



Identifikasi Isolat *Streptomyces hygroscopicus* INACC A497 sebagai Anti Malaria : Uji Pendahuluan

Rosa Salsabila Reza^{1*}, Endah Setyaningrum¹, Nismah Nukmal¹, Achmad Arifiyanto¹

¹Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

* corresponding author : rosasalsabila24@gmail.com

Diterima: 26-06-2021 – Disetujui: Disetujui : 15-11-2021 – Dipublikasi: 29-11-2021

© 2021 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

Abstract

Streptomyces sp is known as a bacterium that is able to produce secondary metabolites that act as antiparasitic, antitumor, anti-oxidant, plant growth, herbicide, pesticide, and many others so that it is often used as an antibiotic in the form of drugs. This study aims to identify the bacteria *InaCC A497 Streptomyces hygroscopicus* subsp *Jinggangensis* collection from the Indonesian Culture Collection (InaCC) Lipi Cibinong which will be used as an antimalarial. The tests carried out were biochemical tests (sugar test, indole test, and motile test), and observation of growth curves for 6 consecutive days using a UV-VIS Spectrophotometer. The results showed that the bacteria *InaCC A497 Streptomyces hygroscopicus* subsp *Jinggangensis* has the potential as an anti-malarial.

Keywords: *Streptomyces hygroscopicus*, Anti-malaria, UV-VIS Spectrophotometer, Secondary metabolites, Bacteria

ABSTRAK

Streptomyces sp. dikenal sebagai bakteri yang mampu menghasilkan metabolit sekunder yang berperan sebagai antiparasit, antitumor, antioksidan, pertumbuhan tanaman, herbisida, pestisida, dan lain-lain sehingga sering digunakan sebagai antibiotik dalam bentuk obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri *InaCC A497 Streptomyces hygroscopicus* sub sp. *Jinggangensis* koleksi. Koleksi Kultur Indonesia (*InaCC*) *LIPi* Cibinong yang akan digunakan sebagai antimalaria. Pengujian yang dilakukan adalah uji biokimia (uji gula, uji indol, dan uji motil), dan pengamatan kurva pertumbuhan selama 6 hari berturut-turut menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *InaCC A497 Streptomyces hygroscopicus* sub sp. *Jinggangensis* berpotensi sebagai antimalaria.

Kata kunci: *Streptomyces hygroscopicus*, Antimalaria, Spektrofotometer UV-VIS, Metabolit sekunder, Bakteri

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit menular yang masih menjadi masalah di Indonesia, karena Indonesia memiliki iklim tropis. Penularan malaria disebabkan oleh protozoa genus *Plasmodium* melalui gigitan nyamuk *Anopheles* sp. betina kemudian bereproduksi dalam sel darah manusia. Parasit *Plasmodium* memiliki ciri siklus hidup terjadi dalam dua tahap yaitu aseksual dan seksual. Berdasarkan jenisnya, malaria dikelompokkan menjadi 5 parasit yaitu *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, dan *P. Knowlesi*

(Febriani *et al.*, 2019). Spesies yang membahayakan bagi manusia yaitu *P. falciparum* karena dapat menyebabkan infeksi akut pada ginjal, hati, dan otak sehingga berdampak kematian. Selain itu dapat juga ditemukan gejala lain seperti nyeri kepala, mual, muntah, diare, pegal - pegal, dan nyeri otot. (Prabowo *et al.*, 2019).

Kasus malaria sepanjang tahun 2019 di Indonesia tercatat sebanyak 250.644 kasus. Berdasarkan data trend kasus positif malaria API (*Annual Parasite Incidence*), masih banyak ditemukan

daerah endemis malaria, di Indonesia, diantaranya Kawasan Timur Indonesia, seperti Papua, Papua Barat, dan Provinsi Nusa Tenggara Timur, dan Provinsi Kalimantan Timur. Namun, kasus tertinggi yaitu sekitar 86% terjadi di Provinsi Papua sebanyak 216.380 kasus. Selanjutnya, disusul oleh Provinsi Nusa Tenggara Timur sebanyak 12.909 kasus dan Provinsi Papua Barat sebanyak 7.079 kasus (Kemenkes RI, 2019).

Peningkatan kasus malaria yang terus bertambah setiap tahunnya membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pemanfaatan mikroorganisme sebagai antimalaria. Sebelumnya telah dilakukan penelitian tentang pemanfaatan mikroorganisme sebagai antimalaria, salah satunya adalah kelompok bakteri *Streptomyces* sp.

Genus *Streptomyces* termasuk dalam golongan ordo Actinomycetes dan famili Streptomycetaceae yaitu bakteri dengan struktur khas karena memiliki kemampuan pembentukan hifa atau filamen, sehingga sekilas tampak seperti jamur. Akan tetapi, genus *Streptomyces* bersifat selulanya prokariota lainnya karena tidak memiliki membran pada intinya (Kawuri, 2016).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan mengenai penghambatan pertumbuhan *P.falciparum* oleh metabolit sekunder *Streptomyces* sp. karena terdapat kandungan senyawa kimia aktif yang berperan sebagai inhibitor protease pada tripsin, kimotripsin, dan proteinase. Genus *Streptomyces* memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder termasuk. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *S. hygrosopicus* terdapat kandungan *eponemycin* sebagai aktivitas anti tumor dengan cara menghambat fungsi proteasom dan selanjutnya mengganggu kerja sistem ubiquitin-proteasome (Fitri *et al.*, 2019). Sehingga diharapkan hasil penelitian ini dapat diketahui kandungan ekstrak metabolit

sekunder *S. hygrosopicus* strain INA CC A47 yang dapat dikembangkan sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, Universitas Lampung pada bulan Mei-Juli 2020.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah magnetic stirrer, hot plate, rotary evaporator (*Buchii Rotary Evaporator*), peralatan kromatografi kolom, spektrofotometer (Uv-Vis 1800), LAF (*Laminar air flow Forma Scientific*), inkubator (Heraeus). Mikroskop binokular (*Axioskop, Zeiss*), kaca objek, pipet mikro dan peralatan gelas laboratorium. Identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tripton, ekstrak ragi, agar, H₂O, pepton, ferri sitrat amoniakal, natrium tiosulfat, K₂HPO₄, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄, substrat gula (Laktosa, manitol, galaktosa, dan sukrosa), pelarut etil asetat, DMSO (Dimetil Sulfokida).

Metode Penelitian

Tes Karakterisasi

Bakteri *S. hygrosopicus* INACC A497 diremajakan pada media yang telah disiapkan (ISP 1, ISP 4, ISP6, ISP9, ISP 9+Mannitol, ISP 9+Galaktosa, ISP 9+Laktosa, ISP 9+Sukrosa, SCA, dan Strepto). Seluruh media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C dengan tekanan 15 Psi selama 15 menit. Sebanyak 15 mL media dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Pengamatan dilakukan selama 3 hari berturut-turut (Yasjudani, 2017).

Uji Biokimia

Mengambil 1 ose isolat bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam media NB

(*Nutrient Broth*) yang ditambahkan gula sukrosa 1%, laktosa, fruktosa, galaktosa, glukosa dalam tabung reaksi. Sebelumnya, media telah diberi indikator bromothymol blue sebagai indikator fermentasi. Kemudian tabung dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 72 jam pada suhu 25-28°C. Hasil positif ditunjukkan ketika terjadi perubahan warna dan juga terdapat gelembung gas (Hayati *et al.*, 2019).

Pengujian indol dilakukan dengan mengambil satu koloni isolat bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam media SIM dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan hasil uji indol dilakukan dengan menambahkan 10-12 tetes pereaksi Kovac. Uji motilitas dilakukan dengan mengambil satu koloni isolat bakteri ke dalam media SIM kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri di sekitar tusukan menunjukkan hasil tes negatif (Datta *et al.*, 2019).

Kurva Pertumbuhan

Pengujian spektrofotometer dilakukan dengan mengambil suspensi bakteri yang telah diseimbangkan dengan standar kekeruhan McFarland 1 sebanyak 0,5 ml

dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian diukur nilai absorbansi awal dengan panjang gelombang 600 hingga mencapai OD = 0,5 menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penelitian dilakukan selama 6 hari berturut-turut pada jam yang telah ditentukan yaitu pukul 09:00, 12:00, 15:00 perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Karakterisasi

Pengamatan uji karakterisasi ditunjukkan dengan warna miselium dan pertumbuhan isolat *Streptomyces hygroscopicus* INACC A497 pada berbagai media tumbuh yang sudah dibuat serta melihat ada atau tidaknya pigmen terlarut pada berbagai media tumbuh. Hasil pengamatan makroskopik meliputi pertumbuhan, bentuk, warna, margin, dan elevasi koloni bakteri. Permukaan koloni dapat dilihat dari samping, dan tepi koloni dapat dilihat dari atas cawan. Uji karakterisasi dilakukan pada 10 media yaitu Strepto, SCA, ISP 1, ISP 4, ISP 6, ISP 9, ISP 9+ manitol, ISP 9+ sukrosa, ISP 9+ laktosa, ISP 9+ galaktosa. Pengamatan dilakukan selama 3 hari. Hasil pengamatan koloni bakteri disajikan pada Tabel 1.

Table 1. Uji karakterisasi *S. hygroscopicus* InaCC A497

Hari ke	Media	Growth	<i>Arial Mycelium</i>	<i>Substrate mycelium</i>	Pigmen
1	Strepto SCA ISP 1 ISP 4 ISP 6 ISP 9 ISP 9+Manitol ISP 9+Sukrosa ISP 9+Laktosa ISP 9+ Galaktosa				Tidak terjadi perubahan
2	Strepto SCA	Poor Poor	White yellow White	to Dark yellow White	White White to yellow

	ISP 1	Good	White	White to Brown yellow	
	ISP 4	Poor	White	Not fully developed	Moderate olive
	ISP 6	Poor	White	White	Black
	ISP 9	Moderate	Immature white	White	Moderate yellow
	ISP 9+Manitol	Poor	White	Moderate yellow	White
	ISP 9+Sukrosa	Poor	White	Moderate yellow	White
	ISP 9+Laktosa	Good	White	Moderate yellow	Yellow
	ISP 9+ Galaktosa	Less	White	Not fully developed	Yellow
3	Strepto	Poor	White yellow	to Dark yellow	White
	SCA	Poor	White	White	White to yellow
	ISP 1	Very Good	White	White yellow	to Brown
	ISP 4	Less	White	Not fully developed	Moderate olive
	ISP 6	Less	White	White	Black
	ISP 9	Good	Immature white	White	Yellow
	ISP 9+Manitol	Poor	White yellow	to Yellow	Moderate yellow
	ISP 9+Sukrosa	Less	White	Moderate yellow	White to yellow
	ISP 9+Laktosa	Very Good	White	Moderate yellow	White to yellow
	ISP 9+ Galaktosa	Good	White	Moderate yellow	White to yellow

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama 3 hari didapatkan isolate *S. hygroscopicus* INA CC A497 pada hari pertama belum mengalami pertumbuhan pada seluruh media. Pengamatan hari ke-2 mulai terlihat pertumbuhan pada media ISP1 dan ISP9+ Laktosa yang tumbuh sangat baik, terlihat dari jumlah koloni yang hidup lebih banyak. Kemudian pada media ISP9 dan ISP9+ galaktosa memiliki pertumbuhan yang baik. Sedangkan pada media ISP4, ISP6, ISP 9+ sukrosa pertumbuhannya relative rendah karena pertumbuhannya hanya sedikit. Terakhir

pada media yang tidak mengalami pertumbuhan sama sekali yaitu pada media SCA, dan ISP9+ strepto hal ini terlihat karena tidak ada koloni bakteri yang tumbuh. Selain dilihat dari pertumbuhannya juga diamati warna koloni, dari hasil diperoleh warna putih terdapat pada media SCA, ISP1, ISP4, ISP6, ISP9+ Sukrosa, ISP9+ Laktosa, dan ISP9+ Galaktosa. Media lainnya menghasilkan warna putih sampai kuning yaitu Strepto dan ISP9+ Mannitol, dan warna Immature White dihasilkan dari media ISP 9. Perbedaan warna pada

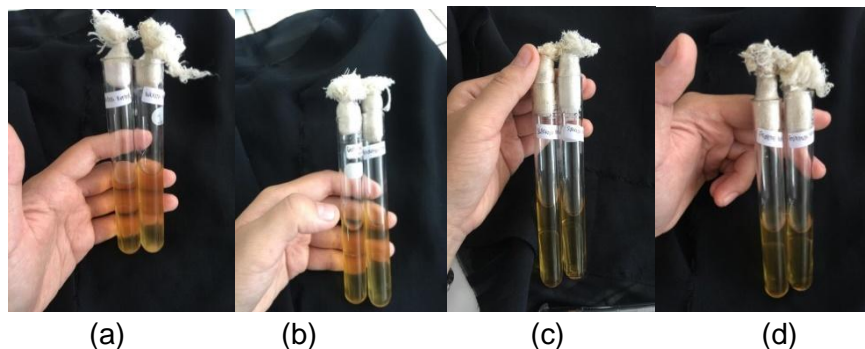
media disebabkan karena adanya perbedaan kemampuan dalam mencerna komponen-komponen media, Selain itu disebabkan adanya kandungan pigmen pada sel dan rantai spora pada *Streptomyces hygroscopicus* INACC A497, hifa akan berubah menjadi warna tertentu apabila terjadi pembentukan spora, sehingga diperoleh warna yang berbeda (Sari *et al.*, 2019). Salah satu ciri khas genus *Streptomyces* yaitu permukaan koloni tidak licin, ukuran diameter koloni antara 1-10 mm, memiliki miselium aerial yang mengarah dari permukaan koloni ke udara. Miselium pada awalnya berwarna putih sampai coklat, namun seiring berjalannya waktu berubah menjadi berwarna tertentu. Miselium aerial bakteri *Streptomyces* sp. memiliki warna yang berbeda-beda seperti putih, abu-abu, kuning, oranye, lavender, biru, hijau, sampai hitam (Lestari *et al.*, 2019).

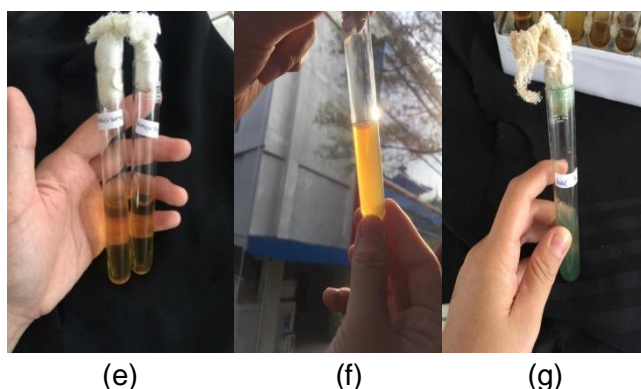
Uji Biokimia

Uji biokimia pada penelitian ini meliputi uji gula-gula, Indol, dan Motil. Pengujian gula-gula dilakukan bertujuan mengidentifikasi apakah bakteri *Streptomyces hygroscopicus* INA CC A497 mampu memfermentasi karbohidrat. Pengujian positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari warna ungu menjadi warna kuning dan adanya pembentukan gelembung gas pada tabung Durham. Perubahan warna yang terjadi menandakan bahwa bakteri ini membentuk asam dari fermentasi glukosa dan fermentasi sukrosa (Panjaitan *et al.*, 2020). Uji motilitas bertujuan untuk melihat pergerakan bakteri di dalam media tumbuh. Hasil pengamatan uji Biokimia disajikan pada Tabel 2 dan disajikan dalam bentuk Gambar 1.

Tabel 2. Uji Biokimia

No	Uji	Hasil	Keterangan
1	Sukrosa	+	Ada sedimen
2	Laktosa	+	Ada endapan, warnanya lebih keruh
3	Fruktosa	+	Ada sedimen
4	Galaktosa	-	Tidak ada perubahan
5	Glukosa	+	Ada sedimen
6	Indol	-	Warna hijau, tidak ada cincin
7	Motil	+	Bentuk rizoid/bercabang





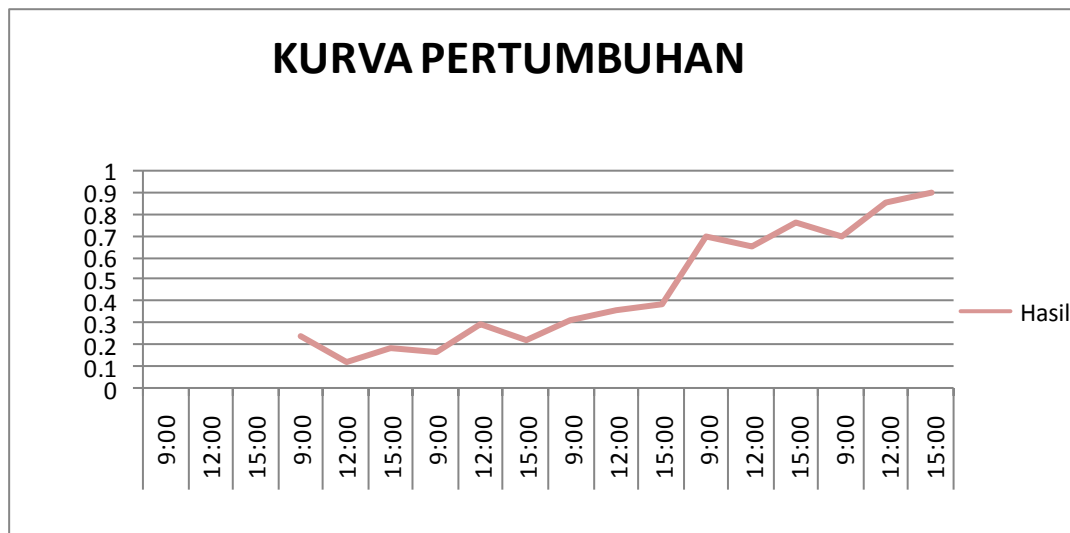
Gambar 1. Uji Biokimia strain INA CC A497

Keterangan : (a) Uji Laktosa, (b) Uji Galaktosa, (c) Uji Sukrosa, (d) Uji Fruktosa
(e) Uji Glukosa , (f) Uji Motil, (g) Uji Indol

Hasil pengujian gula-gula diketahui bahwa hanya gula laktosa, sukrosa, fruktosa dan glukosa menunjukkan hasil positif, sementara gula galaktosa menunjukkan hasil negatif. Energi yang dihasilkan dari fermentasi gula oleh bakteri akan membentuk asam piruvat dan asam asetat, disertai oleh gelembung gas CO₂ dalam media (Putri dan kurnia, 2019). Uji indol menunjukkan hasil negatif karena tidak mengalami perubahan warna dan tidak terbentuk cincin dikarenakan bakteri tidak melakukan pergerakan yang ditandai dengan tidak muncul penyebaran pertumbuhan bakteri sepanjang permukaan tusukan pada media SIM. apabila bakteri positif indol maka bakteri tersebut memiliki kandungan enzim triptofanase yang merupakan katalis untuk menguraikan gugus indol yang terdapat pada asam amino triptofan (Mogea *et al.*, 2019). Karakterisasi kimia bakteri kelompok Actinomycetes khususnya genus *Streptomyces* sp. memiliki spora non-motil dan menghasilkan enzim katalase, tidak menghasilkan gas, H₂S dan indol (Barka *et al.*, 2016).

KURVA PERTUMBUHAN

Pembuatan kurva pertumbuhan isolat diperlukan untuk menentukan umur starter terbaik yang dibutuhkan untuk produksi etanol. Ada beberapa tahapan dalam pertumbuhan bakteri, yaitu: fase lag, fase log (pertumbuhan dipercepat), fase stasioner (laju pertumbuhan tetap) dan fase kematian (pertumbuhan lebih lambat dan beberapa sel mati). Metabolit sekunder dihasilkan mikroorganisme pada akhir fase pertumbuhan yakni fase stasioner, dimana sel yang tumbuh jumlahnya sama dengan sel yang mati. Sintesis metabolit sekunder akan dihasilkan saat nutrient pada media pertumbuhan mikroorganisme telah habis, keterbatasan jumlah nutrient media pertumbuhan menyebabkan terakumulasinya inducer enzim metabolit sekunder dan terlepasnya gen-gen untuk sintesis metabolit sekunder (Wahyuningsih dan Zulaika, 2019). Hasil pengamatan selama 6 hari terlihat isolat mengalami fase pertumbuhan yang semakin hari semakin baik. Pengamatan kurva pertumbuhan menggunakan spektrofotometer UV-Vis ditunjukkan pada grafik di bawah ini



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *Streptomyces hygrosopicus* INA CC A497

Hasil pengamatan kurva pertumbuhan ditunjukkan pada grafik yang menunjukkan bahwa pada hari ke-6 Ina CCA497 mengalami pertumbuhan yang optimal. Sedangkan nilai absorbansi mengalami penurunan yang besar pada hari berikutnya dimungkinkan karena regangan tidak lagi tumbuh pada media cair. Salah satu faktor yang harus dimaksimalkan agar mendapatkan metabolit sekunder yang baik yaitu waktu fermentasi (Zhang dan Liu, 2016). Laju pertumbuhan bakteri sangat bervariasi menurut jenis bakteri serta kondisi lingkungannya. Laju pertumbuhan ditentukan dengan cara membuat kurva pertumbuhan antara waktu inkubasi dengan absorbansi yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa waktu efektif pengujian aktivitas antibakteri adalah pada hari ke-6, karena strain masih mengalami pertumbuhan yang baik. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri yang tidak stabil antara lain pH lingkungan, komponen benih bakteri, stabilitas zat aktif, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolisme bakteri.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan

Kepala Laboratorium Botani Universitas Lampung atas dukungannya dalam menyediakan tempat penelitian serta bimbingan dalam melaksanakan pekerjaan dan bimbingannya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Barka, E, A. Vatsa, P. Sanchez, L. Vaillant, N, G. Jacquard, C. Klenk, H, P. Clément, C, 2016, Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria, *Microbiology and Molecular Biology Review*, **Vol. 80 No.1**.
- Datta, F, U. Anggela, D,N. Imanuel, B. Anytha, I, R. Detha. Nancy, D, F, K. Nemay A. Ndaong. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Cairan Rumen Terhadap Pertumbuhan *Salmonella Enteritidis*, *Bacillus Cereus*, *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Menggunakan Metode Difusi Sumur Agar. Prosiding Seminar Nasional VII FKH Undana Swiss Bel-inn Kristal Kupang. ISBN: 978-602-6906-55-7. Universitas Nusa Cendana.
- Febriani, I, D. Muhimmah, I. Lusiyan, N. 2020. Identifikasi Stadium *Plasmodium Vivax* untuk

- Penegakan Diagnosis Penyakit Malaria dengan Sistem Berbantuan Komputer. Universitas Islam Indonesia.
- Fitri, L, E. Alkarimah, A. Cahyono, A, W. Lady, W, N. Endharti, A, T. Rivo, Y. 2019. Effect of Metabolite Extract of *Streptomyces Hygroscopicus Subsp. Hygroscopicus* on Plasmodium Falciparum 3D7 In vitro. *Iranian Journal of Parasitology*.
- Hayati, L, N. Wiwiek, T. Ratih, N, P. Sri, C. Maya, N, Y. Prima, A, P. 2019. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner* DOI: 10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82. **Vol.2 No.2 : 76-82**. Universitas Airlangga.
- Kawuri, R. 2016. Isolasi Dan Identifikasi *Streptomyces* Sp. Pada Rhizosfer Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca*) Di Desa Pendem Jembrana Bali. *Jurnal Metamorfosa* **Vol III No 2: 140-148**. ISSN: 2302-5697. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi F-MIPA Universitas Udayana.
- Kemenkes RI. 2019. Profil Kesehatan Indonesia 2018. Dinas Kesehatan Republik Indonesia.
- Lestari, S. Mukarluna. Rikhsan, R. 2019. Identifikasi dan Deteksi Aktivitas Daya Hambat Bakteri Actinomycetes yang diisolasi dari Tanah Gambut di Desa Tajok Kayong Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont* **Vol. 8 (1) : 13 – 19**. Universitas Tunjung Pura.
- Mogea, R, A. Waode, I, C, L, H, P. Hermawaty, A. 2020. Isolasi Bakteri Penghasil Indole Acetic Acid pada Tanaman Hortikultura di Perkebunan Prati SP 1, Manokwari. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. **Vol. 27 (1) 1:–6** ISSN 0853-4217 EISSN 2443-3462
- Panjaitan, F, J. Taufiq, B. Irsyana, A. Onesimus, K, L. Whaersima, I. 2020. Karakterisasi Mikroskopis Dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (Bpf) Dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Ciwal Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan*. **Vol 1, No 1**. Unika Santu Paulus Ruteng. NTT.
- Prabowo, A, Y. Hotman, S. Fajar, Y. 2019. Profil Penyakit Malaria Pada Rumah Sakit Tk.IV TNI AD Bandar Lampung. **Volume 3 No 1**. Universitas Lampung.
- Putri, A, M. Kurnia, P. 2018. Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform Dan Total Mikroba Dalam Es Dungkung Di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Media Gizi Indonesia*, **13(1)**.
- Sari, F, A. Ali, A. Junda, M. 2019. Isolasi Dan Karakterisasi Actinomycetes Dari Beberapa Sentra Perkebunan Bawang Antagonis Fusarium *Oxysporum F.Sp Cepae* Dan Uji Kemampuan Perkecambahan Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonium L.*) Varietas Tuktuk Super. Jurusan Biologi. FMIPA. Universitas Negeri Semarang.
- Wahyuningsih, N. Zulaika, E. 2019. Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal seni da sains. Insititut Teknologi Sepuluh November*.
- Yusjadani. 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (*Swietenia mahagoni L.*) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen. Univeristas Islam Negeri Alaudin. Makassar
- Zhang, Q.Liu, Y. 2016. The Strategies for Increasing Cordycepin Production of Cordyceps Militaris by Liquid Fermentation. *Fungal Genomics & Biology*, **6(1)**. <http://doi.org/10.4172/2165-8056.1000134>