

**Uji Kemampuan Bakteri Laut Dalam *Bacillus* sp. sebagai
Antibakteri**

Skripsi



Florensia Claudya Thalia Ririhatuela

31170118

Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2022

Uji Kemampuan Bakteri Laut Dalam *Bacillus* sp. sebagai Antibakteri

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Florensia Claudya Thalia Ririhatuela

31170118

Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta wacana

Yogyakarta

2022

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Florensia Claudya Thalia Ririhatuela
NIM : 31170118
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Uji Kemampuan Bakteri Laut Dalam *Bacillus* sp. sebagai Antibakteri”

Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 08 Juli 2022
Yang menyatakan



(Florensia Claudya Thalia Ririhatuela)
NIM.31170118

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul :

UJI KEMAMPUAN BAKTERI LAUT DALAM *BACILLUS* SP. SEBAGAI ANTIBAKTERI

Telah diajukan dan dipertahankan oleh :

FLORENSIA CLAUDYA THALIA RIRIHATUELA

31170118

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi




Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 10 Februari 2022

Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc. : 
(Dosen Pembimbing I / Tim Penguji)
2. Dr. Charlie Ester de Frestes, M. Sc : 
(Dosen Pembimbing II / Tim Penguji)
3. Prof. Dr. Kris Herawan Timotius. : 
(Ketua Tim Penguji)

Yogyakarta, 14 Februari 2022

Disahkan Oleh:

Dekan,

Ketua Program Studi Biologi,



Drs. Guruh Prihatmo, M.S.



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Uji Kemampuan Bakteri Laut Dalam *Bacillus* sp. sebagai
Antibakteri
Nama Mahasiswa : Florensia Claudya Thalia Ririhatuela
Nomor Induk Mahasiswa : 31170118
Hari/Tanggal Ujian : Senin, 4 Juli 2022

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Uji a Salsula
Pembinaan Sifat dan Perilaku
NIK: 31170118
0 Juli 2022

(Dr. Dhira Satwika, M.Sc.)

NIK: 904 E 146

Pembimbing Pendamping,



(Dr. Charlie Ester de Fretes, M.Sc.)

NIP: 198702102018012001

Ketua Program Studi Biologi,



Uji a Salsula
Pembinaan Sifat dan Perilaku
NIK: 31170118
0 Juli 2022

(Dr. Dhira Satwika, M.Sc.)

NIK : 904 E 146

LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Florensia Claudya Thalia Ririhatuela

NIM : 31170118

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

” Uji Kemampuan Bakteri Laut Dalam Bacillus sp. sebagai Antibakteri ”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 4 Juli 2022



(Florensia Claudya Thalia Ririhatuela)

NIM: 31170118

KATA PENGANTAR

Panjatkan Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Esa atas segala kasih karunia, dan kehendaknyaNya, hingga skripsi ini dapat diselesaikan, serta terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada orang tua yaitu Mama Ani dan Papa Wem, serta kedua saudara yaitu Kaka Elis dan Adik Putra yang dengan tulus memberikan semangat dan dorongan serta doa sehingga penulisan skripsi dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi dengan judul “Uji Kemampuan Bakteri Laut Dalam *Bacillus* sp. sebagai Antibakteri” tidak dapat berjalan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis, baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi atau tugas akhir ini. Maka Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc. selaku Ketua Program Studi dan Dosen Pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan
2. Dr. Charlie Ester de Fretes, M.Sc. selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberi fasilitas, membimbing dan mengarahkan dalam seluruh penelitian di lab dan dalam penulisan tugas akhir ini
3. Laan sebagai teman seperjuangan yang bersama-sama berproses dalam penelitian di lab maupun penyusunan tugas akhir
4. Fringsgil, Bebe, Rina, Kenly, Charly, Angel, kaka Acul, kaka Cacac, kaka David serta teman-teman yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang selalu membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini.

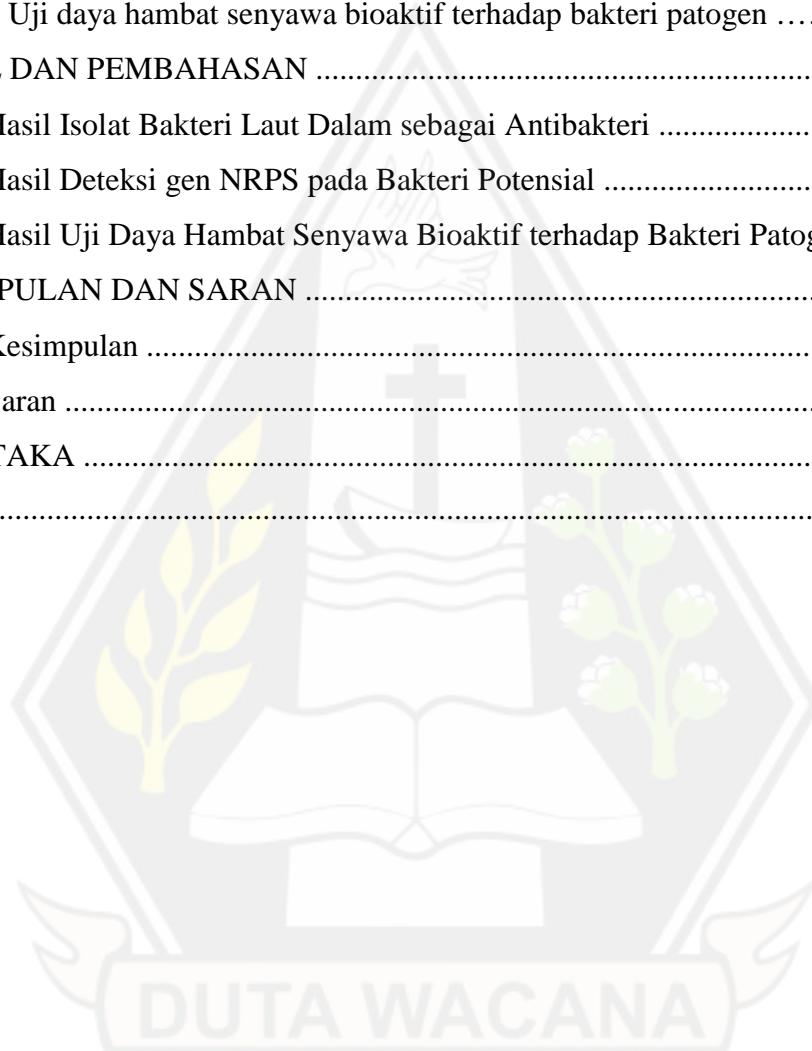
Yogyakarta, 4 Juli 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM	ii
HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
PERNYATAAN INTEGRITAS.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Bakteri Laut sebagai Antibakteri	3
2.2 Gen NRPS	3
2.3 PCR	4
2.3.1 Denaturasi	5
2.3.2 Penempelan/ <i>Annealing</i>	5
2.3.3 Ekstensi/Elongasi	5
BAB III METODE PENELITIAN	6
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	6
3.2 Alat	6
3.3 Bahan	6

3.4 Cara Kerja	6
3.4.1 Sampel penelitian	6
3.4.2 Pembuatan larutan standar <i>McFarland</i>	6
3.4.3 Skrining bakteri laut dalam sebagai antibakteri	7
3.4.4 Deteksi gen NRPS pada bakteri potensial	7
3.4.5 Ekstraksi senyawa bioaktif dari bakteri potensial	8
3.4.6 Uji daya hambat senyawa bioaktif terhadap bakteri patogen	9
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	10
4.1 Hasil Isolat Bakteri Laut Dalam sebagai Antibakteri	10
4.2 Hasil Deteksi gen NRPS pada Bakteri Potensial	11
4.3 Hasil Uji Daya Hambat Senyawa Bioaktif terhadap Bakteri Patogen ...	17
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	20
5.1 Kesimpulan	20
5.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	29



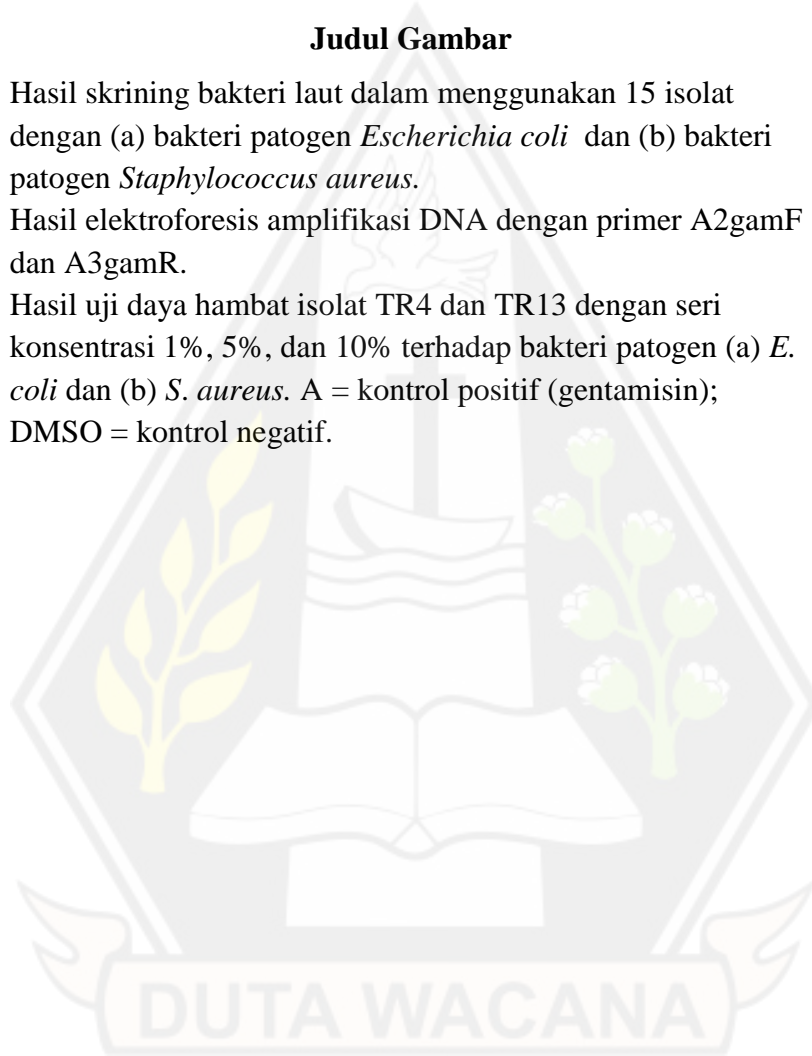
DAFTAR TABEL

Nomor Tabel	Judul Tabel	Halaman
Tabel 4.3.1	Hasil Filogenik	13
Tabel 4.3.2	Diameter zona hambat isolat TR4 terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. Aureus</i>	17
Tabel 4.3.3	Diameter zona hambat isolat TR13 terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. Aureus</i>	18



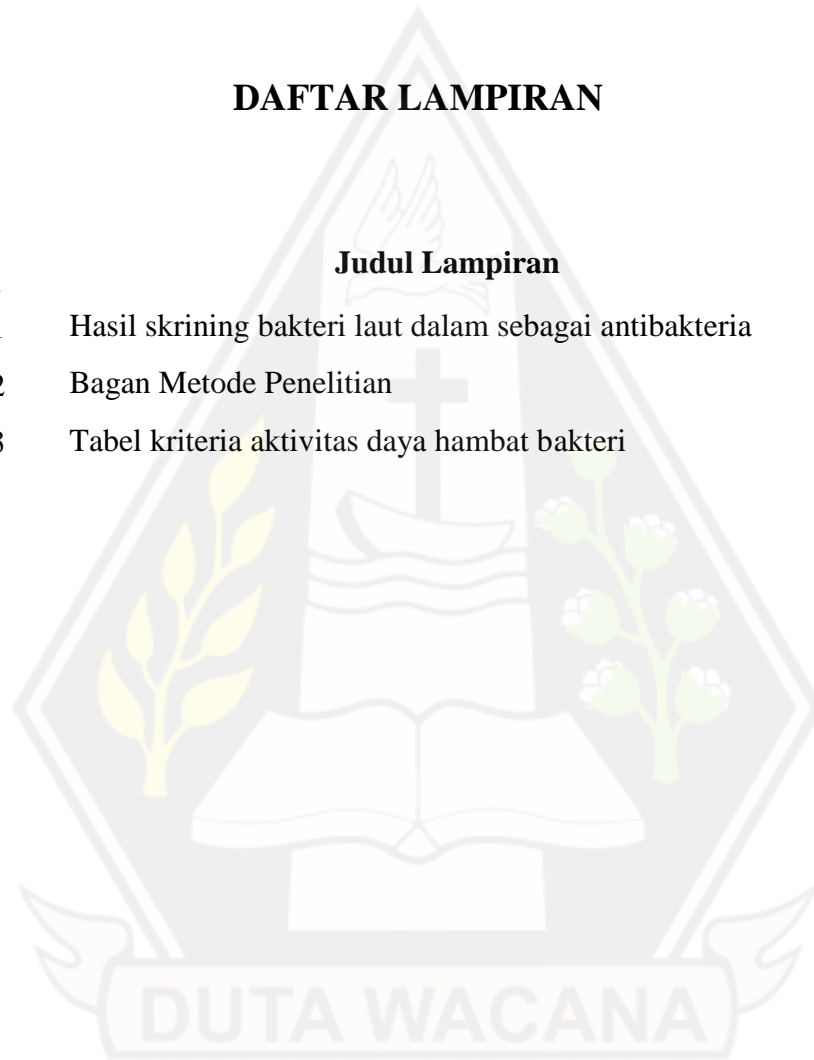
DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Judul Gambar	Halaman
Gambar 4.1	Hasil skrining bakteri laut dalam menggunakan 15 isolat dengan (a) bakteri patogen <i>Escherichia coli</i> dan (b) bakteri patogen <i>Staphylococcus aureus</i> .	11
Gambar 4.2	Hasil elektroforesis amplifikasi DNA dengan primer A2gamF dan A3gamR.	12
Gambar 4.3	Hasil uji daya hambat isolat TR4 dan TR13 dengan seri konsentrasi 1%, 5%, dan 10% terhadap bakteri patogen (a) <i>E. coli</i> dan (b) <i>S. aureus</i> . A = kontrol positif (gentamisin); DMSO = kontrol negatif.	17



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Lampiran	Judul Lampiran	Halaman
Lampiran 1	Hasil skrining bakteri laut dalam sebagai antibakteria	29
Lampiran 2	Bagan Metode Penelitian	30
Lampiran 3	Tabel kriteria aktivitas daya hambat bakteri	30



Uji Kemampuan Bakteri Laut Dalam *Bacillus* sp. sebagai Antibakteri

ABSTRAK

FLORENSIA CLAUDYA THALIA RIRIHATUELA

Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta

31170118@students.ukdw.ac.id

Penyebaran organisme di perairan Indonesia memiliki potensi yang dapat dimanfaatkan salah satunya yaitu bakteri laut yang memiliki potensi sebagai bahan agrokimia, obat, suplemen bernutrisi, dan *probe* kimia dari enzim. Senyawa bioaktif yang ada dalam bakteri laut akan menjadi sumber antibiotik alternatif yang menjanjikan. Penelitian bakteri di laut dalam Selat Makassar belum banyak diteliti oleh karena itu peneliti melakukan uji kemampuan bakteri laut dalam sebagai antibakteri dari sampel isolat yang diperoleh dari penelitian sebelumnya dari ekspedisi TRIUMPH tahun 2019. Prosedur yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pembuatan larutan standar *McFarland* untuk mengukur jumlah bakteri tersuspensi dalam larutan, skrining kemampuan antibakterial dari 15 isolat bakteri laut dengan menggunakan *metode colony picking*, deteksi gen NRPS pada bakteri potensial, ekstraksi senyawa bioaktif dari isolat bakteri potensial, dan uji daya hambat ekstrak bakteri terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa 5 isolat bakteri laut mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan 11 isolat dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Deteksi gen NRPS pada bakteri potensial menggunakan primer A2gamF dan A3gamR menunjukkan bahwa bahwa isolat *Bacillus stratosphericus* TR4 dan *Bacillus thuringiensis* TR13 memberi sinyal positif. Uji daya hambat ekstrak senyawa bioaktif dari bakteri potensial terhadap bakteri patogen menunjukkan bahwa ekstrak kedua isolat TR4 dan TR13 dengan konsentrasi 1%, 5%, dan 10% memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan aktivitas daya hambat sedang.

Kata kunci: bakteri laut, gen NRPS, senyawa bioaktif, uji daya hambat

DEEP SEA BACTERIA BACILLUS SP. TEST ABILITY AS ANTIBACTERIA

ABSTRACT

FLORENSIA CLAUDYA THALIA RIRIHATUELA

Biology Study Program, Faculty of Biotechnology, Duta Wacana Christian University,

Yogyakarta

31170118@students.ukdw.ac.id

The distribution of organisms in Indonesian seas has potential that can be exploited, one of which is marine bacteria which have potential as agrochemicals, drugs, nutritional supplements, and chemical probes from enzymes. The bioactive compounds present in marine bacteria will be a promising alternative source of antibiotics. Research on bacteria in the deep sea in the Makassar Strait has not been widely studied, therefore the researchers conducted a test of the ability of deep sea bacteria as antibacterial from isolate samples obtained from previous research from the TRIUMPH expedition 2019. The procedure used in this study included the preparation of McFarland standard solution to measure the amount of bacteria suspended in solution, screening for antibacterial ability of 15 isolates of marine bacteria using the colony picking method, detection of the NRPS gene in potential bacteria, extraction of bioactive compounds from potential bacterial isolates, and testing the inhibitory of bacterial extracts against the growth of pathogenic bacteria. The results obtained showed that 5 isolates of marine bacteria were able to inhibit the growth of *Escherichia coli* and 11 isolates could inhibit *Staphylococcus aureus*. Detection of the NRPS gene in potential bacteria using primers A2gamF and A3gamR showed that the isolates of *Bacillus stratosphericus* TR4 and *Bacillus thuringiensis* TR13 gave a positive signal. Inhibition test of extracts of bioactive compounds from potential bacteria against pathogenic bacteria showed that the extracts of both isolates TR4 and TR13 with concentrations of 1%, 5%, and 10% had the ability to inhibit the growth of *S. aureus* bacteria with moderate inhibitory activity.

Keywords: marine bacteria, NRPS gene, bioactive compounds, inhibitor test

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara kepulauan Indonesia memiliki luas lautan 5,8 juta km². Wilayah laut yang luas inilah yang menyebabkan Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati laut berupa sumber daya alam yang dapat diperbarui dan tidak. Lingkungan laut disebut sebagai ekosistem terluas karena menutupi setengah (sebesar 80%) di bawah permukaan laut. Beberapa spesies laut hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrim seperti dingin, cahaya rendah dan tekanan tinggi menyebabkan keanekaragaman spesies yang tinggi (Debbab dkk., 2010).

Keunikan ekosistem laut dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku obat dan kosmetika dengan struktur dan mekanisme molekuler yang unik yang dapat digunakan untuk pengembangan obat baru. Metabolit dari ekstrak spons, alga dan mikroba endofit laut dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes, antiobesitas dan antioksidan (Debbab dkk., 2010; Wang dkk., 2014). Air laut terasa asin karena mengandung garam dengan rata-rata 3,5%. Hal ini disebabkan karena garam mineral yang terkandung dalam batuan dan tanah (Prastuti, 2017). Selain itu, di dalam air laut terkandung 96,5% air murni dan 3,5% material lain seperti bahan organik, gas terlarut, partikel tak terlarut, dan garam. 10⁶ sel/ ml bakteri dalam lingkungan laut memiliki peran sebagai sumber enzim, makanan, dan menghasilkan metabolit sekunder.

Organisme yang tidak memiliki selubung inti (prokariotik) ini memiliki DNA yang panjang berbentuk sirkuler yang disebut dengan nukloid. Di dalam nukloid terdapat informasi genetic berupa DNA (Holderman dkk, 2017). Organisme ini dapat tumbuh dan berkembang di suhu 0° - 90°C atau lebih. Selain itu, organisme ini dapat berinteraksi dengan berbagai organisme laut. Senyawa unik yang dapat melindungi bakteri laut dari cahaya dan oksigen yang terbatas serta tekanan yang tinggi dalam bakteri laut berpotensi sebagai sumber antibiotik baru (Rey dkk., 2004; Debbab dkk., 2012). Penentuan antibiotik memerlukan banyak waktu dan upaya untuk mengeksplorasi sumber daya hayati baru di berbagai lingkungan, termasuk laut. Bakteri yang berperan sebagai antibiotik akan melakukan tugasnya dengan menghambat bakteri lain yang tidak menguntungkan.

Dalam bidang farmasi dan bioteknologi, bakteri laut memiliki potensi yang besar untuk dimanfaatkan. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Judianti dkk., (2014); Kasitowati dkk., (2019); dan Tapilatu, (2016) terkait eksplorasi potensi bakteri laut sebagai antibakteri di beberapa wilayah Indonesia yang mengatakan bahwa bakteri laut berpotensi sebagai sumber antibiotik baru. Penelitian bakteri laut dalam Selat Makassar belum banyak diteliti oleh karena itu peneliti melakukan uji kemampuan bakteri laut dalam yang potensial sebagai antibakteri dari sampel isolat yang diperoleh dari penelitian sebelumnya (Yanubi,2021) dari ekspedisi TRIUMPH tahun 2019.

1.2 RUMUSAN MASALAH

1. Apakah bakteri laut memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen?
2. Apakah gen NRPS dapat ditemukan pada bakteri laut potensial?
3. Apakah ekstraksi bioaktif dari bakteri laut dapat menghambat bakteri patogen?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1. Mengetahui kemampuan bakteri laut dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.
2. Mendeteksi gen NRPS pada bakteri laut potensial.
3. Mengetahui potensi ekstraksi dari bakteri laut untuk menghambat bakteri patogen.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

1. Dapat dijadikan obat dalam bidang farmasi dan juga menambah informasi mengenai bakteri potensial.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat bakteri laut TR4, TR8, TR13, TR14 dan TR15 memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, sedangkan isolat TR1, TR3, TR4, TR5, TR6, TR7, TR9, TR10, TR11, TR12 dan TR13 mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Gen NRPS dengan menggunakan primer A2gamF dan A3gamR terdeteksi pada isolat *Bacillus stratosphericus* TR4 dan *Bacillus thuringiensis* TR13.
3. Ekstrak senyawa bioaktif dari isolat *Bacillus stratosphericus* TR4 dan *Bacillus thuringiensis* TR13 dengan konsentrasi 1%, 5%, dan 10% memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan besaran zona hambat mencakup besar 5-10 mm termasuk dalam aktivitas daya hambat sedang, tetapi kedua isolat tidak memiliki kemampuan untuk menghambat *Escherichia coli*.

5.2 Saran

Saran yang diberikan untuk penelitian ini yaitu dapat menemukan metode yang tepat untuk ekstraksi dan penelitian ini dapat dilanjutkan untuk mendapatkan senyawa aktif pada ekstrak bakteri potensial untuk dimanfaatkan sebagai obat dimasa depan dan konsentrasi ekstraksi bakteri laut dapat dinaikan agar mendapatkan daya hambat yang lebih baik lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, M., Mondol, M., Shin, H. J., & Islam, M. T. (2013). Diversity of Secondary Metabolites from Marine *Bacillus* Species: Chemistry and Biological Activity. *Marine Drugs*, 2846–2872. <https://doi.org/10.3390/md11082846>
- Abidin, Z. (2014). *Pengaruh Bakteri Bacillus sp. dan Pseudomonas sp. terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen Sclerotium rolfsii Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai*. Universitas Brawijaya.
- Adwan, G., & Mhanna, M. (2009). Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2, 46–51.
- Amirhusin, B. (2002). Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai bio-insektisida. *Buletin AgroBio*, 5, 21–28.
- Andrews, J. M., & Howe, R. A. (2011). BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 10). *J Antimicrob Chemother*, 66 (September), 2726–2757. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr359>
- Andryukov, B., Mikhailov, V., & Besednova, N. (2019). The Biotechnological Potential of Secondary Metabolites from Marine Bacteria. *Journal of Marine Science and Engineering*, 1–16.
- Ansari, M. Z., Yadav, G., Gokhale, R. S., & Mohanty, D. (2004). NRPS-PKS: a knowledge-based resource for analysis of NRPS/PKS megasynthases. *Nucleic Acids Research*, 32, 405–413. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh359>
- Arr, P. H. J. B. (1998). *Production of a polyketide natural product in nonpolyketide-producing prokaryotic and eukaryotic hosts*. 95(January), 505–509. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.2.505>
- Artanti, N., Maryani, F., Mulyani, H., Dewi, R. T., & Saraswati, V. (2016). Bioactivities Screening

- of Indonesian Marine Bacteria Isolated from Sponges. *Scientific Journal In Life Sciences*, 20(1), 23–26.
- Ayuso-Sacido, A., & Genilloud, O. (2005). *New PCR Primers for the Screening of NRPS and PKS-I Systems in Actinomycetes: Detection and Distribution of These Biosynthetic Gene Sequences in Major Taxonomic Groups*. 10–24.
- Bergkvist, A. (2012). *A Technical Guide PCR Technologies*. Edited by T. Nolan. Sigma-Aldrich. https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/General_Information/1/pcrtechnologies-guide.pdf
- Berliana, H., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Berkala Bioteknologi*, 3 (2).
- Cahan, R., Friman, H., & Nitzan, Y. (2008). *Antibacterial activity of Cyt1Aa from Bacillus thuringiensis subsp. israelensis*. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008/020784-0>
- Dalhammar, G., & Steiner, H. (1984). Characterization of inhibitor A, a protease from *Bacillus thuringiensis* which degrades attacins and cecropins, two classes of antibacterial proteins in insects. *European Journal of Biochemistry*, 252, 247–252.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). *Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error*. <https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
- Debbab, A., Aly, A. H., Lin, W. H., & Proksch, P. (2010). Bioactive Compounds from Marine Bacteria and Fungi. *Society for Applied Microbiology*, 3, 544–563. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00179.x>
- Debbab, A., Aly, A. ., Edrada-Ebel, R., Wray, V., Pretsch, A., Pescitelli, G., Kurtan, T., & Proksch, P. (2012). New Anthracene Derivatives – Structure Elucidation and Antimicrobial Activity. *European Journal of Organic Chemistry*, 12(7), 1351–1359. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201101442>
- Didgikar, M. R., Joshi, S. S., Gupte, S. P., Diwakar, M. M., Deshpande, R. M., & Chaudhari, R. V. (2011). Oxidative carbonylation of amine using water-soluble palladium catalysts in biphasic media. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 334 (1-2), 20–28.

<http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.molcata.2010.10.018>

- Dunlap, C. A. (2015). *Phylogenomic analysis shows that 'Bacillus vanillea' is a later heterotypic synonym of Bacillus siamensis. 1*, 3507–3510. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000444>
- Ehtisham, M. (n.d.). Polymerase Chain Reaction (PCR): Back to Basics. *Indian Journal of Contemporary Dentistry*, 4(2), 30.
- Hastowo, S., Lay, B. W., & Ohba, M. (1992). Naturally occurring *Bacillus thuringiensis* in Indonesia. *Journal of Applied Bacteriology*, 73(2), 108–113. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb01695.x>
- Hermanto, S., Jusuf, E., & Shiddiqi, M. H. (2013). Eksplorasi Protein Toksin *Bacillus thuringiensis* dari Tanah di Kabupaten Tangerang. *Valensi*, 3(1), 48–56.
- Hettiarachchi, S. A., Lee, S., Lee, Y., Kwon, Y., Zoysa, M. De, Moon, S., Jo, E., Kim, T., Kang, D., Heo, S., & Oh, C. (2017). A Rapid and Efficient Screening Method for Antibacterial Compound- Producing Bacteria. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), 1441–1448.
- Hofte, H., & Whiteley, H. R. (1989). Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, 53 (2), 242–255.
- Holderman, M. V, Queljoel, E., & Rondonuwu, S. B. (2017). Identifikasi Bakteri pada Pegangan Eskalator di salah satu Pusat Perbelanjaan di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 13–18.
- Holt, J. G. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company.*
- Huda, C. (2012). Penapisan aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sarcophyton* sp. *Maspari Journal: Marine Science Research*, 4(1), 69–76.
- Jacques, P. (2010). Surfactin and Other Lipopeptides from *Bacillus* spp. *Biosurfactan*. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-14490-5_3
- Jati., N., Indah, M., & Felicia, Z. (2013). *Isolasi, Purifikasi dan Uji Patogenisitas Isolat Bacillus thuringiensis berliner Wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta terhadap Larva Nyamuk Aedes*

aegypti. Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

- Javandira, C., Lukman, Q., & LA, A. (2013). Pengendalian Penyakit Busuk Lunak Umbi Kentang (*Erwinia carotovora*) dengan memanfaatkan agen hayati *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan*, 1(1), 90–97.
- Judianti, O. W. D., Fiqri, M. M., Ansyori, M. K., & Trimulyono, G. (2014). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Demospongiae dari Pantai Paciran Lamongan. *Sains & Matematika*, 2(2), 49–53.
- Kalendar, R., Lee, D., & Schulman, A. H. (2014). FastPCR software for PCR, *in silico* PCR, and oligonucleotide assembly and analysis. *In DNA cloning and assembly methods*, 1116, 271–302. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-764-8_18
- Karthik, R., Pushpam, A. C., Vanitha, M. C., & Yuvaraj, D. (2015). Development of Marine Derived Probiotic Bacterial Consortium For The Sustainable Management of *Litopenaeus vannamei* Culture. *International J Ad Res Eng Tech*, 6(10), 62–75. <http://www.iaeme.com/IJARET/issues.asp?JType=IJARET&VType=6&IType=10>
- Kasitowati, R. D., Witriansyah, K., Trianto, A., Pratiwi, D. C., & Panjaitan, M. A. P. (2019). Antifungal activity of marine sponges (Class Demospongiae) collected from Biak, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 236(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012102>.
- Khaleghi, M., Khorrami, S., & Ravan, H. (2019). Identification of *Bacillus thuringiensis* bacterial strain isolated from the mine soil as a robust agent in the biosynthesis of silver nanoparticles with strong antibacterial and anti-biofilm activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101047>
- Khetan, S. K. Microbial Pest Control. *Marcel Dekker, Inc. New York. USA., 2001*.
- Konz, D., & Marahiel, M. (1999). How do peptide synthetases generate structural diversity? *Chemistry and Biology*, 6(2). [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(99\)80002](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(99)80002)
- Kunarso. 2011. “Kualitas Perairan di Selat Makassar Ditinjau dari Aspek Bakteriologi.” *Biosfera A Scientific Journal* 28(1):32–42.

- Lorenz, C. (2012). Unstuck in time. Or: the sudden presence of the past. In *In Performing the Past*. Amsterdam University Press.
- Lukitaningsih, E., Sulisty, B., Sudarmanto, A., & Noegrohati, S. (2001). Analisis Kandungan Senyawa Hidrokarbon Polisiklik Aromatik dalam Daging Olahan. *Majalah Farmasi Indonesia*, 103–108.
- Mardiana, N. A., Murniasih, T., Rukmi, W. D., & Kusnadi, J. (2020). Potensi Bakteri Laut sebagai Antibiotik Baru Penghambat *Saccharomyces aureus*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 21, 49–56.
- Marsden, A. F., Wilkinson, B., Cortés, J., Dunster, N. J., Staunton, J., & Leadlay, P. F. (1998). Engineering broader specificity into an antibiotic-producing polyketide synthase. *Science (New York, N.Y.)*, 279 (5348), 199–202. <https://doi.org/10.1126/science.279.5348.199>
- Martin, P. A., Gundersen, D. E., & Blackburn, M. B. (2010). Distribution of phenotypes among *Bacillus thuringiensis* strains. *Systematic and Applied Microbiology*, 33.
- Melissa A. Austin, P., Jan L. Breslow, M., & Charles H. Hennekens, M. (1988). Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*.
- Module, T., & Peptide, N. (2008). Crystal Structure of the Termination Module of a Nonribosomal Peptide Synthetase. *Science Express*, June. <https://doi.org/10.1126/science.1159850>
- Mulyani, Y., Purwanto, A., & Nurruhwati, I. (2011). Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika*, 2.
- Nather, S. E. (2012). Evaluation of Antibacterial Activity of *Morinda citrifolia*, *Vilex trifolia*, and *Chromolaena odorata*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(11), 783–788. <https://doi.org/10.5897/AJPP11.435>
- Nurhayati, B., & Darmawati, S. (2017). Biologi Sel dan Molekuler. In *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis*. Badan Pemberdayaan Dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Kesehatan Kemenkes RI.
- Ogawa, J., Kodera, T., Smirnov, S. V, Hibi, M., Samsonova, N. N., Koyama, R., Yamanaka, H., Mano, J., Kawashima, T., Yokozeki, K., & Shimizu, S. (2011). A novel L-isoleucine

- metabolism in *Bacillus thuringiensis* generating (2S,3R,4S)-4-hydroxyisoleucine, a potential insulinotropic and anti-obesity amino acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(6), 1929–1938. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2983-7>
- Patil, S. B., Durairaj, D., Suresh Kumar, G., Karthikeyan, D., & Pradeep, D. (2017). Comparison of Extended Nasolabial Flap Versus Buccal Fat Pad Graft in the Surgical Management of Oral Submucous Fibrosis: A Prospective Pilot Study. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 16(3), 312–321. <https://doi.org/10.1007/s12663-016-0975-6>.
- Pfeifer, B. A. (2001). Biosynthesis of Polyketides in Heterologous Hosts. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 65 (1), 106–118. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.1.106>
- Prastuti, O. P. (2017). Pengaruh Komposisi Air Laut dan Pasir Laut Sebagai Sumber Energi Listrik. *Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*, 1(1), 35–41.
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi* (1). Erlangga. Jakarta.
- Radjasa, O. ., Sabdon, A., Junaidi, & Zocchi, E. (2007). Richness of Secondary Metabolite-Producing Marine Bacteria Associated with Sponge *Haliclona* sp. *International Journal Of Pharmacology*, 3.
- Rahayu, F., Saryono, & Nugroho, T. T. (2015). Isolasi DNA dan Amplifikasi PCR Daerah ITS rDNA Fungi Endofit Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*) LBKURCC69. *JOM FMIPA*, 2(1), 100–016.
- Retnosari, A., & Maya, S. (2013). Kemampuan Isolat *Bacillus* sp dalam Mendegradasi Limbah Tangki Septik. *Jurnal Saint dan seni Pomits*, 2 (1).
- Rey, M. W., Ramaiya, P., Nelson, B. A., Brody-karpin, S. D., Zaretsky, E. J., Tang, M., Leon, A. L. De, Xiang, H., Gusti, V., Clausen, I. G., Olsen, P. B., Rasmussen, M. D., Andersen, J. T., Jørgensen, P. L., Larsen, T. S., Sorokin, A., Bolotin, A., Lapidus, A., Galleron, N., Berka, R. M. (2004). Complete genome sequence of the industrial bacterium *Bacillus licheniformis* and comparisons with closely related *Bacillus* species. *Genome Biologi*, 5(10).
- Rheinheimer, G., & Brettar, I. (1992). Influence of carbon availability on denitrification in the central Baltic Sea. *Limnology and Oceanography*, 37, 1146–1163. <https://doi/epdf/10.4319/lo.1992.37.6.1146>

- Riyanti, R., Aziz, S., Sabdono, A., Radjasa, O. K. (2012). Deteksi Gen NRPS Aktinomisetes Simbion Rumput Laut Dan Karang Lunak. *In Seminar Nasional" Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan II*. Jenderal Soedirman University. Purwokerto
- Rizkoh, D. (2011). *Karakterisasi Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Jaspis sp. sebagai Penghasil Senyawa Antimikrob Berspektrum Luas*. Institut Pertanian Bogor.
- Roche, J. R., Berry, D. P., & Kolver, E. S. (2006). Holstein-Friesian Strain and Feed Effects on Milk Production, Body Weight, and Body Condition Score Profiles in Grazing Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 89 (9), 3532–3543. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72393-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72393-1)
- Rounge, T. B., Rohrlack, T., Nederbragt, A. J., Kristensen, T., & Jakobsen, K. S. (2009). A genome-wide analysis of nonribosomal peptide synthetase gene clusters and their peptides in a *Planktothrix rubescens* strain. 11, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-396>
- Sabdaningsih, A., Budiharjono, A., & Kusdiyantini, E. (2013). Isolasi Dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) Dari Perairan Kutuh Bali. *Jurnal Biologi*, 2 (2), 11–17.
- Shivaji, S., Chaturvedi, P., Suresh, K., Reddy, G. ., Dutt, C. ., Wainwright, M., Narlikar, J. ., & Bhargava, P. M. (2006). *Bacillus aerius* sp. nov., *Bacillus aerophilus* sp. nov., *Bacillus stratosphericus* sp. nov. and *Bacillus altitudinis* sp. nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes. *Int J Syst Evol Microbiol*, 56, 1465–1473.
- Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular Microbiology*, 56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x>
- Stephenson, F., & Abilock, M. (2012). PCR Optimization Student Guide Fall 2012: Optimizing the Polymerase Chain Reaction. *Applied Biosystems BABEC [cit. 2013-11-19]*. Dostupnéz. https://www.babec.org/files/PCR_2012/PCR_Optimization_Student_Guide_2012.pdf.
- Sulistiani. (2009). Formulasi spora *Bacillus* sebagai agen hayati dan PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) pada berbagai bahan pembawa. *Institut Pertanian Bogor*.
- Tapilatu, Y. H. (2016). Marine Bacteria from Eastern Indonesia Waters and Their Potential Use in

- Biotechnology. *Omni-Akuatika*, 12. <https://doi.org/10.20884/1.oa.2016.12.1.32>.
- Tojo, A. (1986). Mode of Action of Bipyrimidyl 6-Endotoxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1. *Applied And Environmental Microbiology*, 51(3), 630–633.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks[4]Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 3(3), 201–209.
- Wallraven, C., Schultze, M., Mohler, B., Vataakis, A., & Pastra, K. (2011). The POETICON enacted scenario corpus — A tool for human and computational experiments on action understanding. *Institute of Electrical and Electronics Engineers*, March. <https://doi.org/10.1109/FG.2011.5771446>
- Wang, H., Fu, Z. M., & Han, C. C. (2014). The Potential Applications of Marine Bioactives Against Diabetes and Obesity. *American Journal of Marine Science*, 1–8.
- Wang, W., Park, K., Lee, J., Oh, E., Park, C., Kang, E., Lee, J., & Kang, H. (2020). A New Thiopeptide Antibiotic, Micrococcin P3, from a Marine-Derived Strain of the Bacterium *Bacillus stratosphericus*. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 25, 1–9.
- Wusqy, N. K., Prayitmo, D. I., Radjasa, O. K., Limantara, L., & Karwur, F. F. Penelusuran senyawa bioaktif bakteri yang berasosiasi dengan anemon laut serta identifikasi molekulernya berbasis 16S rDNA. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 2012. <https://doi.org/10.22146/jfs.9049>
- Yehuda, R., Engel, S. M., Brand, S. R., Seckl, J., Marcus, S. M., & Berkowitz, G. S. (2005). *Transgenerational Effects of Posttraumatic Stress Disorder in Babies of Mothers Exposed to the World Trade Center Attacks during Pregnancy*. 90 (7), 4115–4118. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0550>