur dari beberapa sisi yang berbeda.

d. Optimasi Suhu Fermentasi

Sebanyak 2 potong miselium cendawan endofit isolat CEB 2 (diameter 0,5 cm) dimasukkan ke dalam 25 mL kaldu dextrose kentang (pH medium disesuaikan dengan pH optimum yang telah didapatkan) dalam erlenmeyer 100 dengan uji duplo mL dengan suhu ruang dan suhu 26°C dalam inkubator. Kultur diinkubasi di atas *shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Kultur dipanen sesuai waktu optimum kemudian disaring menggunakan kertas saring steril untuk memisahkan miselium dengan larutan. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar senyawa antibakteri. Sebanyak 20 µL ekstrak diteteskan sampai jenuh pada kertas cakram. Selanjutnya, kertas cakram diletakkan di atas medium NA yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri uji. Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan kondisi cawan petri dibalikkan selama 24 jam. Zona hambat yang dihasilkan setiap waktu fermentasi diukur menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat disekitar cakram diukur dari beberapa sisi yang berbeda.

e. Uji Aktivitas Antimikroba

Rata-rata zona hambat yang terbentuk dari setiap kegiatan diukur dengan jangka sorong dan dihitung menggunakan rumus :



Gambar 1. Pengukuran Diameter Zona Hambat

$$\text{Rata - rata diameter zona hambat } (d) = \frac{d1 + d2 + d3 + d4}{4}$$

Keterangan:

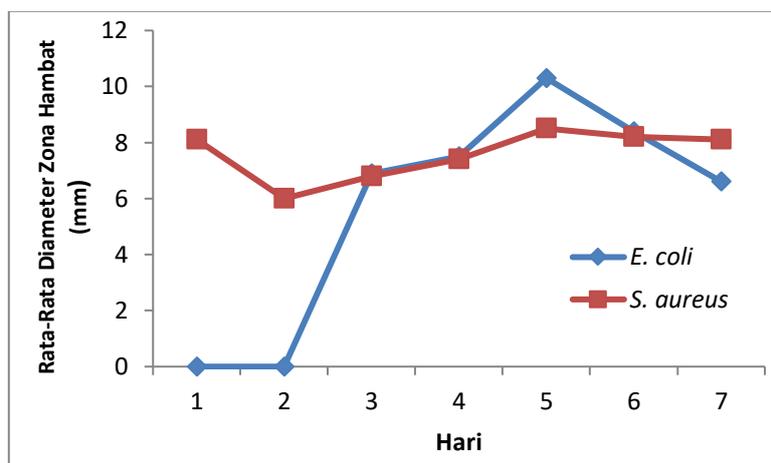
- d = rata-rata zona hambat
- d1 = diameter zona hambat 1
- d2 = diameter zona hambat 2
- d3 = diameter zona hambat 3
- d4 = diameter zona hambat 4

Analisis Data

Data rata-rata zona hambat antibakteri isolat CEB 2 untuk setiap kegiatan penelitian dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk grafik.

Hasil dan Pembahasan

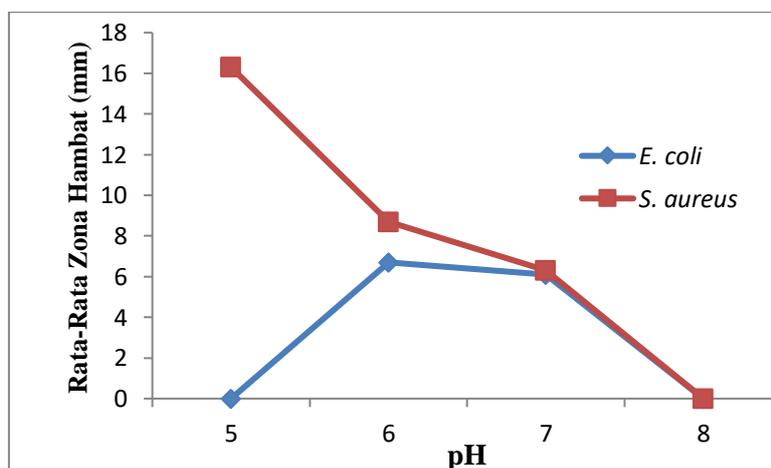
1. Optimasi Waktu Fermentasi Cendawan Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) Isolat CEB 2 untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri Paling Tinggi.



Gambar 2. Rata-rata zona hambat yang dibentuk oleh isolat CEB 2 berdasarkan waktu.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa isolat CEB 2 menghasilkan senyawa antibakteri paling tinggi pada hari ke-5 dibandingkan dengan hari lainnya, yang dibuktikan dengan adanya zona hambat. Zona hambat terbentuk dikarenakan cendawan mengandung senyawa antimikroba dan umumnya berupa metabolit sekunder (Nabilla & Advinda, 2022). Rata-rata zona hambat yang dihasilkan terhadap pertumbuhan *E. coli* 10,3 mm dan rata-rata zona hambat terhadap pertumbuhan *S. aureus* 8,5 mm (Gambar 2). Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan penelitian Wulandari & Sulistyani (2016), yang mendapatkan waktu optimum lebih pendek yaitu pada hari ke-2 fermentasi untuk *Actinomyces* kode AL35, dalam produksi senyawa antibiotik. Sementara itu Ismail *et al.*, (2018) mendapatkan waktu yang lebih lama dibandingkan penelitian ini, yaitu waktu optimum untuk menghasilkan senyawa antibakteri dari isolat I5 tumbuhan binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada hari ke-13. Perbedaan ini disebabkan karena masing-masing isolat cendawan memiliki waktu optimum yang berbeda.

2. Optimasi pH Medium Fermentasi Cendawan Endofit Andalas (*M. macroura* Miq.) Isolat CEB 2 untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri Paling Tinggi.

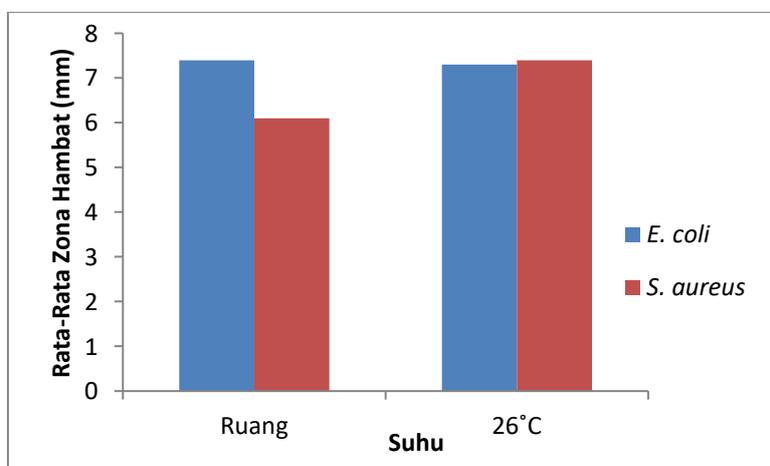


Gambar 3. Rata-rata zona hambat yang dibentuk oleh isolate CEB 2 berdasarkan pH medium.

pH merupakan salah satu faktor penting untuk pertumbuhan mikroorganismenya. Optimasi pH fermentasi cendawan endofit andalas isolat CEB 2 dilakukan melalui variasi pH medium fermentasi yaitu pH 5, 6, 7, dan 8. Optimasi pH medium fermentasi isolat CEB 2 untuk menghasilkan antibakteri paling tinggi pada bakteri uji *S. aureus* yaitu pH 5 dengan rata-rata zona hambat 16.3 mm dan bakteri uji *E. coli* pada pH 6 dengan rata-rata zona hambat 6.7 mm (Gambar 3). Hasil yang didapatkan sama dengan penelitian Aye & Win (2020), bahwa senyawa antibakteri dari isolasi cendawan endofit tumbuhan *Annona squamosa* L. (NA-01) optimum pada pH 5 terhadap bakteri patogen yaitu *Micrococcus luteus*.

Walaupun aktivitas antibakteri paling tinggi didapatkan pada pH awal fermentasi adalah pH 5, tetapi aktivitasnya jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada saat uji tantangan langsung isolat CEB 2. Kemungkinan ini disebabkan pH awal fermentasi berpengaruh terhadap efek penghambatan bakteri patogen. Penelitian Song *et al.*, (2012) mendapatkan pH media fermentasi optimal adalah 7. Song *et al.*, (2012) juga menyatakan bahwa pH awal media fermentasi merupakan salah satu hal yang berdampak besar pada aktivitas antibakteri, karena pH awal yang terlalu tinggi atau rendah akan menurunkan produksi zat aktif yang sangat mempengaruhi efek penghambatan bakteri patogen.

3. Optimasi Suhu Fermentasi Cendawan Endofit Andalas (*M. macroura* Miq.) Isolat CEB 2 untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri Paling Tinggi.



Gambar 4. Rata-rata zona hambat yang dibentuk oleh isolat CEB 2 berdasarkan suhu

Selain waktu dan pH, optimasi kondisi fermentasi juga dipengaruhi oleh suhu. Proses fermentasi optimasi suhu menggunakan dua variasi suhu yaitu suhu 26°C dalam inkubator dan suhu ruang (28°C-30°C). Berdasarkan hasil penelitian, perbedaan suhu cendawan endofit isolat CEB 2 menghasilkan senyawa antibakteri yang lebih stabil pada suhu 26°C terhadap *S. aureus*. Sedangkan untuk *E. coli* tidak berpengaruh sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan lebih tinggi pada suhu ruang. Hasil penelitian senada ditemukan oleh Haloho, (2017) dimana suhu optimum cendawan endofit dari tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxylon*) isolat RSi-8 mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji secara optimal pada suhu 25°C, dengan rata-rata diameter zona hambat bakteri *S. aureus* sebesar 10,32 mm dan *E. coli* sebesar 10,94 mm.

Hasil penelitian didapatkan pengaruh suhu yang berbeda. Kemungkinan hal ini terjadi karena terdapat kondisi suhu ruang yang kurang stabil setiap hari selama proses fermentasi, sementara suhu inkubator stabil selama fermentasi dilakukan untuk produksi senyawa antibakteri. Semakin tinggi suhu maka aktivitas enzim akan semakin rendah sampai waktu

tertentu. Medium yang digunakan dalam proses optimasi fermentasi adalah medium cair untuk pertumbuhan cendawan yaitu kaldu dextrose kentang. Medium kaldu dextrose kentang mampu mendukung pertumbuhan cendawan endofit yang diuji. Meski demikian, perlu dilakukan pengujian produksi senyawa antibakteri menggunakan medium yang berbeda.

Kesimpulan

Cendawan endofit isolat CEB 2 menghasilkan senyawa antibakteri paling tinggi pada hari ke-5 waktu fermentasi untuk kedua bakteri uji, senyawa antibakteri paling tinggi pada bakteri uji *E. coli* pada pH 6 dan bakteri uji *S. aureus* pH 5. Cendawan endofit isolat CEB 2 menghasilkan senyawa antibakteri paling tinggi untuk bakteri uji *S. aureus* pada suhu 26°C.

Daftar Pustaka

- Al-Ghazali, L.H. & Omran, R. 2017. Optimization Production Conditions of Antibacterial Metabolite from *Streptomyces* sp. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(9): 386-391.
- Aye, N.N. & Win, P.P. 2020. Isolation and Optimization of antibacterial Metabolite Production of Endophytic Fungi from The Leaf of *Annona squamosa* L. *Journal Myanmar Acad Arts Sci*, XVIII(4A): 27-36.
- Brunton, L., Blumenthal., D, Buxton, I. & Parker, K. 2008. *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics. International Edition*. McGraw- Hill. New York. 707-797.
- Erianti, P. Putri, D.H., Anhar, A., & Irdawati. 2023. Isolation of Endophyte Fungus from *Taxus sumatrana* Leaves and Their Potential as The Antimicrobial Producer. *Konservasi Hayati*, 19(1): 30-37.
- Fifendy, M., Fadila, K. & Hidayat, Y. 2016. Isolasi Cendawan Endofit Daun Sitawa (*Costus speciosus* Koen J.E Smith) dan Potensinya sebagai Antibakteri. *Eksakta*, 2: 75-79.
- Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawati L.D., & Mujahidin, D. 2008. Aktivitas Antioksidan dan Inhibitor Tirozinase Beberapa Stilbenoid dari Tumbuhan Moraceae dan Dipterocarpaceae yang Potensial untuk Bahan Kosmetik. *Jurnal Matematika dan Sains*, 13(2): 33-42.
- Haloho, D.S. 2017. Pengaruh Suhu terhadap Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* oleh Jamur Endofit dari Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxylon*) Isolat RSi 8. *Skripsi*. Medan: Universitas Negeri Medan.
- Handayani, D., Fifendy, M. & Yesni, V. 2018. Isolation of Phosphate Solubilizing Endophytic Fungi from Rice Plant Root. *Bioscience*, 2(1): 93-102.
- Handayani, D., Putri, D. H., Farma, S.A., Annisa, N., Oktaviani, M., & Rahwani. 2020. Isolation of Endophytic Fungi from Stem of Andaleh (*Morus macroura* Miq.) That Produce Antimicrobial Compound. *Advances in Biological Sciences Research*, 10: 43-45.
- Hidayat, N., Padaga, M.C. & Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Jakarta : Andi Raja Grafindo Persada press.
- Ismail., Megawati., dan Ali, A., & Ningsih, F.A. 2018. Pengaruh Variasi Kondisi Fermentasi terhadap Produksi Metabolit Antibakteri Ekstrak Isolat I5 Fungi Endofit *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1): 41-47.
- Kumar, R.V. & Chauhan, S. 2008. Mulberry: Life Enhancer. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(10): 271-278.
- Nabilla, A. & Advinda, L. 2022. Aktivitas Antimikroba Sabun Mandi Padat terhadap *Staphylococcus*

- aureus* dan *Escherichia coli* Bakteri Patogen Manusia. *Serambi Biologi*, 7(4): 306-310.
- Pereira, E.C., Ana, S., Reis, F., Tavares, R.M., Baptista, P., Lino-Neto, T., & Cristina A. 2013. A New Effective Assay to Detect Antimicrobial Activity of Filamentous Fungi. *Microbiological Research*, 168: 1-5.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3): 113-126.
- Ripa, A., Nikkon, F., Zaman, S., & Khondkar, P. 2009. Optimal Conditions for Antimicrobial Metabolites Production from a New *Streptomyces* sp. RUPA-08PR Isolated from Bangladeshi Soil. *Journal mycobiology*. 37(3): 211-214.
- Song, Q., Huang, Y. & Yang, H. 2012. Optimization of Fermentation Conditions for Antibiotic Production by Actinomycetes YJ1 Strain against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Agricultural Science*, 4(7): 95-102.
- Wirda, A. Puspitasari, M.R., Atmaja, R.R.D., & Sugihantoro, H. 2020. Pengaruh Pemberian Edukasi terhadap Tingkat Pengetahuan Pasien Rawat Jalan tentang Penggunaan Antibiotik di RSUD Kanjuruhan Kabupaten Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 6(1): 57-62.
- Wulandari, S. & Sulistyani, N. 2016. Pengaruh Media terhadap pertumbuhan isolat Actinomycetes kode AL35 serta optimasi produksi metabolit antibakteri berdasarkan waktu fermentasi dan pH. *Jurnal media farmasi*, 13(2): 186- 198.
- Yandila, S dan Putri, DH. 2018. Isolasi Bakteri Endofit dari Akar Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) dan Uji Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Skripsi*. Padang : Universitas Negeri Padang.