

KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PEMBENTUK BIOFILM PADA PASIEN DIABETES MELLITUS

Wirnangsi Din Uno, Syam S. Kumaji*, Annisa Dwiyani, Tarissa Eka Putri, Susilo Anwar, Syahrul Lanti, Nur Fadhilah Pembengo

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Dr. Ing. B.J. Habibie, Bone Bolango 96554, Indonesia
Email : syam_bio@ung.ac.id

ABSTRAK

Diabetes mellitus adalah penyakit kronis yang sering menyebabkan komplikasi seperti infeksi bakteri, sementara biofilm memainkan peran penting dalam perkembangan infeksi bakteri kronis. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi isolat bakteri pembentuk biofilm dari luka pasien diabetes. Metode penelitian yang digunakan adalah pendekatan deskriptif kuantitatif yang melibatkan pembuatan media, sterilisasi peralatan dan media, preparasi dan pengenceran sampel, isolasi, serta tahap karakterisasi. Hasil karakterisasi meliputi struktur morfologi serta kemampuan isolat untuk menghasilkan biofilm. Penelitian ini menghasilkan 9 isolat yang berhasil diisolasi dari luka pasien diabetes, masing-masing menunjukkan karakteristik morfologi yang berbeda. Di antara 9 isolat tersebut, 1 isolat menunjukkan kemampuan untuk membentuk biofilm dengan ciri morfologi berwarna kuning, berbentuk bulat, gram positif kokus, dan pada pengujian biofilm menunjukkan pertumbuhan dengan tampilan kristal hitam pada media *Congo Red Agar* (CRA).

Kata-kata kunci : Bakteri, Biofilm, Diabetes mellitus, Luka

1. PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu penyakit kronis yang ditandai dengan kadar glukosa darah (gula darah) yang melebihi batas normal, yaitu kadar gula darah sewaktu mencapai atau melebihi 200 mg/dl, dan kadar gula darah puasa mencapai atau melebihi 126 mg/dl (Misnadiarly, 2006). Ini adalah penyakit yang ditandai oleh tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) yang dapat mengakibatkan berbagai komplikasi serius seperti kerusakan organ, gangguan penglihatan, gangguan jantung, dan masalah kesehatan lainnya. Terdapat dua tipe utama diabetes: tipe 1 dan tipe 2. Salah satu faktor yang berkontribusi pada pengembangan diabetes adalah infeksi bakteri dan peradangan dalam tubuh.

Bakteri merupakan kelompok organisme mikroskopik, memiliki sel tunggal (uniseluler), dan tidak memiliki membran inti sel (Rosahdi et al., 2019). Pada umumnya organisme ini memiliki dinding sel namun tidak berklorofil. Meskipun berukuran mikroskopik, bakteri memiliki peran yang penting dalam kehidupan sehari-hari. Beberapa kelompok bakteri ada yang menguntungkan, namun ada pula yang merugikan karena menyebabkan penyakit (patogen) pada makhluk hidup lain. Bakteri yang menguntungkan telah banyak dimanfaatkan dalam bidang pangan dan industri, lingkungan, dan kesehatan (Gracela et al., 2022).

Biofilm adalah kelompok bakteri yang melekat pada suatu permukaan dan/atau saling terhubung satu sama lain, serta tertanam dalam matriks yang diproduksinya sendiri. Matriks tersebut terbentuk dari komponen polimer ekstraseluler pada atau dalam organisme inang. Biofilm dapat tumbuh pada hampir seluruh permukaan atau lingkungan tempat bakteri berada. Pembentukan film ini terjadi karena kombinasi bakteri permukaan dengan zat organik atau anorganik yang ada. Substrat, baik biologis maupun anorganik, naik ke atas saat berdifusi atau dibawa oleh aliran cairan. Biofilm memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menyampaikan nutrisi dibandingkan cairan (Vestby et al., 2020).

Bakteri pembentuk biofilm pada luka penderita diabetes mellitus dapat diperoleh melalui prosedur isolasi bakteri (Suryaletha et al., 2018). Isolasi adalah proses pemisahan atau pemurnian suatu substansi atau entitas dari lingkungannya, termasuk isolasi zat kimia dari campuran, isolasi organisme dari sampel alamiah, atau isolasi data dari suatu kumpulan data yang lebih besar. Tujuan isolasi adalah untuk mendapatkan substansi atau entitas tersebut dalam bentuk yang lebih murni atau terpisah dari komponen lain yang ada. Isolat bakteri yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi, biokimia, maupun molekuler (Putri & Kusdiyantini, 2018). Identifikasi dan deskripsi karakteristik bakteri menjadi informasi dasar untuk penelitian lanjutan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi isolat bakteri pembentuk biofilm dari luka pasien diabetes berdasarkan morfologi dan biokimia.

2. METODOLOGI

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai Oktober 2023 di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Gorontalo.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, pinset, pipet tetes, mikropipet, kertas label, beaker glass, gelas ukur, bunsen, oven, spatula, object glass, cover glass, gelas ukur, timbangan analitik, *hotplate*, *autoclave*, mikroskop, swab steril, erlenmeyer dan neraca analitik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel bakteri dari luka pasien diabetes mellitus, media *Nutrient Agar* (NA), media Luria Bertani (LB), sukrosa, agar, pewarna merah Congo, alkohol 70%, aquades steril, reagen pewarnaan Gram (kristal violet, safranin, lugol, aseton alkohol), aluminium foil, plastik wrape, tisu, kapas steril, dan spiritus. Sampel bakteri uji diperoleh dari luka pasien penyakit diabetes mellitus di Rumah Sakit Toto Kabila, Kabupaten Bone Bolango, Provinsi Gorontalo.

2.3 Prosedur Kerja

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif, dengan tahapan yaitu pembuatan media, preparasi sampel, sterilisasi alat dan media, pengenceran, isolasi bakteri, serta karakterisasi morfologi dan biokimia.

Pembuatan media

Penelitian ini menggunakan 2 macam media, yaitu NA untuk peremajaan dan isolasi biakan murni dan *Congo Red Agar* (CRA) untuk uji biofilm. Media NA dibuat dengan melarutkan 5,55 g media NA dalam 150 ml aquades steril, kemudian dididihkan di atas *hotplate* pada suhu 200°C. Volume media yang digunakan dihitung berdasarkan rumus:

$$J. \text{ cawan} \times J. \text{ ulangan} \times \text{vol. cawan} \frac{\text{Ketetapan media NA}}{1000}$$

Media *Congo Red Agar* dibuat dengan melarutkan 30 g/L media LB, 36 g/L sukrosa, 18 g/L bubuk agar, dan 0,8 g/L pewarna merah Congo dalam aquades sesuai prosedur Purbowati et al. (2017).

Sterilisasi

Seluruh alat dan media yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu untuk menghindari kontaminasi. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit (Hamidah, 2016).

Preparasi dan pengenceran sampel

Sampel bakteri diperoleh dari luka 3 pasien diabetes mellitus tipe 2. Sebelum mengambil sampel, pasien diberi penjelasan mengenai tindakan yang dilakukan. Luka dibersihkan dengan kain kasa yang telah dibasuh dengan NaCl fisiologis sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran dan lapisan eksudat yang mengering. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 2x menggunakan swab steril, tanpa menyentuh bagian kapas dan luka/pus. Sampel disimpan dalam tabung steril berisi NaCl dengan tutup rapat, kemudian diberi label. Sampel kemudian diencerkan dengan beberapa serial pengenceran. Sebanyak 1 ml sampel yang telah dihomogenkan dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml NaCl, kemudian dihomogenkan kembali sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Prosedur yang sama diulang untuk membuat pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} , dengan mengambil sampel dari pengenceran sebelumnya. Setiap pengenceran dibuat 2 ulangan untuk masing-masing sampel bakteri.

Isolasi bakteri

Sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan media NA dengan metode *pour plate*. Cawan petri berisi media dan sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Yandila, 2018). Bakteri yang tumbuh selanjutnya diisolasi kembali pada media NA dengan metode *streak plate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk memperoleh isolat murni.

Uji pembentukan biofilm bakteri

Isolat bakteri yang telah dimurnikan diinokulasi ke media CRA dengan metode *streak plate*. Isolat selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi aerob. Pembentukan biofilm diukur secara kualitatif berdasarkan warna koloni yang tumbuh. Jika koloni bakteri yang tumbuh berwarna hitam atau hitam kemerahan serta menghasilkan kristal kasar dan kering maka dikategorikan menghasilkan biofilm. Sebaliknya, jika koloni yang tumbuh berwarna merah atau kemerahan dan tidak menghasilkan kristal maka dikategorikan tidak dapat menghasilkan biofilm (Kırmusaoğlu, 2019).

Karakterisasi bakteri

Karakterisasi bakteri dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Identifikasi isolat bakteri secara makroskopik berdasarkan karakter morfologi koloni meliputi bentuk, warna, tepi, elevasi, dan ukuran koloni menggunakan *colony counter* (Putri, 2018). Identifikasi bakteri penghasil biofilm juga dilakukan secara makroskopik dengan mengamati warna koloni yang terbentuk dan adanya kristal hitam (Purbowati et al., 2017)



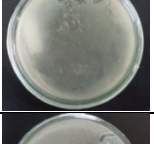
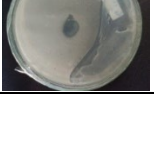
Karakterisasi bakteri secara mikroskopik dilakukan melalui pengamatan preparat. Sebanyak 1 ose koloni bakteri diletakkan di atas kaca objek, ditambahkan 1 tetes aquades, kemudian disebar secara merata dan tipis. Preparat difiksasi di atas api bunsen hingga mengering. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram sesuai prosedur Utami dkk. (2018). Preparat yang telah diwarnai kemudian diamati dibawah mikroskop. Jika koloni yang diperoleh berwarna merah berarti bakteri tersebut termasuk Gram negatif. Sebaliknya, jika koloni yang diperoleh berwarna ungu maka bakteri tersebut termasuk Gram positif.


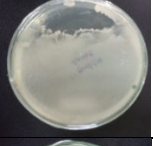



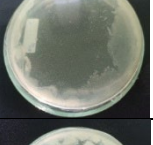
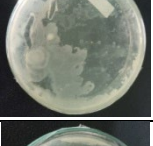
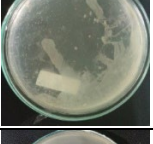

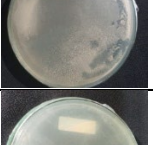

3. HASIL DAN PEMBAHASAN




3.1 Hasil

Berdasarkan hasil isolasi bakteri dari sampel luka 3 pasien diabetes mellitus tipe 2 diperoleh seluruhnya terdapat bakteri dengan jumlah koloni berbeda. Koloni bakteri hasil isolasi dari sampel luka pasien diabetes mellitus tipe 2 disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Koloni bakteri hasil isolasi dari sampel luka pasien diabetes mellitus tipe 2.

Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	Gambar
Sampel 1 (Luka pada kaki pasien DM tipe 2)	U1 10 ⁻¹	13	
	U1 10 ⁻²	3	
	U1 10 ⁻³	2	
	U2 10 ⁻¹	1	

Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	Gambar
	U2 10 ⁻²	19	
	U2 10 ⁻³	2	
Sampel 2 (Luka pada ibu jari kaki pasien DM tipe 2)	U1 10 ⁻¹	33	
	U1 10 ⁻²	344	
	U1 10 ⁻³	21	
	U2 10 ⁻¹	22	
	U2 10 ⁻²	109	
	U2 10 ⁻³	9	
Sampel 3 (Luka pada skrotum pasien DM)	U1 10 ⁻¹	12	
	U1 10 ⁻²	1	
	U1 10 ⁻³	1	


Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	Gambar
	U2 10 ⁻¹	1	
	U2 10 ⁻²	2	
	U2 10 ⁻³	4	



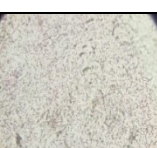

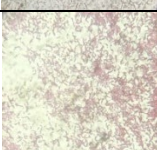
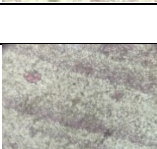
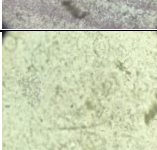




Koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya dikarakterisasi morfologisnya, baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Hasil karakterisasi morfologis koloni bakteri secara makroskopik disajikan pada Tabel 2, sementara hasil karakterisasi secara mikroskopik disajikan pada Tabel 3.


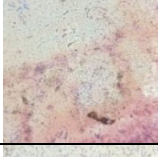
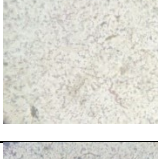
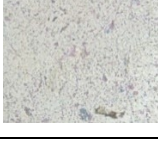
Tabel 2. Hasil karakterisasi morfologis koloni bakteri secara makroskopik.

Sampel	Pengenceran	Warna	Tepian	Bentuk	Elevasi	Ukuran
Sampel 1 (Luka pada kaki pasien DM)	U1 10 ⁻¹	Kuning	Smooth	Round	Convex	Small
	U1 10 ⁻²	Putih	Irreguler	Irreguler	Plateau	Large
	U1 10 ⁻³	Putih	Smooth	Round	Convex	Small
	U2 10 ⁻¹	Putih	Smooth	Round	Plateau	Moderate
	U2 10 ⁻²	Putih	Lobate, Filamentous, smooth	Irreguler, rhizoid, round	Plateau	Small, moderate, large
Sampel 2 (Luka pada ibu jari kaki pasien DM)	U1 10 ⁻¹	Putih kekuningan	Lobate, rhizoid, smooth	Irreguler, rhizoid, round	Plateau	Small, moderate, large
	U1 10 ⁻²	Putih kekuningan	Lobate, smooth	Irreguler, round	Convex, plateau	Small
	U1 10 ⁻³	Putih	Smooth	Round	Plateau	Small
	U2 10 ⁻¹	Putih	Lobate, smooth	Irreguler, round	Plateau	Small, moderate
	U2 10 ⁻²	Putih kekuningan	Smooth, lobate	Round, irreguler	Plateau	Small
Sampel 3 (Luka pada skrotum pasien DM)	U1 10 ⁻¹	Putih	Smooth	Round	Plateau	Moderate
	U1 10 ⁻²	Putih	Rhizoid	Filamentous	Plateau	Moderate
	U1 10 ⁻³	Putih	Smooth	Round	Plateau	Small
	U2 10 ⁻¹	Kuning	Lobate	Irreguler	Plateau	Large
	U2 10 ⁻²	Putih	Smooth	Round	Plateau	Small
U2 10 ⁻³	Putih	Rhizoid	Rhizoid	Plateau	Large	

Tabel 3. Hasil karakterisasi morfologis koloni bakteri secara mikroskopik.

Sampel	Pengenceran	Gambar	Keterangan
Sampel 1 (Luka pada kaki)	U1 10 ⁻¹		Bakteri gram negatif bentuk coccus

Sampel	Pengenceran	Gambar	Keterangan
pasien DM)	U1 10 ⁻²		Bakteri gram negatif bentuk coccus
	U1 10 ⁻³		Bakteri gram negatif bentuk coccus
	U2 10 ⁻¹	-	-
Sampel 2 (Luka pada ibu jari kaki pasien DM)	U2 10 ⁻²		Bakteri gram negatif
	U2 10 ⁻³		Bakteri gram negatif bentuk coccus
	U1 10 ⁻¹		Bakteri gram negatif bentuk basil
Sampel 3 (Luka pada skrotum pasien DM)	U1 10 ⁻²	-	-
	U1 10 ⁻³		Bakteri gram negatif bentuk coccus
	U2 10 ⁻¹		Bakteri gram negatif bentuk coccus
Sampel 3 (Luka pada skrotum pasien DM)	U2 10 ⁻²		Bakteri gram negatif bentuk coccus
	U2 10 ⁻³		Bakteri gram negatif bentuk basil
	U1 10 ⁻¹		Bakteri gram negatif bentuk coccus
Sampel 3 (Luka pada skrotum pasien DM)	U1 10 ⁻²		Bakteri gram negatif bentuk coccus

Sampel	Pengenceran	Gambar	Keterangan
	U1 10 ⁻³		Bakteri gram negatif bentuk coccus dan basil
	U2 10 ⁻¹		Bakteri gram negatif bentuk coccus
	U2 10 ⁻²		Bakteri gram negatif bentuk coccus dan basil
	U2 10 ⁻³		Bakteri gram negatif bentuk coccus dan basil

Selain itu, berdasarkan hasil identifikasi bakteri penghasil biofilm secara makroskopik diperoleh satu isolat bakteri yang membentuk biofilm, ditandai koloni yang berwarna hitam dan adanya kristal hitam (Gambar 1).



Gambar 1. Isolat bakteri yang membentuk biofilm.

3.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, dari seluruh pengulangan dan tingkat pengenceran ketiga sampel luka pasien diabetes mellitus tipe 2 diperoleh seluruhnya terdapat bakteri dengan beragam jumlah koloni, mulai dari 1 hingga 344 koloni. Terlihat pada Tabel 1, pada sampel 1 jumlah koloni bakteri terbanyak yaitu U2 10⁻² (19 koloni), pada sampel 2 yaitu U1 10⁻² (344 koloni), dan pada sampel 3 yaitu U1 10⁻¹ (12 koloni).

Hasil karakterisasi secara makroskopik (Tabel 2) diperoleh beragam karakter morfologis (warna, tepian, bentuk, elevasi, dan ukuran) koloni bakteri. Pada sampel 1 (luka pada kaki pasien diabetes mellitus tipe 2), koloni bakteri yang tumbuh umumnya berwarna putih, namun ada pula yang berwarna kuning; tepian halus, *lobate*, *filamentous*, atau *irregular*; berbentuk bulat

(*round*), *rhizoid*, atau *irregular*; elevasi umumnya datar (*plateau*), namun ada pula yang cembung (*convex*); ukuran koloni bakteri pun berbeda-beda, ada yang kecil, sedang (*moderate*), dan besar. Pada sampel 2 (luka pada ibu jari kaki), koloni bakteri yang tumbuh berwarna putih atau putih kekuningan; tepian halus, *lobate*, atau *rhizoid*; berbentuk bulat (*round*), *rhizoid*, atau *irregular*; elevasi umumnya datar (*plateau*), namun ada pula yang cembung (*convex*); ukuran koloni bakteri umumnya kecil, dan ada pula sedang (*moderate*) dan besar. Sementara itu, koloni bakteri pada sampel 3 (luka pada skrotum) umumnya berwarna putih, namun ada pula yang berwarna kuning; tepian halus, *rhizoid*, atau *lobate*; bentuk bulat (*round*), *rhizoid*, *filamentous*, atau *irregular*; elevasi datar (*plateau*); ukuran koloni ada yang kecil, sedang (*moderate*), dan besar.

Hasil karakterisasi mikroskopik bakteri diperoleh seluruh sel bakteri dari ketiga sampel merupakan kelompok Gram negatif, dengan bentuk *coccus* dan *basil* (Tabel 3). Dapat diketahui bahwa bakteri tersebut tidak mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram, sehingga berwarna merah ketika diamati dengan mikroskop.

Dari hasil pemurnian diperoleh 9 isolat, yang kemudian dilakukan uji pembentukan biofilm. Dari 9 isolat, hanya 1 isolat yang memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm. Isolat tersebut menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna hitam dan terbentuk kristal pada media *Congo Red Agar* (CRA) (Gambar 1). Isolat bakteri yang mampu membentuk biofilm ini memiliki ciri morfologi koloni berwarna kuning dan berbentuk *round*. Isolat tersebut merupakan kelompok Gram negatif dengan bentuk sel *coccus*. Kelompok bakteri Gram negatif merupakan mikroorganisme paling umum yang dapat membentuk biofilm, dimana keberadaannya pada luka pasien diabetes mellitus tipe 2 akan membentuk biofilm yang berdampak pada resistensi antibiotik.

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat variasi jumlah koloni bakteri yang tumbuh, bergantung pada jenis sampel dan tingkat pengenceran. Karakterisasi morfologis koloni secara makroskopik juga menunjukkan variasi warna, bentuk, tepi, elevasi, dan ukuran antar sampel, pengenceran, maupun ulangan, yang mengindikasikan kemungkinan keberadaan spesies yang berbeda. Karakterisasi morfologis sel bakteri secara mikroskopik menunjukkan seluruhnya

termasuk kelompok Gram negatif, dengan bentuk *coccus* atau basil. Hanya 1 dari 9 isolat murni yang menunjukkan kemampuan membentuk biofilm.

DAFTAR PUSTAKA

- Gracela, P. M., Rondonuwu, S. B., & Baideng, E. (2022). Identifikasi Bakteri Secara Molekuler Dari Mesin ATM pada Beberapa Tempat di Kota Manado. *Journal of Biotechnology and Conservation in Wallacea*, 02(02), 107–112.
- Hamidah, F. S. (2016). *Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Tanaman Jambu Biji (Psidium guajava L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Anti Bakteri* [Skripsi, STKIP PGRI Sumatera Barat]. Digilib Upgrisba.
- Kırmusaoğlu, S. (2019). The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents. In: S. Kırmusaoğlu (Ed.). *Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods*. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.84411
- Misnadiarly. (2006). *Diabetes mellitus: Mengenal Gejala Menanggulangi Mencegah Komplikasi*, 1st ed. Pustaka Populer Obor.
- Purbowati, R., Rianti, E. D. D., & Ama, F. (2017). Kemampuan Pembentukan Slime pada *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, dan *Escherichia coli*. *Jurnal Florea*, 4(2), 1-9.
- Putri, A. L. O., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6–12. <http://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jbt>
- Putri, M. F. (2018). Diversitas Bakteri Endofit pada Daun Muda dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.). *Eksakta*, 19(1), 126-130.
- Rosahdi, T. D., Tafiani, N., & Hafsari, A. R. (2019). Identifikasi Spesies Isolat Bakteri K2Br5 dari Tanah Karst dengan Sistem Kekerabatan Melalui Analisis Urutan Nukleotida Gen 16S rRNA. *al-Kimiya*, 5(2), 84–88. <https://doi.org/10.15575/ak.v5i2.3836>
- Suryaletha, K., John, J., Radhakrishnan, M. P., George, S., & Thomas, S. (2018). Metataxonomic approach to decipher the polymicrobial burden in diabetic foot ulcer and its biofilm mode of infection. *International Wound Journal*, 15(3), 473–481. <https://doi.org/10.1111/iwj.12888>
- Utami, U., Harianie, L., Kusmiyati, N., & Fitriyani, P. D. (2018). *Buku Panduan Praktikum Mikrobiologi Umum*. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020). Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics*, 9(2), 59. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>
- Yandila, S. (2018). Kolonisasi Bakteri Endofit pada Akar Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.). *Bio-site*, 4(2), 61-67.