

**Karakterisasi Bakteri Gram Positif Endofit Tanaman Kunyit (*Curcuma longa*)
yang Memiliki Kemampuan *Quorum Quenching***

Hendi Rizaldi¹ ; Eka Ardiani Putri² ; Mahyarudin³

¹ Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

² Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

³ Departemen Mikrobiologi Medik, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. *Quorum Sensing* merupakan sistem komunikasi yang mengendalikan ekspresi berbagai gen dalam mengatur kepadatan sel. Terdapat cara dalam menghambat sistem QS ini, yaitu *quorum quenching* (QQ). Strategi yang dapat digunakan untuk menghambat sistem *quorum sensing*, yaitu *quorum quenching*. **Metode.** Bakteri Gram positif endofit diisolasi dan dimurnikan dari kunyit dengan metode cawan gores. Uji aktivitas *quorum quenching* dengan metode difusi cakram. Bakteri yang berpotensi dikarakterisasi morfologi koloni, morfologi sel, dan aktivitas biokimia. **Hasil.** Tujuh dari dua puluh satu bakteri endofit yang diisolasi dari Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan bakteri Gram positif. Enam isolat bakteri gram positif endofit memiliki kemampuan *quorum quenching* yang ditandai dengan zona hambat warna berkisar antara 7 mm-19 mm. Isolat yang memiliki kemampuan *quorum quenching* paling besar yaitu isolat nomor 4, dari hasil identifikasi termasuk ke dalam genus *Micrococcus sp.* **Kesimpulan.** Bakteri gram positif endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa*) yang berpotensi memiliki kemampuan *quorum quenching* merupakan genus *Micrococcus sp.*

Kata Kunci: *Quorum quenching*, bakteri Gram positif endofit, *Chromobacterium violaceum*

Background. *Quorum sensing (QS)* is a signaling system which controls the expression of diverse genes in response to cell density. There are known strategies for disrupting a bacterial quorum sensing system, which is referred quorum quenching (QQ). **Method.** Gram-positive endophytic bacteria from turmeric were isolated and purified by streak plate method. Quorum quenching activity was determined by disk diffusion method. Potential isolated bacteria identified by colony morphology, cell morphology, and biochemical activities. **Result.** A total of seven from twenty one bacterial endophytes isolated from turmeric (*Curcuma longa*) were Gram-positive endophytic bacteria. Six isolates Gram-positive endophytic bacteria had quorum quenching ability marked by the color inhibition zone that ranged from 7 mm-19 mm. The isolate which showed greatest quorum quenching activities was isolate no 4 and identified as *Micrococcus sp.* **Conclusion.** Gram positive endophytic bacteria from turmeric (*Curcuma longa*) had potential quorum quenching ability was *Micrococcus sp.*

Keywords: *Quorum quenching*, Gram-positive bacterial endophytes, *Chromobacterium violaceum*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Tatalaksana untuk mengatasi masalah tersebut satu diantaranya dengan antibiotik. Namun, pada penelitian kualitas penggunaan antibiotik diberbagai bagian rumah sakit ditemukan 30% - 80% tidak didasarkan pada indikasi.¹ Penderita yang dirawat di rumah sakit dalam waktu jangka panjang semakin meningkat sehingga pajanan terhadap antibiotik semakin bertambah dan meningkatkan resistensi terhadap antibiotik.² *Antimicrobial Resistant in Indonesia* (AMRIN - Study) menyatakan bahwa 43% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik seperti ampicilin (34%), kotrimoksazol (29%) dan kloramfenikol (25%).³

Upaya untuk mengatasi masalah resistensi tersebut satu diantaranya ialah dengan metode *quorum quenching* yaitu menghambat mekanisme *quorum sensing*. *Quorum sensing* merupakan mekanisme komunikasi antara sel bakteri dalam

mengendalikan suatu regulasi ekspresi gen. Sejumlah bakteri telah diketahui menggunakan sistem regulasi ini untuk ekspresi gen-gen penyandi virulensinya. Bakteri mengekspresikan faktor virulensinya hanya jika kepadatan populasinya sudah mencapai ambang tertentu melalui pengaktifan senyawa *autoinducer* (AI).⁴ Pada bakteri Gram negatif untuk komunikasi intraspecies, bakteri gram negatif menghasilkan dan menggunakan senyawa AI berupa *N-acylhomoserine lactone* (AHL) sedangkan pada bakteri Gram positif berupa senyawa peptida.⁵

Inhibitor *quorum sensing* yang bersifat antagonistik terhadap AHL banyak dilaporkan satu diantaranya ialah senyawa fenolik kurkumin yang berasal dari kunyit memiliki kemampuan untuk memblok AHL reseptor.⁶ Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan tanaman obat yang bermanfaat sebagai antikoagulan, antimikroba, anti-inflamasi, dan anti-oksidan.⁷ Aktivitas senyawa aktif dalam rimpang kunyit

mampu menghambat pertumbuhan bakteri baik gram positif dan negatif.⁸

Penelitian ini digunakan bakteri gram negatif sebagai indikator yaitu *Chromobacterium violaceum*, dikarenakan bakteri tersebut memiliki karakteristik membentuk koloni berwarna ungu yang disebabkan oleh pigmen violacein. Pigmen violacein bakteri ini diatur oleh sistem *quorum sensing* melalui pengaktifan senyawa autoinducer. Karakteristik tersebut menjadikan bakteri *C. Violaceum* digunakan sebagai bakteri indikator dalam pengujian penghambatan *quorum sensing* karena mudah dalam melakukan pengamatan.⁹

Penelitian yang dilakukan Namasivayam mengenai aktivitas *quorum quenching* dengan ekstraksi etanol kunyit terhadap *Proteus vulgaris* menunjukkan penghambatan biofilm sebesar 58%.¹⁰ Hasil pengujian yang dilakukan oleh Pangemanan,¹¹ daya hambat ekstrak polar rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri

Pseudomonas sp memiliki nilai rata - rata diameter zona hambat pada ekstrak 5%, 10%, 20% dan 40% secara berurutan yaitu 8,8 mm, 9,3 mm, 11,1 mm, dan 13,1 mm.

Selain metode penggunaan kunyit secara langsung melalui ekstraksi yang sudah banyak dilakukan dapat juga memanfaatkan potensi bakteri endofit. Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanamannya tanpa menimbulkan efek negatif dan dapat diisolasi dari seluruh jaringan tanaman. Tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inangnya.¹² Bakteri endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, sehingga dapat mencegah penggunaan berlebihan terhadap tanaman aslinya.¹³ Berdasarkan alasan tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan

eksplorasi bakteri endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa*) yang memiliki aktivitas *quorum quenching* terhadap *Chromobacterium violaceum* dengan melihat aktivitas inhibisi pigmen violacein.

METODE

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, pipet volume, jarum ose, bunsen, *vortex mixer*, gelas objek, penjepit gelas objek, label preparat, spidol, pinset, korek api, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), Autoclaf, inkubator, gelas beaker, lemari pendingin, gelas ukur, scalpel steril, *papper disk*, tisu, handscoon steril, kertas saring steril, kantong plastik, mikro pipet, penggaris, jangka sorong, mikroskop, spektrofotometer dan alat sentrifugasi.

Bahan Penelitian

Rimpang kunyit (*C. longa*), biakan bakteri *C. violaceum*, aquades, alkohol 70%, larutan NaOCL 1%, medium NA, media NB, larutan H₂SO₄ 1%, larutan

BaCl₂ 1%, larutan NaCl steril 0,9%, zat warna kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin, reagen *tetrametil paraphenildiamin*, H₂O₂ 30%, media glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, sorbitol, manitol dan inositol, medium Lysin Iron Agar (LIA), media MIO, media arginine, medium urea, media *Tryptone Water*, reagen Kovacs, media O-F, parafin, media Simmons Citrat Agar miring, media TSIA, media MR-VP (media *Methyl Red-Voges Proskauer*), reagen *methyl red*, larutan *alpha-naphtol* 5%, KOH 40%.

Pengambilan Rimpang Kunyit (*C. longa*)

Sampel yang dipilih yaitu rimpang kunyit berumur 8 - 18 bulan dengan tanda terjadinya perubahan warna daun dan batang yang semula hijau berubah menjadi kuning.¹⁴ Sampel diperoleh dari Jalan Danau Sentarum, Pontianak, Kalimantan Barat. Sampel yang terkumpul dibawa ke Laboratorium Mikroskopis di Fakultas Kedokteran

Universitas Tanjungpura kota Pontianak.

Sterilisasi Permukaan Rimpang Kunyit (*C. longa*)

Permukaan rimpang dicuci menggunakan air mengalir selama 10 menit. Sterilisasi dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Setelah ditiriskan, sampel dipotong dan ditimbang setiap satu gram. Potongan sampel kemudian direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, sambil dikocok pelan. Kemudian direndamkan pada larutan NaOCL 1% selama 5 menit setelah itu direndamkan lagi ke dalam alkohol 70% selama 1 menit menggunakan pinset. Sampel dibilas menggunakan akuades steril selama 1 menit dan diulang sebanyak tiga kali.¹⁵

Permukaan rimpang yang telah disterilisasi permukaan selanjutnya dilakukan konfirmasi keberhasilan sterilisasi permukaan dengan cara

menginokulasikan akuades bilasan terakhir sebanyak 100 μ L pada medium NA dengan menggunakan metode cawan sebar (*spread plate*). Sterilisasi berhasil bila tidak ditemukan pertumbuhan bakteri pada medium NA tetapi bila ditemukan pertumbuhan bakteri pada medium NA maka harus dilakukan sterilisasi kembali.¹⁵

Isolasi, Pemurnian dan Subkultur Bakteri Endofit

Rimpang kunyit yang telah disterilisasi kemudian dikeringanginkan diatas kertas saring steril selama beberapa menit. Kemudian masing-masing sampel dipotong atau dibelah menjadi dua bagian dengan menggunakan scalpel steril dan diletakkan pada media NA dengan ditambahkan griseovulvin (0,5 mg/100 mL media). Setiap cawan petri diletakkan dua atau empat potongan sampel. Cawan petri yang sudah mengandung sampel

tanaman kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam.¹⁶

Bakteri yang tumbuh pada media isolasi NA, disubkultur pada media lempeng NA dengan metode cawan gores pada suhu ruang selama 24-48 jam sampai diperoleh koloni murni yang hanya berasal dari satu jenis bakteri saja. Koloni murni kemudian dipindahkan ke media agar NA miring dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setiap isolat bakteri endofit dibuat dua pada media agar miring, masing-masing dipergunakan sebagai *working culture* dan *stock culture*.¹⁷

Peremajaan Bakteri Uji *C. violaceum*

Bakteri *C. violaceum* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Departemen Parasitologi FKUI. Sebelum digunakan untuk pengujian, bakteri ini diremajakan terlebih dahulu dalam media *Nutrient Agar*.

Koloni yang tumbuh dari hasil peremajaan tersebut digunakan sebagai sampel penelitian. Satu koloni *C. violaceum* diambil dengan menggunakan jarum ose steril, lalu diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* dengan menggunakan metode cawan gores (*streak plate*), setelah itu diinkubasi dalam inkubator pada suhu ruang selama 24 jam. Peremajaan ini dilakukan karena dalam pengujian aktivitas *quorum quenching* diperlukan koloni bakteri segar yang berusia 24 jam. Konfirmasi bakteri uji dilakukan dengan metode pewarnaan gram.¹⁸

Pembuatan Larutan Mc Farland

Pembuatan larutan standar Mc Farland dengan cara dicampurkannya 9,5 ml larutan H₂SO₄ 1% dengan 0,5 ml larutan BaCl₂ 1% sehingga volume menjadi 10 ml, lalu dikocok sampai homogen. Larutan harus di kocok

setiap akan digunakan, sebagai pembanding suspensi bakteri.¹⁹

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan secara aseptis dengan cara koloni bakteri uji pada media peremajaan yang berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang diperoleh kemudian disetarakan dengan standar Mc farland 0,5 yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 10^8 sel bakteri/mL dan setelah setara maka suspensi ini digunakan sebagai bakteri uji.²⁰

Skrining Bakteri Gram Positif yang Berpotensi sebagai *Quorum Quenching*

Metode pengujian kualitatif untuk mendeteksi *quorum quenching* dapat dilakukan dengan metode *disc diffusion*. Isolat bakteri gram positif endofit ditumbuhkan dalam media

NB dan *dishaker* ± selama 18 jam (sampai nilai *Optical Density* (OD) mencapai 0.5). Kultur yang memiliki OD 0.5 disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 100 µl supernatan diteteskan pada *paper disk* dan diletakkan pada permukaan media *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung *C. violaceum*. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 24 jam. Aktivitas *quorum quenching* ditunjukkan dengan zona tidak berwarna ungu di sekitar *paper disk*.²¹

Pengukuran Zona Hambat Pembentukan Warna

Quorum quenching ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna ungu atau *violacein* pada media. Pengujian *quorum quenching* dilakukan dengan mengukur diameter penghambatan dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran zona hambat dilakukan

dengan menghitung rata – rata ketiga zona hambat.²²

Identifikasi Bakteri Endofit

Isolat bakteri yang memiliki efek aktivitas *quorum quenching* tertinggi kemudian dikarakterisasi dan diidentifikasi melalui pengamatan morfologi koloni, morfologi sel dan biokimia bakteri dengan mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.²³

HASIL

Pengambilan Rimpang Kunyit (*C. longa*)

Rimpang kunyit berumur 8 - 18 bulan dengan tanda terjadinya perubahan warna daun dan batang yang semula hijau berubah menjadi kuning dengan kondisi rimpang baik, tidak busuk dan tidak terdapat hama diperoleh dari Jalan Danau Sentarum, Pontianak, Kalimantan Barat.

Sterilisasi Permukaan Rimpang Kunyit (*C. longa*), Isolasi, Pemurnian dan Subkultur Bakteri Endofit

Sterilisasi permukaan rimpang kunyit yang dilakukan berhasil dengan indikator tidak ada bakteri yang tumbuh pada media konfirmasi. Tiap cawan petri isolasi rimpang memiliki karakteristik morfologi koloni berbeda. Tujuh dari dua puluh satu isolat murni bakteri endofit yang didapatkan merupakan Gram positif.

Peremajaan Bakteri Uji *C. violaceum*

Bakteri *C. violaceum* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Departemen Parasitologi FKUI. Bakteri *C. violaceum* berhasil diremajakan pada media NA yang menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri berbentuk iregular berwarna ungu dengan tepian bergelombang dan cembung. Hasil pewarnaan Gram didapatkan ciri-ciri bakteri yaitu bakteri Gram negatif dan berbentuk basil (batang).

Skrining Bakteri Gram Positif yang Berpotensi sebagai *Quorum Quenching*

Skrining dilakukan dengan metode difusi cakram (*disc diffusion*). Hasil pengujian didapatkan sebanyak 6 dari 7 isolat bakteri Gram positif endofit memiliki aktivitas *quorum quenching*. Zona hambat pembentukan warna berkisar antara 7 mm – 19 mm.

Isolat bakteri Gram positif endofit yang memiliki zona hambat terbesar yaitu isolat 5 dengan diameter sebesar 19 mm dan isolat 4 dengan diameter sebesar 16 mm.

Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Gram Positif Endofit yang Memiliki Kemampuan *quorum quenching*

Uji biokimia isolat bakteri paling berpotensi yaitu isolat 4 dilakukan di UPT Laboratorium Kesehatan Pemerintah Provinsi Kalimantan Barat Dinas Kesehatan. Hasil uji biokimia pada isolat 4 yaitu non motil, katalase positif, oksidase positif, ornithin positif, dan pada uji gula – gula hanya glukosa terjadi pembentukan

asam. Berdasarkan hasil dari pengamatan morfologi koloni, morfologi sel dan uji biokimia dapat diperoleh kepastian bahwa isolat bakteri yang paling memiliki potensi kemampuan *Quorum Quenching* adalah genus *Micrococcus sp.*

PEMBAHASAN

Tujuh isolat bakteri gram positif endofit diuji aktivitas anti-quorum sensingnya menggunakan bakteri indikator *C. violaceum*. Bakteri ini dipilih karena mempunyai karakteristik membentuk koloni berwarna ungu yang disebabkan oleh pigmen violacein yang diaktifkan oleh molekul sinyal atau autoinducer (AI) berupa molekul C6-HSL (Nacyl-homoserine lactone) dengan gen pengatur *cviI-cviR*.²⁴

Penelitian yang dilakukan Packiavathy, aktivitas *quorum quenching* disebabkan oleh senyawa fenolik kurkumin yang berasal dari kunyit memiliki kemampuan untuk memblok AHL reseptor.⁶ Terdapat 6

isolat yang mampu menghasilkan zona tidak ungu berkisar antara 7 mm – 19 mm. Terbentuknya zona tidak ungu tersebut disebabkan oleh kegagalan proses *quorum sensing* dari sel-sel *C. violaceum* di sekitar *paper disk* yang mengandung supernatan isolat-isolat bakteri. Gagalnya proses *quorum sensing* tersebut dapat diakibatkan oleh terdegradasinya Nacyl- homoserine lactone yang merupakan senyawa sinyal untuk proses *quorum sensing* *C. violaceum*. Terhambatnya proses *quorum sensing* menyebabkan sel-sel *C. violaceum* di sekitar *paper disk* tidak mampu mengaktifkan proses ekspresi gen penyandi pigmen violacein yang berwarna ungu.²⁵

Berdasarkan hasil identifikasi, isolat 4 termasuk ke dalam genus *Micrococcus* *sp.* Genus ini memiliki karakteristik gram positif berbentuk coccus berpasangan, tidak beraturan dan tidak berbentuk rantai. Non motil dengan koloninya umumnya berwarna kuning sampai merah. Memproduksi sedikit asam dari

karbohidrat, dan tumbuh pada media sederhana. Katalase positif, dan sering juga oksidase positif. Tumbuh pada 5% NaCl, suhu optimum 25 – 37oC.²⁶

Penelitian yang dilakukan oleh Satwika, isolat *Micrococcus* yang berasal dari daun dan tanah rizosfer memiliki aktivitas degradasi AHL dengan diameter zona tidak ungu sebesar 15 – 16 mm dan terbukti mampu menghambat patogenisitas *Dickeya dadantii*.²⁷ Kim juga telah melaporkan bahwa *Micrococcus sp.* yang berasal dari lumpur instalasi pengolahan limbah memiliki aktivitas *quorum quenching* dan mengontrol produksi biofilm dari bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dan *Chromobacterium violaceum* dengan mendegradasi AHL, namun hingga saat ini belum diketahui gen yang menyandikan enzim pendegradasi AHL-nya. Isolat-isolat yang teridentifikasi sebagai *Micrococcus* tidak terdeteksi memiliki gen *aiiA*. Gen *aiiA* merupakan salah satu gen penyandi AHL-laktonase. AHL-laktonase dapat menghidrolisis

ikatan ester pada cincin lakton AHL. Kemungkinan gen penyandi enzim pendegradasi AHL pada bakteri ini berbeda dengan gen *aiiA*.²⁸

Aktivitas quorum sensing pada bakteri *C. violaceum* dalam mengendalikan pigmen violacein menggunakan mekanisme *quorum sensing* yang sama dengan bakteri Gram negatif lainnya dalam mengaktifkan faktor virulensinya, sehingga kemampuan bakteri *Micrococcus* yang diisolasi dari rimpang kunyit dapat memiliki kemampuan inhibisi *quorum sensing* yang sama pada bakteri patogen Gram negatif lainnya.²⁸

KESIMPULAN

1. Isolat bakteri gram positif endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit (*C. longa*) berpotensi sebagai *quorum quenching* terhadap *C. violaceum*.
2. Bakteri Gram positif endofit tanaman kunyit (*Curcuma*

longa) yang berpotensi memiliki kemampuan *quorum quenching* merupakan genus *Micrococcus sp* dengan pembentukan zona hambat sebesar 16 mm.

3. *Micrococcus sp* memiliki karakteristik non motil dengan koloni berwarna kuning, memproduksi sedikit asam dari karbohidrat, katalase positif, dan oksidase positif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. Pedoman penggunaan antibiotik. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2011.
2. Mardiasuti HW. Emerging resistance pathogen: situasi terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia, Maj Kedokt Indon; 2007.
3. AMRIN study group. Antimicrobial resistance, antibiotic usage and infection control. Jakarta: Directorate General of Medical Care Ministry of Health Republic of Indonesia; 2005.
4. Gomez VM, Lopez. Decontamination of fresh and minimally processed produce. New York (USA): Wiley Blackwell Inc; 2012.
5. Choo JH, Rukayadi Y, Hwang JK. Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. J Microbiology. 2006; 42:637-41.
6. Packiavathy IA, Priya S, Pandian SK, Ravi AV. Inhibition of biofilm development of uropathogens by curcumin-an anti-quorum sensing agent from *Curcuma longa*. Food Chem; 2014.
7. Dalimartha S. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Edisi ke-6. Jakarta: Pustaka Bunda; 2009.
8. Antunes SA, Rolazza WS, Schittler L, Gomes GA. Synergistic and antimicrobial properties of commercial turmeric (*Curcuma longa* L.) Essential Oil Against Pathogenic Bacteria. FST; 2012.

9. Ariyani DF. Skrining aktivitas anti-quorum sensing fraksi etanolik enam tanaman obat dengan bakteri *Cromobacterium violaceum* [Skripsi]. Surakarta: Program Pascasarjana Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret; 2011.
10. Namasivayam SKR, Vivek JM. Screening of quorum sensing (Qs) modulatory effect of medicinal plant extracts against quorum sensing mediated virulence factors of human pathogenic gram negative bacteria. India. Sathyabama University; 2016.
11. Pangemanan A, Fatimawali, Budiarmo F. Uji daya hambat ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. Manado. Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi; 2016.
12. Taechowisan T, Lu C, Shen Y, Lumyong S. 4-Arylcoumarins from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity. *Ann Microbiol*; 2005.
13. Radji, M. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal, *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2005; 2(3):113-26.
14. Rahardjo M, Rostiana O. Budidaya tanaman kunyit. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika; 2005.
15. Coombs JT, Franco CMM. Isolation and identification of actinobacteria from surface sterilized wheat roots. *Appl Environ Microbiol*. 2003; 69(9):5603-8.
16. Anjum N, Chandra R. Endophytic bacteria optimization of isolation procedure from various medicinal plants and their preliminary characterization. *J Pharm and Clin Res*. 2015; 8(4):233-8.
17. Alfred EB. Laboratory manual in general microbiology: Benson's microbiological application. 10th ed. New York: McGraw Hill; 2007. h. 162-3.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standards-Twelfth Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: CLSI; 2012. h. 9-13.
19. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J antimicrob Chem Ther*. 2001; 48:5-16.
20. ICMR. Detection of antimicrobial resistance in comon gram negative and gram positive bacteria encountered in infectious disease-an update. *ICMR Bulletin*. 2009; 39(1):1-20.
21. Fitriyah D. Karakterisasi bakteri penghasil asil homoseril lakton laktonase dan asilase yang diisolasi dari lahan pertanian [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor; 2015.
22. Prihatiningtias W. Mikroba endofit, sumber penghasil antibiotik yang potensial. Fakultas Farmasi UGM; 2008.
23. Holt JG, Krieg NR. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins. A Wolters Kluwer Company Philadelphia; 2000.
24. Adonizio AL, Downum K, Bennett BC, Mathree K. Anti-Quorum Sensing Activity of Medicinal Plants in Southern Florida. *J Ethnopharmacol*. 2006; 105(3): 427-435.
25. Song C, Ma H, Zhao Q, Song S, Jia Z. Inhibition of quorum sensing activity by ethanol extract of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *J Plant Pathology and Microbiology*. 2012, S7, 001.
26. Holt JG, Krieg NR. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins. A Wolters Kluwer Company Philadelphia; 2000.
27. Satwika, Taruna, Rusmana, Iman, Akhdiya, Alina. Potensi Quorum Quencher Bakteri Filosfer dan Rizosfer terhadap *Dickeya dadantii*. *J AgroBiogen*. 2018; 13. p101-110.
28. Kim AL, Park SY, Lee CH, Lee JK. Quorum quenching bacteria isolated from the sludge of a wastewater treatment plant and their application for controlling biofilm formation. *J Microbiology and Biotechnology*. 2014; 24, 1574-1582.