

**IDENTIFIKASI *ACTINOMYCETES* PENGHASIL SENYAWA  
ANTIBAKTERI BERBASIS VISUALISASI SCANNING ELECTRON  
MICROSCOPE DAN DNA-BARCODE GEN 16S rRNA**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana  
di Jurusan Biologi Fakultas MIPA**

**Oleh:  
WAHID HERLANDA  
08041281823107**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2022**

## **HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI**

Judul Skripsi : Identifikasi *Actinomycetes* Penghasil Senyawa Antibakteri Berbasis Visualisasi *Scanning Electron Microscope* dan DNA-barcode Gen 16S rRNA

Nama Mahasiswa : Wahid Herlanda

NIM : 08041281823107

Jurusan : Biologi

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 18 Mei 2022.

Indralaya, 23 Mei 2022

Pembimbing

1. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si  
NIP. 197504272000122001



(.....)

## HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Proposal Skripsi : Identifikasi *Actinomycetes* Penghasil Senyawa Antibakteri Berbasis Visualisasi *Scanning Electron Microscope* dan DNA-barcode Gen 16S rRNA

Nama Mahasiswa : Wahid Herlanda

NIM : 08041281823107

Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 18 Mei 2022 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan panitia sidang ujian skripsi.

Indralaya, 23 Mei 2022

Ketua:

1. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si  
NIP. 197504272000122001



(.....)

Anggota:

1. Dra. Muharni, M.Si.  
NIP. 196306031992032001
2. Marieska Verawaty, M.Si., Ph.D  
NIP. 197503222000032001



(.....)



(.....)

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sriwijaya



## **PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Wahid Herlanda

NIM : 08041281823107

Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, 23 Mei 2022

Penulis



Wahid Herlanda  
NIM. 08041281823107

## **HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Wahid Herlanda  
NIM : 08041281823107  
Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi  
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Hak bebas royaliti non-ekslusif (*non-exclusively royalty-free right*)” atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Identifikasi *Actinomycetes* Penghasil Senyawa Antibakteri Berbasis Visualisasi *Scanning Electron Microscope* dan DNA-barcode Gen 16S rRNA”

Dengan hak bebas royaliti non-ekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemiliki hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 23 Mei 2022

Penulis



Wahid Herlanda  
NIM. 08041281823107

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

*thanks, cause i'm not givin' up, i'm not givin' up, givin' up, no not yet, even when i'm down to my last breath, even when they say there's nothin' left, even when nobody else believes, i'm not goin' down that easily, so don't give up on.*

**“karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan” [5:94]**

Kupersembahkan Skripsi ini untuk:

Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW

Orang tua ku tercinta (Kandar dan Parni) yang selalu mendukung segala keputusan yang aku ambil dan selalu memberi kesempatan untuk terus belajar dan berkembang serta menguatkan pundak kakak  
Mbah kakung dan Mbah putri tersayang yang selalu mendukung dan mendoakan yang terbaik untuk cucunya  
Adik-adiku (Kevin, Ketrin dan Millen) yang selalu menjadi alasan untuk terus belajar dan berjuang

Ibu Dr. Elisa Nurnawati, M.Si. Dosen Pembimbing ku, yang sudah mempercayakan penelitian ini  
Sahabatku: Baswara Amerta dan Cah Kangenan  
Almamaterku, Universitas Sriwijaya

## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Identifikasi *Actinomycetes* Penghasil Senyawa Antibakteri Berbasis Visualisasi Scanning Electron Microscope dan DNA-Barcode Gen 16S rRNA**” sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Penulis menyadari dalam proses penelitian dan penulisan skripsi banyak mengalami kesulitan dan hambatan, tetapi berkat bantuan, bimbingan, dan masukan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Terima kasih kepada Ibu Dr. Elisa Nurnawati, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dukungan, nasihat, dan kesabarannya selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dra. Muhamni, M.Si, Ibu Marieska Verawaty, M.Si., Ph.D. dan Bapak Drs. Agus Purwoko, M.Sc selaku dosen pengujii yang telah memberikan saran dan arahan kepada penulis dalam merampungkan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Kandar dan Ibu Parni selaku kedua orang tua, adik dan keluarga tersayang yang selalu menjadi semangat dan motivasi bagi penulis.
2. Rakyat Indonesia dan Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah mendukung dan membiayai kuliah penulis melalui program Bidikmisi.
3. Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
4. Dr. Arum Setiawan, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
5. Prof. Dr. H. Zulkifli Dahlan, M.Si., DEA selaku dosen Pembimbing Akademik yang memberikan bimbingan dan arahan selama proses perkuliahan.
6. Seluruh dosen dan staff karyawan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

7. Ibu Rosmania, S.T. selaku analis Laboratorium Mikrobiologi dan Kak Agus Wahyudi, S.Si. selaku analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi Jurusan Biologi yang banyak membantu penulis dalam kegiatan di laboratorium.
8. Teman-temanku yang telah membersamai dari SMA: Oktavia Ningsih, Batras Ulan Risanti, Adi Sudarmaji, Reza Kurniawan dan Annisa Anding Ayuni Ardy.
9. Sahabat-sahabatku “Baswara Amerta” (Adinda Cendekia, Ersa Yuniarti, Hilya Aulia, Mitra Turahmi, M. Haris, M. Ramli Kartian, Putri Balqis, Regyna Maitaresca Harsono, Rexy Einrich Dida, Selamat Robinsa, Septra Tri Andika, Thania Azhmarnatasha Maharani Andalas, Wike Agung Safitri dan Yuni Handayani Sihombing) yang telah berbagi suka duka, mewarnai dunia perkuliahan dan yang selalu mau direpotkan.
10. Rekan-rekan seperjuangan “Dunia Percawanan” (Adinda Cendekia, Alifia Anisya, Dinda Sari, Feby Oktavia, Putri Dwindriani, Sarmila, Sasti Pebry Ayuni dan Yuni Handayani Sihombing) yang telah berbagi ruang penelitian dan saling membantu dalam proses penelitian.
11. Seluruh teman-teman Angkatan Biologi 2018, terutama kelas A “BioAmongus18”.
12. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT selalu memberikan limpahan rahmat dan hidayah-Nya serta membalas segala amal kebaikan pihak-pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini. Harapan penulis, semoga skripsi ini dapat menjadi referensi bagi civitas akademik dan masyarakat umum. Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, oleh karena itu kritik dan saran sangat diperlukan untuk kebaikan skripsi ini dimasa datang.

Indralaya, 23 Mei 2022

Penulis



Wahid Herlanda

NIM. 08041281823107

**IDENTIFICATION OF ACTINOMYCETES PRODUCING  
ANTIBACTERIAL COMPOUNDS BASED ON SCANNING ELECTRON  
MICROSCOPE VISUALIZATION AND 16S rRNA DNA-BARCODE**

**Wahid Herlanda  
08041281823107**

**SUMMARY**

Actinomycetes are one of the microorganisms that have commercial value because of their ability to produce antibiotics. 80 % of antibiotics on the market today are produced by *Streptomyces*. Exploration of Actinomycetes from swampland revealed 19 isolates and 4 isolates of which ACT 8, ACT 10, ACT 11 and ACT 13 had high antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923, based on morphological and biochemical characterization of the four isolates suspected to be genus *Streptomyces*.

In determining the identity of Actinomycetes, microbiologists combined various components such as morphological, biochemical and genomic characters in polyphasic studies. The character of the surface ornamentation of Actinomycetes spores is the key to identify that distinguishes among the species. Identification of Actinomycetes using DNA-barcoding and adding the ornamental character of the spore surface were able to determine the type of Actinomycetes accurately. In this study, antibacterial activity was tested, morphological structure visualization using Scanning Electron Microscope (SEM) and molecular analysis using DNA-barcoding 16S rRNA gene, so the identity of the four isolates of *Streptomyces* spp. can be known with accurately.

Four isolates of *Streptomyces* spp. had a strong ability to inhibit the growth of gram-negative bacteria (*E. coli*) while against gram-positive bacteria (*S. aureus*) ACT 8 had strong abilities, isolates ACT 10, ACT 11 and ACT 13 had moderate abilities. Four isolates had the same hyphal structure with many branches forming a complex mycelium such as root fibers and found sporophores and had many spores with similar shapes, which is called spiral chains. The shape of the spore chain is a characteristic that is found in the genus *Streptomyces*. Based on the results of homology search, ACT 8 had the highest percent identity against *S. samsunensis* strain M1463 with a value of 99.72% while isolates ACT 10, ACT 11 and ACT 13 had the highest percent identity against *S. malaysiensis* strain NBRC 16446 with a value of 99.45 % to 99.79%. Genetic distance analysis and phylogenetic tree reconstruction showed that the four isolates were closely related to *Streptomyces samsunensis* sp. nov. and *Streptomyces malaysiensis* sp. nov. with a genetic distance ranging from 0.001 to 0.006 and belongs to the clade *Streptomyces violaceusniger*.

**Keywords** : Actinomycetes, Antibacteria, SEM, DNA-barcoding, Phylogenetic, *Streptomyces*

**References** : 98 (1971-2021)

# **IDENTIFIKASI ACTINOMYCETES PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI BERBASIS VISUALISASI SCANNING ELECTRON MICROSCOPE DAN DNA-BARCODE GEN 16S rRNA**

**Wahid Herlanda  
08041281823107**

## **RINGKASAN**

*Actinomycetes* menjadi salah satu mikroorganisme yang memiliki nilai komersial karena kemampuannya dalam menghasilkan antibiotik. Delapan puluh persen antibiotik yang beredar dipasaran saat ini diproduksi oleh *Streptomyces*. Eksplorasi *Actinomycetes* dari tanah rawa didapatkan 19 isolat dan 4 isolat diantaranya yaitu ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13 memiliki aktivitas yang tinggi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923, berdasarkan karakterisasi secara morfologi dan biokimia keempat isolat tersebut diduga merupakan genus *Streptomyces*.

Ahli mikrobiologi dalam menentukan identitas *Actinomycetes* menggabungkan berbagai komponen seperti karakter morfologi, biokimia dan genomik dalam kajian polifasik. Karakter ornamentasi permukaan spora *Actinomycetes* menjadi kunci identifikasi yang membedakan antar spesiesnya. Identifikasi *Actinomycetes* menggunakan DNA-barcode dan menambahkan karakter ornamentasi permukaan sporanya dapat menentukan jenis *Actinomycetes* secara akurat. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri, visualisasi struktur morfologi menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM) dan analisis secara molekuler menggunakan DNA-barcode gen 16S rRNA sehingga identitas keempat isolat *Streptomyces* spp. dapat diketahui secara pasti.

Keempat isolat *Streptomyces* spp. memiliki kemampuan yang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (*E. coli*) sedangkan terhadap bakteri gram positif (*S. aureus*) isolat ACT 8 memiliki kemampuan kuat, isolat ACT 10, ACT 11 dan ACT 13 memiliki kemampuan sedang. Keempat isolat memiliki struktur hifa yang sama dengan banyak cabang membentuk miselium yang kompleks seperti serabut akar dan ditemukan tangkai spora (*sporophore*) serta memiliki banyak spora dengan bentuk yang serupa yaitu *spiral chain*. Bentuk spora rantai (*chain*) merupakan ciri khas yang dijumpai pada genus *Streptomyces*. Berdasarkan hasil homology search BLAST isolat ACT 8 memiliki persen identity tertinggi terhadap *S. samsunensis* strain M1463 dengan nilai 99,72% sedangkan isolat ACT 10, ACT 11 dan ACT 13 memiliki persen identity tertinggi terhadap *S. malaysiensis* strain NBRC 16446 dengan nilai 99,45% hingga 99,79%. Analisis jarak genetik dan rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa keempat isolat memiliki kekerabatan yang dekat dengan *Streptomyces samsunensis* sp. nov. dan *Streptomyces malaysiensis* sp. nov. dengan jarak genetik yang berkisar antara 0,001 hingga 0,006 serta termasuk dalam clade *Streptomyces violaceusniger*.

**Kata Kunci :** *Actinomycetes*, Antibakteri, SEM, DNA-barcode, Filogenetik, *Streptomyces*

**Kepustakaan :** 98 (1971-2021)

## DAFTAR ISI

<b>COVER .....</b>	
<b>LEMBAR PERSETUJUAN.....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SEMINAR HASIL.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vi</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>viii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1. <i>Actinomycetes</i> .....	7
2.1.1. Morfologi dan Sifat Biokimia Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	9
2.2. Antibakteri dan Mekanisme Kerja.....	11
2.2.1. Menghambat Pembentukan Dinding Sel.....	11
2.2.2. Mengganggu atau Merusak Fungsi Membran Sel.....	12
2.2.3. Menghambat Sintesis Asam Nukleat.....	12
2.2.4. Menghambat Sintesis Protein.....	13
2.2.5. Menghambat Jalur Metabolisme.....	14
2.3. Potensi <i>Actinomycetes</i> sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba .....	14
2.4. Metode Uji Aktivitas Antibakteri .....	15
2.4.1. <i>Cross Streak Methods</i> .....	15
2.4.2. Difusi Cakram.....	16
2.4.3. Difusi Sumuran.....	16
2.4.4. Difusi Agar Plug.....	16
2.4.5. Metode Dilusi.....	17
2.5. <i>Scanning Electron Microscope (SEM)</i> .....	17
2.6. DNA- <i>barcoding</i> .....	19
2.7. Sekuensing dan Analisis Filogenetik .....	21
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>26</b>
3.1. Waktu dan Tempat .....	26
3.2. Alat dan Bahan .....	26
3.3. Metoda Penelitian.....	27
3.3.1. Pembuatan Medium serta Sterilisasi Alat dan Bahan.....	27
3.3.2. Peremajaan Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	27

3.3.3. Peremajaan Stok <i>Escherechia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	27
3.3.4. Uji Antibakteri Isolat <i>Streptomyces</i> spp. dengan Metode Difusi Agar..	27
3.3.5. Pengamatan Morfologi <i>Streptomyces</i> spp. menggunakan SEM.....	28
3.3.6. Analisis Gen 16S rRNA.....	29
3.4. Analisis Data .....	33
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>34</b>
4.1. Kemampuan Antibakteri Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	34
4.2. Sifat Gram dan Morfologi Sel Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	37
4.3. Isolasi dan Amplifikasi DNA Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	41
4.4. Identifikasi dan Analisis Filogenetik Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	43
4.4.1. Jumlah Total Pasangan Basa Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	44
4.4.2. <i>Homology Search BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)</i> .....	45
4.4.3. Analisis Jarak Genetik dan Pohon Filogenetik.....	47
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>53</b>
5.1. Kesimpulan.....	53
5.2. Saran.....	53
<b>Daftar Pustaka.....</b>	<b>54</b>
<b>Lampiran.....</b>	<b>63</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b> Karakteristik Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	10
<b>Tabel 2.2</b> Jenis Mikroorganisme dan Gen Penanda.....	20
<b>Tabel 2.3</b> Metode Sekuensing DNA .....	22
<b>Tabel 3.1</b> Primer 27F dan 1492R.....	31
<b>Tabel 4.1</b> Perbandingan hasil skrining kemampuan antibakteri isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	34
<b>Tabel 4.2</b> Diameter Zona Hambat Kemampuan Antibakteri Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	35
<b>Tabel 4.3</b> Pewarnaan Gram dan Visualisasi SEM <i>Streptomyces</i> spp.....	38
<b>Tabel 4.4</b> Kemurnian dan Konsentrasi DNA <i>Streptomyces</i> spp.....	41
<b>Tabel 4.5</b> Jumlah Total Pasangan Basa dan Ambiguitas Sekuens <i>Streptomyces</i> spp.....	44
<b>Tabel 4.6</b> Hasil BLAST Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	46
<b>Tabel 4.7</b> Jarak Genetik Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	49

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Pembentukan Spora pada <i>Actinomycetes</i> .....	8
<b>Gambar 2.2</b> Susunan <i>Sporophore</i> dan Sporofil pada <i>Streptomyces</i> .....	9
<b>Gambar 2.3</b> Target Agen Antibakteri.....	11
<b>Gambar 2.4</b> Cara Kerja Antimikroba Golongan Aminoglikosida.....	13
<b>Gambar 2.5</b> Peta Gen 16S rRNA dan Daerah Pengenalan Primer.....	21
<b>Gambar 2.6</b> Mekanisme Metode Sanger.....	23
<b>Gambar 2.7</b> Proses <i>Assembling</i> Sekuens DNA.....	24
<b>Gambar 4.1</b> Uji Konfirmasi Kemampuan Antibakteri Isolat <i>Streptomyces</i> spp....	37
<b>Gambar 4.2</b> Elektroforegram Hasil Amplifikasi DNA Isolat <i>Streptomyces</i> spp... <b>Gambar 4.3</b> Pohon Filogenetik Isolat <i>Streptomyces</i> spp.....	42 48

## **DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran 1.</b> Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis <i>Streptomyces</i> spp.....	63
<b>Lampiran 2.</b> Komposisi Medium.....	66
<b>Lampiran 3.</b> Kultur Cair Isolat <i>Streptomyces</i> spp. pada Medium SNB.....	67
<b>Lampiran 4.</b> Kegiatan Penelitian.....	68

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

*Actinomycetes* menjadi salah satu mikroorganisme yang memiliki nilai komersial karena kemampuannya dalam menghasilkan antibiotik. *Actinomycetes* termasuk kedalam kelompok bakteri gram positif yang tumbuh lambat. Pembeda *Actinomycetes* dengan bakteri gram positif lainnya yaitu adanya perkembangan miselium aerial dan miselium substrat. *Actinomycetes* menjadi terkenal beberapa tahun terakhir karena kemampuannya yang tinggi dalam menghasilkan antibiotik selain itu *Actinomycetes* tersebar luas pada berbagai ekosistem memiliki peran yang penting dalam siklus biogeokimia terutama siklus daur ulang senyawa organik (Javed *et al.* 2020).

Delapan puluh persen antibiotik yang beredar dipasaran saat ini diproduksi oleh *Streptomyces*. *Streptomyces* menjadi genus yang sangat penting bagi industri karena jumlahnya yang melimpah, produksi metabolit sekunder sangat tinggi, peranannya dalam mendaur ulang bahan organik serta kemampuannya dalam mendegradasi kitin dan lignoselulosa. Genus *Micromonospora*, *Saccharopolyspora*, *Amycolatopsis* dan *Aktinoplane* juga diketahui sebagai penghasil senyawa bioaktif dan biomolekul komersial (Khanna *et al.* 2011).

Isolasi *Actinomycetes* dari sampel tanah yang belum pernah dieksplorasi sebelumnya dapat memberikan informasi terbaru mengenai aktivitas metabolit sekunder *Actinomycetes* yang potensial. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Alimatussya'adah (2021), mengenai eksplorasi *Actinomycetes* dari tanah

rawa didapatkan 19 isolat *Actinomycetes* dan 4 isolat diantaranya yaitu ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13 memiliki aktivitas yang tinggi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

Karakterisasi morfologi yang dilakukan oleh Alimatussy'adah (2021), menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni isolat ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13 pada medium *yeast extract-malt extract agar*, *oatmeal agar* dan *inorganic salts- starch agar* secara makroskopis memiliki ciri yang sama, baik bentuk koloni, tepian, elevasi, warna dari miselium aerial dan substrat serta bersifat aerob. ACT 8 dan ACT 11 memiliki elevasi *flat* sedangkan ACT 10 dan ACT 13 memiliki elevasi *raised*.

Uji biokima keempat isolat menunjukkan hasil keempat isolat tersebut mampu menghidrolisis pati dan kasein, kemudian cepat dalam menghidrolisis gelatin serta uji katalase memberikan hasil positif. Isolat ACT 8 dan ACT 11 mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon serta mampu menghidrolisis urea dengan menghasilkan enzim urease. Pewarnaan gram menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut bersifat gram positif dengan sel dan hifa berwarna ungu. Secara mikroskopis, hifa yang didapatkan pada keempat isolat *Actinomycetes* memiliki tipe yang berpilin membentuk gulungan menyerupai spiral dan memiliki spora yang banyak (Alimatussy'adah, 2021).

Hasil yang didapatkan berdasarkan karakterisasi morfologi dan biokimia dibandingkan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* Edisi 9 oleh Holt *et al.* (1994) dan berbagai referensi lainnya menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut memiliki kemiripan yang tinggi dengan *Streptomyces*.

Identifikasi berdasarkan karakter morfologi dan biokimia dapat memprediksi genus mikroorganisme secara sederhana namun akurasinya cukup rendah serta jenisnya belum dapat diketahui.

Ahli mikrobiologi dalam menentukan identitas *Actinomycetes* menggabungkan berbagai komponen seperti karakter morfologi, biokimia dan genomik dalam kajian polifasik sehingga karakter pembeda antar spesies dapat diuraikan dengan baik. Berdasarkan kajian polifasik karakter ornamentasi permukaan spora *Actinomycetes* menjadi kunci identifikasi yang membedakan antar spesiesnya. Identifikasi *Actinomycetes* menggunakan DNA-*barcoding* dan menambahkan karakter visualisasi ornamentasi permukaan sporanya dapat menentukan jenis *Actinomycetes* secara akurat (Goodfellow *et al.* 2007; Sazak *et al.* 2011).

Struktur vegetatif dan reproduktif *Actinomycetes* merupakan salah satu kunci determinasi yang digunakan untuk membedakan jenis yang satu dengan lainnya. Pengamatan morfologi menggunakan mikroskop cahaya biasa tidak bisa memvisualisasikan struktur morfologi *Actinomycetes* secara 3 dimensi. Berdasarkan penjelasan Kumar *et al.* (2011), pemeriksaan mikroskop elektron (*Scanning Electron Microscope*) sangat membantu karakterisasi *Actinomycetes* karena dapat memvisualisasikan hifa vegetatif, hifa reproduktif, susunan sel serta bentuk dan susunan spora secara jelas.

*Scanning Electron Microscope* (SEM) mampu memvisualisasikan permukaan objek dengan memindai permukaan menggunakan sinar elektron yang terfokus dengan perbesaran hingga skala tertentu. Elektron mampu berinteraksi

dengan atom dalam sampel, menghasilkan berbagai sinyal yang berisi informasi tentang topografi permukaan dan komposisi sampel. SEM menghasilkan gambar hitam putih 3 dimensi. Perbesaran gambar yang dihasilkan SEM dapat mencapai 10 nm, interaksi elektron dengan permukaan objek yang intens memberikan kedalaman pandang yang lebih besar dan resolusi yang lebih tinggi menghasilkan visualisasi permukaan objek secara rinci (Choudhary and Priyanka, 2017).

Pendekatan genomik dengan menggunakan informasi DNA dapat memperkuat hasil identifikasi secara morfologi dan biokimia. Teknologi DNA-*barcoding* merupakan metode yang paling umum digunakan untuk mengidentifikasi spesies organisme. DNA-*barcoding* ialah metode analisis dan identifikasi untaian DNA pendek yang secara akurat dapat menentukan jenis suatu organisme berdasarkan urutan basa nukleotida. Teknik ini memiliki banyak keunggulan seperti tidak membutuhkan sampel dalam jumlah besar, bekerja secara spesifik karena membaca DNA dalam untaian pendek sehingga memperkecil kemungkinan terjadinya kesalahan dalam identifikasi (Lebonah *et al.* 2014).

Berdasarkan uraian yang telah dijabarkan maka pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri isolat *Streptomyces* sp. ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13 terhadap *Escherichia coli* ATCC25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923 untuk memastikan kembali potensi dari keempat isolat tersebut, selain itu juga dilakukan visualisasi struktur morfolohnya menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan analisis secara molekuler

menggunakan DNA-*barcoding* 16S rRNA sehingga dapat diketahui jenis dan kekerabatannya.

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimanakah morfologi isolat *Streptomyces* sp. ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13, berdasarkan visualisasi SEM?
2. Berdasarkan analisis sekvensing gen 16S rRNA, termasuk jenis apakah isolat *Streptomyces* sp. ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13?
3. Bagaimanakah kekerabatan isolat *Streptomyces* sp. ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Menganalisis struktur morfologi hasil visualisasi SEM isolat *Streptomyces* sp. ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13.
2. Mengidentifikasi jenis isolat *Streptomyces* sp. ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13.
3. Merekonstruksi pohon filogenetik isolat *Streptomyces* sp. ACT 8, ACT 10, ACT 11 dan ACT 13.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai salah satu sumber informasi ilmiah tentang jenis dan kekerabatan serta struktur morfologi *Actinomycetes* dari tanah rawa yang memiliki potensi sebagai produsen penghasil senyawa antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aeny, T. N., Joko, P. and Radix, S. *et al.* (2018). Short Communication: Isolation and identification of actinomycetes potential as the antagonist of *Dickeya zaeae* pineapple soft rot in Lampung, Indonesia. *Biodiversitas*. 19(6): 2052-2058.
- Aftab, U., David, L. Z. and Imran, S. (2015). Antitumor compounds from *Streptomyces* sp. KML-2, isolated from Khewra salt mines, Pakistan. *Biological Research*. DOI 10.1186/s40659-015-0046-3.
- Al-Ansari, M., Noorah, A., Vijayaragavan, P. and Murugan K. (2019). Antimicrobial potential of *Streptomyces* sp. to the Gram positive and Gram negative pathogens. *Journal of Infection and Public Health*. 12(2019): 861-866.
- Al-Dhabi, N. A., Galal, A. E., Abdul-Kareem, M. G. *et al.* (2020). Chemical constituents of *Streptomyces* sp. strain Al-Dhabi-97 isolated from the marine region of Saudi Arabia with antibacterial and anticancer properties. *Journal of Infection and Public Health*. 13(2020): 235-243.
- Alimatussya'adah. (2021). *Potensi Actinomycetes dari Tanah Rawa sebagai Penghasil Antibakteri*. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya. Tidak Dipublikasikan.
- Al-Saadi, A., Noora, M. H. and Eman, M. J. (2013). Isolation and Identification of *Streptomyces* from Different Sample of Soils. *Journal of Biology and Medical Sciences-JBMS*. 2013(1): 31-36.
- Al-Tai, A., Bongcheol, K. and Seung, B. K. *et al.* (1999). *Streptomyces malaysiensis* sp. nov., a new streptomycete species with rugose, ornamented spores. *International Journal of Systematic Bacteriology* (1999)49: 1395-1402.
- Apriyanto, V. dan Sembiring, L. (2016). *Filogenetika Molekular Teori dan Aplikasi*. Yogyakarta: Innosain.
- Ashraf, N., Andreas, B. dan Munir, A. A. *et al.* (2021). Production of a broad spectrum streptothrinic like antibiotic from halotolerant *Streptomyces fimbriatus* isolate G1 associated with marine sediments. *Folia Microbiologica*. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00870-4>.
- Asnani, A., Ryandini, D dan Suwandri. 2015. Karakterisasi dan Identifikasi Spesies Aktinomisetes K-3e. *Prosiding Seminar Nasional dan Call For Papers*, Purwokerto.

- Ayobami, A. L., Kade, E. A., Oladimeji, K. A. and Kehinde, S. (2020). Sanger Sequencing as the Holy Grail of sequencing technology. *Peprints*. doi:10.20944/preprints202011.0163.v1.
- Balouiri, M., Moulay, S. and Saad, K. I. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 1-9.
- Benhadj, M., Metrouh. and Roumisa. et al. (2020). Broad-spectrum antimicrobial activity of wetland-derived streptomyces sp. actif450. *EXCLI Journal*. 19: 360-371.
- Benson, D.A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Ostell, J., Pruitt, K.D. and Sayers, E.W. (2018). GenBank. *Nucleic Acids Research*. 46 (D1): D41-D47.
- Campbell, N. A., Jane, B. R., Lisa, A. U., Michael, L. C., Steven, A. W., Peter, V. M. dan Robert, B. J. (2008). *Biologi Edisi Kedelapan*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Cao, C., Raghuram, D., Dang, D. B., Zohreh, G., Jonas, H., and Ander. (2009). Detection of avian influenza virus by fluorescent DNA barcode-based immunoassay with sensitivity comparable to PCR. *Analyst paper*. 135: 337-342.
- Chang, J. M., Evan, W. F. and Javier, H. et al. (2021). Incorporating alignment uncertainty into Felsenstein's phylogenetic bootstrap to improve its reliability. *Bioinformatics*. 37(11): 1506-1514. doi: 10.1093/bioinformatics/btz082.
- Chaudhary, D. K. and Ram, H. D. (2017). DNA Bar-Code for Identification of Microbial Communities: A Mini-Review. *E-Cronicon Microbiology*. 7(6): 219-224.
- Choudhary, O. P. and Priyanka. (2017). Scanning Electron Microscope: Advantages and Disadvantages in Imaging Components. *International Journal of Microbiology and Applied Sciences*. 6(5): 1877-1882.
- Clarridge, J. E. (2004). Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. DOI: 10.1128/CMR.17.4.840–862.2004.
- Claverie, J. M. and Notradame, C. (2007). *Bioinformatics for Dummies 2nd Edition*. Indiana: Wiley Publishing Inc Indianapolis.
- Davis, W.W. dan T. R. Stout. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 22: 659-665.
- Desjardins, P. and Deborah, C. (2010). NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *Journal of Visualized Experiments*. DOI: 10.3791/2565.

- Dhanasekaran, D. and Yi, J. (2016). *Actinobacteria: Basics and Biotechnological Applications*. London: ExLi4EvA.
- Everett, K. D., Bush, R.M., and Andersen, A. A. (1999). Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 49: 415-440.
- Falagas, M. E., Petros, I. R. and Dimitrios, K. M. (2010). Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Update*. (13): 132-138.
- Fathiya, N., Essy, H., Zairin, T. and Iqbar. (2018). Molecular Identification of *Shorea johorensis* in Ketambe Research Station, Gunung Leuser National Park. *Jurnal Natural*. 18(2): 56-64.
- Fitriya, R. T., Muslimin, I. and Lisa, L. (2015). Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysentriae*. *LenteraBio*. 4(1): 87-92.
- Frank, J. A., Claudia, I. R. and Shobha, S. et al. (2008). Critical Evaluation of Two Primers Commonly Used for Amplification of Bacterial 16S rRNA Genes. *Applied and Environmental Microbiology*. doi:10.1128/AEM.02272-07.
- Fraser, C., Alm, E. J., Polz, M. F., Spratt, B. G. and Hanage, W. P. (2009). The bacterial species challenge: making sense of genetic and ecological diversity. *Science*. 323:741-742.
- Gee, J. E., Caludio, T. S. and Mindy, B. G. et al. (2003). Use of 16S rRNA Gene Sequencing for Rapid Identification and Differentiation of *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*. *Journal of Clinical Microbiology*. DOI: 10.1128/JCM.41.10.4647–4654.2003.
- Genilloud, O. (2017). Actinomycetes: still a source of novel antibiotics. *Journal Natural Product Reports*. 34, 1203–1232.
- Goodfellow, M., Yashawant, K., David, P. L. and Langkah, S. (2007). The *Streptomyces violaceusniger* clade: a home for streptomycetes with rugose ornamented spores. *Antonie van Leeuwenhoek Springer*. 92:173-199. DOI 10.1007/s10482-007-9146-6.
- Govindarajan, G., Priya, M., Babu, A. S. R. et al. (2021). Susceptibility pattern of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) by flow cytometry analysis and characterization of novel lead drug molecule from *Streptomyces* species. *Journal of Infection and Public Health*. 14(2021): 1831-1841.

- Hadi, S. I. I. A., Hugo, S., Patricia, P. M. B., Taisa, G. G., Marcia, D. O., Alexandre, M., Marcos, E. C. O., Flavia, C. P. S. and Bruno, S. A. F. B. (2016). DNA Barcoding Green Microalgae Isolated from Neotropical Inland Waters. DOI:10.1371/journal.pone.0149284.
- Handoyo, D. dan Ari, R. (2001). Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*. 9(1): 17-29.
- Harahap, I., Vivin, P. R. dan Nofripa, H. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri dari Isolat Cendawan Endofit Asal Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Photon*. 8(2): 7-12.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. and DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*. 270(1512): 313-321.
- Hesketh, A. and Chater K. F. (2003). Evidence from proteomics that some of the enzymes of actinorhodin biosynthesis have more than one form and may occupy distinctive cellular locations. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 30: 523-529.
- Hesketh, A. R., Chandra, G., Shaw, A. D. et al. (2002). Primary and secondary metabolism, and post-translational protein modifications, as portrayed by proteomic analysis of *Streptomyces coelicolor*. *Journal of Molecular Microbiology*. 46: 917-932.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, dan S.T. Williams. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* Edisi 9. Baltimore, USA: Lippincott Williams & Wilkins. xviii + 754 hlm.
- Hong, W., Jie, Z. and Jianping, X. (2014). Antibiotic drugs targeting bacterial RNAs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 4(4): 258-265.
- Hou, Q., Xiaoye, B. and Weicheng, L. et al. (2018). Design of Primers for Evaluation of Lactic Acid Bacteria Populations in Complex Biological Samples. *Frontiers in Microbiology*. doi: 10.3389/fmicb.2018.02045.
- Hozzein, W. N., Walid, A., Mohammed, A. M. W., Ahmed, M. S., Samy, S., Soad, A. J. and Hamada, A. (2019). Exploring the potential of actinomycetes in improving soil fertility and grain quality of economically important cereals. *Science of the Total Environment Journal*. 651: 2787-2798. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.048.
- Janda, J. M. and Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal Clinical Microbiology*. 45:2761-2764.

- Javed, Z., Tripathi, G.D., Mishra, M. and Dashora, K. (2020). Actinomycetes the Microbial Machinery for the Organic-Cycling, Plant Growth, and Sustainable Soil Health. *Biocatalysis and Agriculture Biotechnology*. (31): 101893.
- Jorgensen, J. H. and Mary, J. F. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Medical Microbiology*. DOI: 10.1086/647952.
- Karnati, S. K. R., Yu, Z., Sylvester, J. T., Dehority, B. A., Morrison, M. and Firkins, J. L. (2003). Technical note: Specific PCR amplification of protozoal 18S rDNA sequences from DNA extracted from ruminal samples of cows. *Journal Animal Science*. 81: 812-815.
- Keele, J., Jamie, C., Sherri, F. P. and Denise, H. (2014). Identification of Unknown Organisms by DNA Barcoding: A Molecular Method for Species Classification. *Research and Development Office Invasive Mussels*. 2014-01 (0045): 1-26.
- Khanna, M., Solanki, R. and Lal, R. (2011). Selective Isolation of Rare Actinomycetes Producing Novel Antimicrobial Compounds. *International Journal Advances Biotechnology Research*. (2): 357-375.
- Krismawati, H., Langkah, S. dan Subagus, W. (2015). *Streptomyces* Penghasil Antibiotik yang Berasosiasi dengan rhizosfer beberapa Spesies Mangrove. *Jurnal PLASMA*. 1(2): 59-70.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. (2021). MEGAXI: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Molecular biology and evolution*. 35(6): 1547.
- Kumar, V., Alpana, B., Omprakash, G. and Gajraj, S. B. (2011). Scanning Electron Microscopy of Streptomyces Without Use of Any Chemical Fixatives. *Scanning Journal*. (33): 446-449.
- Kumar, V., Bharti, A., Gusain, O. and Bisht, G. S. (2010). An Improved Method for Isolation of Genomic DNA from Filamentous Actinomycetes. *Journal of Science Engineering and Technology Management*. 2(2): 10-13.
- Kusumaningsih, P. dan Gede, I. M. (2020). Analisis filogenetik bakteri *Serratia* sp. dan *Kurthia* sp. pada pindang tongkol (*Euthynnus affinis*). *Seminar Nasional Bioteknologi Universitas Dhyana Pura*. 64-69.
- Lebonah, D. E., Dileep, A., Chandrasekhar, K., Sreevani, S., Sreedevi, B and Pramoda, J. K. (2014). DNA Barcoding on Bacteria: A Review. *Advances in Biology Hindawi*. ID 541787. DOI: 10.1155/2014/541787.

- Lertcanawanichakul, M. and Songtham, S. 2008. A Comparison of Two Methods Used for Measuring the Antagonistic Activity of *Bacillus* Species. *Walailak Journal Science and Technology*. 5(2): 161-171.
- Links, M. G., Tim, J. D., Sean, M. H. and Janet, E. H. (2012). The Chaperonin-60 Universal Target Is a Barcode for Bacteria That Enables De Novo Assembly of Metagenomic Sequence Data. *Plos One*. 7(11): e49755.
- Ludwig, W. and Klenk, H. P. (2001). Overview: A phylogenetic backbone and taxonomic framework for prokaryotic systematic, in Boone, Castenholz and Garrity (Editors), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2<sup>nd</sup> Edition, Volume 1, The archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria, Springer, Ney York, 49-65.
- Madigan, M. T., John, M. M., Kelly, S. B., Daniel, H. B. and David, A. S. (2015). *Brock Biology of Microorganisms 14<sup>th</sup> Edition*. United State: Pearson Education, Inc.
- Meyer, M. T., Todor, G., Jeremy, N. S., Juliette, J., Madeline, C. M., Robert, J. S. and Howard, G. (2012). Rubisco small-subunit  $\alpha$ -helices control pyrenoid formation in Chlamydomonas. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 109(47): 19474-19479. doi/10.1073/pnas.1210993109.
- Mulyani, Y., Purwanto, A. dan Nurruhwati, I. (2011). Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Jatinangor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran. *Jurnal Akuatika*, 8(11): 1-16.
- Munoz-Bonilla, A., Maria, L. C. and Marta, F-G. (2014). *Polymeric Materials with Antimicrobial Activity From Synthesis to Applications*. Cambridge UK: RSC Publishing.
- Nara, M. E. (2021). Eksplorasi Actinomycetes dari Tanah Rawa sebagai Agen Biokontrol Fungi *Colletotrichum Capsici* IPBCC 13.1098. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya. Tidak Dipublikasikan.
- Nassonova, E. Alexey, S., Jose, F. and Jan, P. (2010). Barcoding Amoebae: Comparison of SSU, ITS and COI Genes as Tools for Molecular Identification of Naked Lobose Amoebae. *Protist*. 161: 102-115.
- Osawa, S., Su, Z. H., and Imura, Y. (2004). Molecular phylogeny and evolution of carabid ground beetles. *Springer Science & Business Media*.
- Panthee, D. R., Allan, F. B., Gad, G. Y., Ragy, I. and Candice, A. (2013). Novel molecular marker associated with Tm2<sup>a</sup> gene conferring resistance to tomato mosaic virus in tomato. *Plant Breeding*. 132: 413-416. doi:10.1111/pbr.12076

- Park, J. T. and Tsuyoshi, U. (2008). How Bacteria Consume Their Own Exoskeletons (Turnover and Recycling of Cell Wall Peptidoglycan). *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 72(2): 211-227.
- Passari, A. K., Vineet, K. M., Ratul, S., Vijai, K. G. and Bhim, P. S. (2015). Isolation, Abundance and Phylogenetic Affiliation of Endophytic ACtinomycetes Associated with Medical Plants and Screening for their In Vitro Antimicrobial Biosynthetic Potential. *Frontiers in Microbiology*. doi: 10.3389/fmicb.2015.00273.
- Pharmawati, M. (2009). Optimalisasi Ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *Grevillea* spp. (Proteaceae). *Jurnal Biologi OJS UNUD*. 13(1): 12-16.
- Prakash, D. and Nawani, N. N. (2014). A rapid and improved technique for scanning electron microscopy of actinomycetes. *Journal of Microbiological Methods*. 99(2014): 54-57.
- Procopio, R. E. de Lima., Ingrid, R. da Silva, Mayra, K. M., Jaoa, L. de Azevedo. and Janete, M. de Araujo. (2012). Review Article Antibiotics produced by Streptomyces. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 6(5): 466–471. doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014.
- Ranasinghe, P. D., Satoh, H., Oshiki, M., Oshima, K., Suda, W., Hattori, M. and Mino, T. (2012). Revealing microbial community structures in large- and small-scale activated sludge systems by barcoded pyrosequencing of 16S rRNA gene. *Water Science Technology*. 66:2155-2161. DOI: 10.13057/biodiv/d180322.
- Retnowati, Y., Langkah, S., Sukarti, M., Tjut, S. D. and Endang, S. S. (2017). Diversity of antibiotic-producing Actinomycetes in mangrove forest of Torosiaje, Gorontalo, Indonesia. *Jurnal Biodiversitas*. 18(3): 1453-1461.
- Rong, X. and Ying, H. (2012). Taxonomic evaluation of the *Streptomyces hygroscopicus* clade using multilocus sequence analysis and DNA–DNA hybridization, validating the MLSA scheme for systematics of the whole genus. *Systematic and Applied Microbiology*. doi:10.1016/j.syapm.2011.10.004.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4: 406-425.
- Salwan, R. and Sharma, V. (2020). Molecular and Biotechnological Aspects of Secondary Metabolites in Actinobacteria. *Microbiology Research*. 231: 126374.
- Sazak, A., Nevzat, S. and Kiymet, G. et al. (2011). *Streptomyces samsunensis* sp. nov., a member of the *Streptomyces violaceusniger* clade isolated from the

- rhizosphere of *Robinia pseudoacacia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. DOI 10.1099/ijss.0.021329-0.
- Schmieder, R. and Robert, E. (2011). Fast Identification and Removal of Sequence Contamination from Genomic and Metagenomic Datasets. *Plos ONE*. doi:10.1371/journal.pone.0017288.
- Sembiring, L., Ward, A. C. and Goodfellow, M. (2000). Selective Isolation and Characterisation of Members of the *Streptomyces violaceusniger* Clade Associated with the Roots of *Paraserianthes falcataria*. *Antonie van Leeuwenhoek*. 78: 353-366.
- Shahi, S. K., Samantha, N. F. and Ashutosh, K. M. (2017). Gut microbiome in multiple sclerosis: The players involved and the roles they play. *Gut Microbes Journal*. 0(0): 1-9.
- Shekhovtsov, S. V., Shekhovtsova, I. N. and Peltek, S. E. (2019). DNA Barcoding: Methods and Approaches. *Biology Bulletin Review*. 9(6): 475-483.
- Stackebrandt, E. and Goebel, B.M. (1994). Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 44: 846-849.
- Stockinger. H., Manuela, K. and Arthur, S. (2010). DNA barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 187: 461-467.
- Su, E., Zhaoju, X. and Yibo, L. et al. (2016). Analysis of the genomic sequences and metabolites of *Serratia surfactantfaciens* sp. nov. YD25T that simultaneously produces prodigiosin and serrawettin W2. *BMC Genomics*. DOI 10.1186/s12864-016-3171-7.
- Sulistyani, N. dan I. Narwanti. (2015). Aktivitas Cairan Kultur Bakteri Penghasil Antibiotik (Isolat P301) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Dan Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 13: 181-186.
- Supong, K., Chitti, T. and Wilunda, C. et al. (2016). Antimicrobial compounds from endophytic *Streptomyces* sp. BCC72023 isolated from rice (*Oryza sativa L.*). *Research in Microbiology*. DOI: 10.1016/j.resmic.2016.01.004.
- Sykes, G. and Frederick, A. S. (1973). *Actinomycetales Characteristic & Practical Importance*. London: Academic Press.
- Talaro, K. P. and Barry, C. (2018). *Foundations in Microbiology, Tenth Edition*. New York: McGraw-Hill Education.
- Tan, J., Phaik-Eem, L., Siew-Moi, P., Dang, D. H., Sunarpi, H. and Anicia, Q. H. (2012). Assessment of Four Molecular Markers as Potential DNA Barcodes

- for Red Algae *Kappaphycus Doty* and *Eucheuma J. Agardh* (Solieriaceae, Rhodophyta). *Plos One.* 7(12): e52905.
- Tringe, S. G. and Hugenholtz, P. (2008). A renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. *Current Opinion Microbiology.* 11(5): 442-6.
- Urry, L. A., Jane, B. R., Michael, L. C., Steven, A. W. and Peter, V. M. (2017). *Campbell Biology Eleventh Edition.* USA: Pearson Education, Inc.
- Wang, Y. and Qian P-Y. (2009). Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. *PLoS One.* 4(10):7401.
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Teng, J. L. L., Tse, H. and Yuen, K. Y. (2008). Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection.* 14(10): 908-934.
- Xie, Y., Lang, G. and Jie, H. *et al.* (2021). Cyclopentenone-Containing Tetrahydroquinoline and Geldanamycin Alkaloids from *Streptomyces malaysiensis* as Potential Anti-Androgens against Prostate Cancer Cells. *Journal of Natural Products.* 84: 2004-2011.
- Xu, J. (2016). Fungal DNA barcoding. *Genome.* 59: 913-932  
[doi.org/10.1139/gen-2016-0046](https://doi.org/10.1139/gen-2016-0046).
- Xu, J., Xuxiea, Z., Fanglu, H., Gang, L. and Peter, F. L. (2021). Efophylins A and B, Two C2-Asymmetric Macrodiolide Immunosuppressants from *Streptomyces malaysiensis*. *Journal of Natural Products.* 84: 1579-1586.
- Zou, S., Cong, F., Chun, W., Zhan, G., Yachao, B., Meilen, H. and Changhai, W. (2016). How DNA barcoding can be more effective in microalgae identification: a case of cryptic diversity revelation in *Scenedesmus* (Chlorophyceae). *Scientific Reports.* DOI: 10.1038/srep36822.