

Uji Daya Hambat Isolat *Actinomycetes* sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara *In Vitro*

Saskia Arientika Wahyuningrum¹, Meiskha Bahar², Andri Pramesyanti Pramono³

Abstrak

Pneumonia merupakan infeksi parenkim paru yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri Gram negatif yang telah mengalami resistensi antibiotik. *Actinomycetes* merupakan bakteri Gram positif penghasil metabolit sekunder yang memiliki kemampuan sebagai antimikroba. **Tujuan:** Mengidentifikasi kemampuan isolat *Actinomycetes* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. **Metode:** Sampel yang digunakan berasal dari tanah di Kebun Raya Bogor yang telah diremajakan pada media *Strach Casein Agar* (SCA). Enam seri pengenceran 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} ; 10^{-5} ; 10^{-6} isolat *Actinomycetes* akan digunakan untuk melihat zona hambat pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan metode difusi sumuran. **Hasil:** Waktu inkubasi efektif terjadi pada 24 jam sehingga didapatkan rerata diameter zona bening sebesar 14.70 mm; 10.57 mm; 8.53 mm; 8.47 mm; 6.97 mm; dan 5.30 mm. Hasil uji *One – Way Anova* dengan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.005$) berarti ada perbedaan zona hambat pada setiap konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* ATCC 27853 pada waktu inkubasi 24 jam. **Simpulan:** Konsentrasi efektif isolat *Actinomycetes* yang berpotensi sebagai antibakteri pada konsentrasi 10^{-1} dengan kekuatan daya hambat yang kuat.

Kata kunci: *Actinomycetes*, antibakteri, *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Pneumonia is a lung parenchymal infection caused by Pseudomonas aeruginosa. It is Gram negative bacteria that have developed antibiotic resistance. Actinomycetes are Gram-positive bacteria that produce secondary metabolites which have the ability as antimicrobial. Objectives: To identified the ability of Actinomycetes isolates to inhibit the growth of the bacterium Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. The samples in this experiment were from Kebun Raya Bogor that had been rejuvenated on Starch Casein Agar (SCA). Methods: Six dilution series 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} ; 10^{-5} ; 10^{-6} Actinomycetes isolates were used to observe the inhibition zone of P.aeruginosa growth on Mueller Hinton Agar (MHA) media by diffusion method. Results: The effective incubation time occurred at 24 hours, and then it resulted in the average clear zone diameter of 14.70 mm, 10.57 mm, 8.53 mm, 8.47 mm, 6.97 mm, and 5.30 mm. The results of the One – Way Anova test with p-value = 0.000 ($p < 0.005$) showed some differences at each concentration to inhibit the growth of P.aeruginosa ATCC 27853 at 24 hours incubation period. Conclusion: The most effective concentration of Actinomycetes isolates that can potentially be antibacterial was the concentration of 10^{-1} with potential solid inhibitory power.

Keywords: *Actinomycetes*, antibacterial, *Pseudomonas aeruginosa*

Affiliasi penulis: ¹Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, UPN Veteran, Jakarta, Indonesia. ²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, UPN Veteran, Jakarta, Indonesia, ³Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, UPN Veteran, Jakarta, Indonesia.

Korespondensi: Saskia Arientika Wahyuningrum, Email: saskiarien@gmail.com, Telp: 085743450079

PENDAHULUAN

Pneumonia adalah infeksi yang terjadi pada parenkim paru disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, atau parasit. Pneumonia sering terjadi di negara berkembang, salah satunya Indonesia.¹ Prevalensi di

Indonesia pada tahun 2018 mencapai 2.0%, angka tersebut meningkat 0.2% jika dibandingkan tahun 2013 yang berada pada 1.8%.² Angka kematian global akibat pneumonia berkisar 1.4 juta pertahun, prevalensi terbesar terjadi pada anak – anak dan orang tua di atas 75 tahun. Dari tiga tipe pneumonia, pneumonia komunitas menyumbang angka kematian terbesar di dunia. Penyebab utama dari pneumonia komunitas adalah bakteri Gram negatif, yaitu *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.³

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen Gram negatif disebut sebagai bakteri nosokomial. Pengobatan untuk infeksi akibat *P. aeruginosa* tidak dianjurkan dengan satu antibiotik dikarenakan kecenderungan resistensi terhadap antibiotik.⁴ Menurut penelitian Rukmono dan Zuraida (2016) mengenai multiresisten *Pseudomonas aeruginosa*, resistensi terjadi pada antibiotik ampicilin dan eritromisin.⁵ Resistensi juga terjadi pada antibiotik amoksisilin dan eritromisin karena sama sekali tidak ditemukan diameter zona bebas bakteri.⁶

Banyak penelitian yang menemukan bahwa suatu mikroorganisme memiliki berbagai manfaat, salah satunya dapat menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder dihasilkan oleh *Actinomyces* yang merupakan bakteri Gram positif melalui proses daur hidupnya. *Actinomyces* terdistribusi sangat luas dan dapat hidup di tanah dan di laut.⁷ Salah satu genus *Actinomyces* yang banyak memproduksi metabolit sekunder adalah *Streptomyces* yang memiliki manfaat sebagai antibakteri.⁸

Bahar dan Zulfa (2018) meneliti isolat *Actinomyces* dari Kebun Raya Bogor yang berpotensi menghambat bakteri *E.coli* karena memiliki efek proteolitik dan amilolitik.⁹ Menurut Pratiwi (2017), *Actinomyces* berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, yaitu *Staphylococcus aureus*.¹⁰ Mubarak *et al* (2017) menemukan delapan isolat *Actinomyces* dari tanah Karst Taman Wisata Bantimurung Maros Sulawesi Selatan dengan dua isolat berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *C.albicans*.¹¹

Berdasarkan uraian diatas, perlu adanya penelitian tentang pemanfaatan metabolit sekunder dari *Actinomyces* sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang saat ini sudah mengalami resistensi terhadap beberapa golongan antibiotik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan isolat *Actinomyces* dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah studi eksperimental dengan desain *true experiment post-test only control design*. Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta dari Juli – September 2020.

Sampel yang digunakan adalah isolat *Actinomyces* yang diambil dari Kebun Raya Bogor dan diisolasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta.

Konsentrasi isolat *Actinomyces* dibuat dalam 6 varian konsentrasi, yaitu 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} ; 10^{-5} ; 10^{-6} dan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*.

Alat:

Alat tulis, gelas ukur (*Pyrex*), tabung biakan (*Pyrex*), rak tabung reaksi, alat pengaduk, *autoclave*, bunsen, jangka sorong digital (*Vernier*), cawan petri (*Pyrex*), bak pewarnaan, ose steril, spuit 1 ml (*Onemed*), spuit 5 ml (*Onemed*), tabung uji, mikroskop (*Olympus*), inkubator (*Memmert*), pipet, ring atau plat silinder 6 mm, preparat, botol kaca, botol semprot, dan pinset.

Bahan:

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA), Media *Strach Casein Agar* (SCA), Isolat *Actinomyces*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Antijamur *Nystatin*, 0,5 ml BaCl_2 , 99,5 ml H_2SO_4 , ungu kristal karbol, NaCl 0.9%, cairan lugol, alkohol 96%, aquades sebagai kontrol negatif, kloramfenikol sebagai kontrol positif, masker medis, *handscoen*, tisu, dan korek api.

Pembuatan Isolat *Actinomyces*

Sampel diambil dari sediaan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta yang sebelumnya telah ditanam pada media *Strach Casein Agar* (SCA). Dilakukan peremajaan dengan memindahkan isolat ke media SCA baru yang telah diencerkan dan diberikan nystatin. Inkubasi bakteri dilakukan selama 14 hari pada suhu 37°C dalam inkubator.

Inokulasikan biakan sebanyak 1 ose pada tabung pertama dengan 9 ml aquadest untuk memperoleh pengenceran pertama. Ambil 1 ml biakan dari tabung sebelumnya kemudian campurkan pada tabung yang sudah diisi dengan 9 ml aquadest, lakukan sampai tabung ke-6. Konsentrasi yang didapatkan melalui pengenceran bertingkat dimulai dari 10^{-1} sampai 10^{-6} .

Penentuan konsentrasi didasarkan pada metode pengenceran bertingkat untuk memperoleh biakan yang lebih murni dengan kerapatan minimum. Jumlah biakan isolat *Actinomyces* yang terkandung pada konsentrasi besar akan memiliki kerapatan yang tinggi sehingga mampu memberikan efek antibakteri secara maksimal.

Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik

Identifikasi makroskopik dilakukan dengan pengamatan pada isolat *Actinomyces* yang telah ditanam pada media SCA selama 14 hari.

Identifikasi mikroskopik dilakukan dengan metode pewarnaan Gram dengan mengamati bentuk, susunan, warna, dan sifat dari isolat *Actinomyces*.

Pembuatan Media 0.5 McFarland dan Mueller Hinton Agar (MHA)

Campurkan 0.5 ml $BaCl_2$ dengan 99.5 ml H_2SO_4 pada tabung reaksi, lalu homogenkan. Suspensi 0,5 *Mc. Farland* merupakan suspensi standar yang menunjukkan kekeruhan bakteri, baik bakteri uji maupun isolat *Actinomyces*.

Pembuatan media MHA dilakukan 2 kali, yaitu *seed layer* dan *base layer*. Untuk pembuatan *seed layer*, suspensikan 1 ml bakteri *P.aeruginosa* ke dalam

larutan agar, lalu homogenkan. Tuangkan ke atas *base layer* dengan teknik *pour plate*.

Uji Daya Hambat Antibakteri

Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Cawan petri dibagi menjadi 3 bagian sama besar. Letakan plat silinder berdiameter 6 mm pada setiap kuadran dari *base layer* media *Mueller Hinton Agar*. Tuangkan media MHA secara *pour plate* untuk *seed layer*. Cabut plat silinder jika media sudah mengeras. Letakan isolat *Actinomyces* sesuai konsentrasi pada seluruh lubang sumuran yang terbentuk. Lakukan hal yang sama untuk kontrol positif dan kontrol negatif. Inkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C. Amati zona bening pada cawan petri.

Kekuatan zona bening diklasifikasikan menurut Davis & Stout, yaitu sangat kuat (zona bening >20 mm), kuat (zona bening 10-20 mm), sedang (zona bening 5-10 mm), lemah (zona bening <5mm).¹²

Analisis Data

Analisis hasil penelitian menggunakan uji *One – Way Anova*, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Bonferroni)* untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok.¹³

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

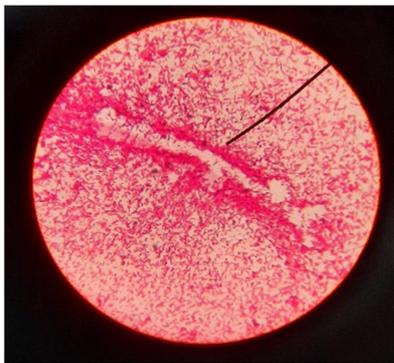
Tabel 1. Karakteristik isolat *Actinomyces*

Morfologi Koloni (Makroskopik)	
Bentuk	Bulat seperti bubuk
Warna	Putih keabu-abuan
Tepian	Bergerigi dan meninggi
Permukaan	Rata
Bau	+
Morfologi Sel (Mikroskopik)	
Pewarnaan Gram	Bentuk: Batang Susunan: Tunggal/Berkelompok Warna: Ungu Sifat: Gram + Metode: Pewarnaan Gram

Pada Tabel 1 didapatkan hasil identifikasi secara makroskopik untuk mengetahui morfologi koloni *Actinomyces*. Identifikasi mikroskopik dengan metode pewarnaan Gram untuk mengetahui morfologi sel *Actinomyces*.



Gambar 1. Identifikasi makroskopik isolat *Actinomyces* (dokumentasi pribadi)



Gambar 2. Identifikasi mikroskopik isolat *Actinomyces* (dokumentasi pribadi)

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Isolat *Actinomyces* terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Waktu Inkubasi 24 Jam

Uji (mm)	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	k+	k-
1	16,6	10,5	9,5	9,0	7,6	5,2	21,8	0
2	12,9	11,5	8,9	8,0	7,0	6,0	21,9	0
3	14,6	9,7	7,2	8,4	6,3	4,7	21,0	0
Rerata	14,7	10,6	8,5	8,5	6,9	5,3	21,5	0
Kekuatan Hambat	K	K	S	S	S	S	SK	-

k+ = Kontrol Positif, k- = Kontrol Negatif, K = Kuat, S = sedang, SK = Sangat Kuat

Pada Tabel 2 zona hambat terbesar dihasilkan oleh kontrol positif kloramfenikol dengan daya hambat sangat kuat (21,5 mm). Kontrol negatif aquades tidak

memiliki kemampuan menghambat (0 mm). Isolat *Actinomyces* konsentrasi 10⁻¹ (14,70 mm) dan 10⁻² (10,57 mm) memiliki daya hambat kuat. Kelompok isolat pada konsentrasi 10⁻³ (8,5 mm); 10⁻⁴ (8,5 mm); 10⁻⁵ (6,9 mm); dan 10⁻⁶ (5,3 mm) berdaya hambat sedang.

Tabel 3. Diameter zona hambat isolat *Actinomyces* terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Waktu Inkubasi 48 Jam

Uji (mm)	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	k+	k-
1	6,3	5,8	5,3	3,9	3,8	3,9	19,1	0
2	7,7	6,7	4,9	5,6	5,0	2,1	20,3	0
3	8,0	7,1	6,1	4,4	3,6	2,3	19,4	0
Rerata	7,3	6,5	5,4	4,6	4,1	2,8	19,6	0
Kekuatan Hambat	S	S	L	L	L	L	K	-

k+ = Kontrol Positif, k- = Kontrol Negatif, K = Kuat, S = sedang, L = Lemah

Pada Tabel 3 terlihat zona hambat terbesar dihasilkan oleh kontrol positif kloramfenikol dengan daya hambat kuat (19,6 mm). Kontrol negatif aquades tidak memiliki kemampuan menghambat. Isolat *Actinomyces* konsentrasi 10⁻¹ (7,3 mm) dan 10⁻² (6,5 mm) memiliki daya hambat sedang. Kelompok isolat pada konsentrasi 10⁻³ (5,4 mm); 10⁻⁴ (4,6 mm); 10⁻⁵ (4,1 mm); dan 10⁻⁶ (2,8 mm) memiliki daya hambat lemah.

PEMBAHASAN

Identifikasi makroskopik ditemukan isolat *Actinomyces* dari spesies *Streptomyces sp.* dengan gambaran koloni berbentuk bulat seperti bubuk, berwarna putih keabu-abuan, permukaan rata, tepi meninggi dan bergeri, berbau seperti tanah. Untuk identifikasi mikroskopik ditemukan bentuk panjang, berkelompok, berwarna ungu, dengan spora disekitar isolat.¹⁴

Diameter zona hambat yang diperoleh dari isolat *Actinomyces* konsentrasi 10⁻¹; 10⁻²; 10⁻³; 10⁻⁴; 10⁻⁵; dan 10⁻⁶ pada waktu inkubasi 24 jam masing – masing sebesar 14.70 mm; 10.57 mm; 8.53 mm; 8.47 mm; 6.97 mm; dan 5.20 mm. Untuk waktu inkubasi 48 jam, diameter yang dihasilkan sebesar 7.33 mm; 6.53 mm; 5.43 mm; 4.63 mm; 4.13 mm; dan 2.77 mm. Kemampuan isolat *Actinomyces* dalam menghambat

aktivitas mikroba pada waktu inkubasi 24 jam cenderung kuat – sedang. Berbeda dengan waktu inkubasi 48 jam yang cenderung sedang - lemah. Pada penelitian ini, menunjukkan adanya penurunan rata – rata dari besar diameter zona hambat yang dihasilkan oleh setiap konsentrasi.

Diameter zona hambat yang dihasilkan dalam penelitian dapat disebabkan karena memiliki bahan organik yang merupakan antibakteri, waktu inkubasi, kerapatan mikroba uji, konsentrasi yang digunakan^{15,16}

Masa inkubasi 24 jam merupakan fase log menuju fase stasioner, sedangkan waktu inkubasi 48 jam memungkinkan adanya pertumbuhan bakteri baru disekitar zona hambat.¹⁷ Mikroba hanya dihambat pada pajanan singkat oleh agen antimikroba. Semakin lama masa inkubasi, maka semakin besar kesempatan mutan resisten untuk muncul atau semakin besar kesempatan bagi anggota yang tidak sensitif terhadap antimikroba untuk mulai memperbanyak diri.⁴

Konsentrasi isolat yang digunakan pada penelitian dibuat dengan melakukan pengenceran bertingkat sebanyak 6 kali. Hal ini dilakukan untuk memperoleh kultur yang lebih murni dengan kerapatan yang minimum. Semakin besar konsentrasi, jumlah dari biakan yang dikultur akan semakin rapat serta keragaman dari biakan akan semakin banyak. Semakin kecil konsentrasi, zat aktif metabolit sekunder lebih sedikit dikarenakan kerapatan dari isolat *Actinomycetes* pun cenderung menurun.¹⁸

Pertumbuhan *P.aeruginosa* dapat dihambat oleh metabolit sekunder yang dihasilkan oleh genus terbesar *Actinomycetes*, yaitu *Streptomyces*.¹⁹ Mekanisme antibakteri secara umum ada 4, yaitu inhibisi sintesis asam nukleat, menghambat pembentukan dinding sel, inhibisi sintesis protein, dan mengganggu fungsi membran sel.²⁰

Dinding sel *P.aeruginosa* tersusun atas membran dalam dan luar. Membran luar berperan sebagai barrier yang disokong oleh lipopolisakarida, fosfolipid, dan porin yang permeabel sebagai jalur lalu lintas nutrisi atau zat kecil lainnya.²¹ Semakin permeabel suatu porin, kemampuan untuk menyerap senyawa menjadi lebih mudah, sehingga zat

antibakteri dapat masuk ke dalam sel.²² Efek yang ditimbulkan dapat terjadi perubahan pada permukaan sel, seperti penyusutan dan pengerutan dari dinding sel.²³

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mubarak *et al*, didapatkan 8 isolat *Actinomycetes* asal tanah Karst Taman Wisata Bantimurung Maros Sulawesi Selatan, didapatkan 6 isolat yang tumbuh secara baik dan 2 isolat lainnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Zona hambat yang terbentuk sebesar 6.25 mm dan 7.39 untuk *P.aeruginosa*, 7.69 mm untuk *S.aureus*, 9.03 mm untuk *C.albicans*. Dalam penelitian tersebut, media yang digunakan adalah *Strach Nirat Agar* (SNA), untuk uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *agar block* dengan umur isolat *Actinomycetes* berusia 7 hari.¹¹

Berbeda dengan penelitian Mubarak *et al* yang telah disebutkan sebelumnya, penulis menggunakan metode difusi sumuran untuk menguji aktivitas antibakteri. Sampel pada penelitian diambil dari tanah di Kebun Raya Bogor. Perbedaan lain terlihat dari mikroba uji, penelitian ini hanya menggunakan 1 mikroba uji yaitu *P.aeruginosa*. Media padat yang digunakan dalam membiakan isolat *Actinomycetes* adalah media SCA (*Strach Cassein Agar*). Serta hasil dari penelitian ini memaparkan zona hambat secara kualitatif dan kekuatan aktivitas antibakteri dari konsentrasi terbesar sampai terkecil.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kumalasari *et al*, ditemukan 14 isolat *Actinomycetes* yang berasal dari Kawasan Karst Bantimurung Sulawesi Selatan dengan metode *Kirby-Bauer* dan mengujikan ke-14 isolat *Actinomycetes* pada bakteri uji. Isolat mampu menghambat *E.coli* dengan diameter sebesar 12 mm, *P.aeruginosa* dengan diameter sebesar 10 mm, *S.acetabutilicum* dan *A.flavus* dengan diameter masing - masing sebesar 10 mm dan 10.5 mm.²⁴

Sejalan dengan penelitian lainnya yang dikatakan oleh Fatoni (2016), ditemukan 18 isolat rare *Actinomycetes* dari material pasir pantai Baron Gunung Kidul, Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan metode agar blok dan didapatkan dua

isolat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter 8 mm dan 11.5 mm.¹⁸

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat *Actinomycetes* dari tanah di Kebun Raya Bogor dapat menghambat aktivitas bakteri *P.aeruginosa* ATCC 27853. Dikarenakan keterbatasan waktu dan sumber daya manusia, peneliti tidak melakukan kontrol terhadap suhu dan kontaminasi udara sekitar laboratorium.

Dari penelitian ini, disarankan peneliti selanjutnya dapat melakukan uji biomolekuler untuk mengetahui jenis isolat *Actinomycetes* serta melakukan pengambilan senyawa bioaktif dari isolate *Actinomycetes* yang bersifat antibakteri.



Gambar 3. Zona hambat yang dihasilkan isolat *Actinomycetes* (dokumentasi pribadi)

SIMPULAN

Isolat *Actinomycetes* dari tanah Kebun Raya Bogor memiliki kemampuan antibakteri. Hal ini dapat dibuktikan dalam menghambat *P.aeruginosa* ATCC 27853 pada konsentrasi efektif 10^{-1} yang diukur secara kualitatif pada waktu inkubasi 24 jam dan memiliki sifat antibakteri yang kuat pada konsentrasi tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kasih kepada jajaran Dekanat UPN Veteran Jakarta dan Ketua Laboratorium FK UPN Veteran Jakarta yang telah memfasilitasi dan mengizinkan untuk melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UPN Veteran Jakarta.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO). Pneumonia. 2019 [diunduh 20 Maret 2020]. Tersedia dari: <http://who.int/newsroom/factsheets/detail/pneumonia>
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI. Riset Kesehatan Dasar 2013. [diunduh tanggal 19 Maret 2020]. Tersedia dari <http://www.depkes.go.id/resources/download/geral/Hasil%20Rikesdas%202013.pdf>
3. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI). Press Release Perhimpunan Dokter Paru Indonesia World Pneumonia Day 2018 [diunduh 2 Maret 2020]. Tersedia dari: <https://www.pdpikaltim.com/2018/11/press-releasepdpi-world-pneumonia-day.html>
4. Brooks, Butel JS, Morse SA, Carroll KC, Mietzner TA. Microbiology. Edisi ke-24. New York: The McGraw-Hill Companies; 2014.hlm. 263–6
5. Rukmono P, Zuraida R. Uji kepekaan antibiotik terhadap *Pseudomonas aeruginosa* penyebab sepsis neonatorum. Sari Pediatri. 2016; 14 (5): 332.
6. Putri AA, Rasyid R, Rahmatini R. Perbedaan sensitivitas kuman *pseudomonas aeruginosa* penyebab infeksi nosokomial terhadap beberapa antibiotika generik dan paten. J Kesehat Andalas. 2014;3(3):327–31.
7. Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Nathalie Gaveau-Vaillant CJ, Klenk H-P, Clément C, *et al.* Taxonomy, physiology, and natural products of antibacteria. Am Soc Microbiol. 2016;80(1):1–43.
8. Solecka J, Zajko J, Postek M, Rajnisz A. Biologically active secondary metabolites from *Actinomycetes*. Central European Journal Biology. 2012;7(3):373–90.
9. Bahar M, Zulfa F. Potention of antibacterial isolat *Actinomycetes* to proteolytic and amilolytic activity *Escherichia coli* ATCC 25922. Jurnal Teknologi Laboratorium. 2018;7(1):25.
10. Pratiwi TA. Uji efektivitas antibakteri isolat *Actinomycetes* dari sampel tanah Kebun Raya Bogor terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vitro* [skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran, UPN Veteran. 2017.

11. Mubarak, F, Rante, H, Djide N. Isolasi dan aktivitas antimikroba Aktinomycetes dari tanah Karst Taman Wisata Bantimurung asal Maros Sulawesi Selatan. *Jurnal Farmasi UMI*. 2017; 9 (3):1–8.
12. David WW, Stout TR. Disc plate method of microbiological antibiotik assay. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;22(4):666-7.
13. Dahlan MS. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta; 2012.
14. Alwi M, Merdekawaty L, Umrah D. Identifikasi Actinomycetes yang terdapat pada tanah di sekitar Danau Lindu Sulawesi Tengah. *J Biocelbes*. 2012;6(1):1978–6417.
15. Rahmaningsih S, Pujiastutik H. An in vitro and in silico evaluation of the antibacterial activity of the bioactive compounds in Majapahit (*Crescentia cujete L.*) fruit. *Veterinary Journal*. 2019; 12 (12): 1959–65.
16. Akbar RA, Ryandini D, Kusharyati DF. Potensi Aktinomisetes asal tanah Perakaran Mangrove Segara Anakan Cilacap sebagai penghasil antifungi terhadap yeast patogen *Candida albicans*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 2017;2(2):39.
17. Hasyim, Z, Husain DR, Lestari P. Potensi ekstrak cacing biru *Peryonix excavatus* sebagai senyawa antibakteri pada pelarut patogen. *Jurnal FMIPA Unila*. 2012;(978):336–43.
18. Fatoni J. Potensi isolat Rare Actinomycetes dari pasir Pantai Baron Gunung Kidul Yogyakarta sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* [skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2016.
19. Rodríguez H, Rico S, Díaz M, Santamaría RI. Two-component systems in *Streptomyces*: Key regulators of antibiotic complex pathways. *Microbial Cell Fact Journal*. 2013;12(1):1–10.
20. Setiabudy R. Farmakologi dan terapi. Edisi ke-5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2016.hlm.1689–99.
21. López CA, Zgurskaya H, Gnanakaran S. Molecular characterization of the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes Journal*. 2020;1862(3):183151.
22. Epanand RM, Walker C, Epanand RF, Magarvey NA. Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. 2016;1858(5):980–7.
23. Sangdee K, Buranrat B, Seephonkai P, Surapong N, Sangdee A. Investigation of antibacterial and anti-cancer activities of streptomyces sp SRF1 culture filtrate. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2017;16(11):2727–34.
24. Kumalasari AM, Fathurahman RN, Nur RM. Potensi Actinomycetes sebagai sumber senyawa bioaktif antibiotik dari Kawasan Karst Bantimurung, Sulawesi Selatan. *Pelita - Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*. 2012;7(1):59–72.