

## Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Bakteri Halofilik dari Bledug Kuwu, Kabupaten Grobogan

### Isolation and Morphological Characterization of Halophilic Bacteria from Bledug Kuwu, Grobogan Regency

Anindita Sabdaningsih<sup>ab</sup> dan Arina Tri Lunggani<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Departemen Sumberdaya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,  
Jl. H. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, 50275

<sup>b</sup>Laboratorium Tropical Marine Biotechnology, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,  
Jl. H. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, 50275

<sup>c</sup>Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof Soedharto, SH, Tembalang, Semarang 50275  
aninditiasabdaningsih@live.undip.ac.id

#### Abstract

Bledug Kuwu is an area that has a fairly high salt content, this is caused by sea water trapped in the sedimentation process around the 18th century. Microorganisms that are able to live in extreme areas tend to have typical metabolic activities and can be utilized in industry. The purpose of this study was to characterize microbiologically, bacteria isolated from Bledug Kuwu, Kradenan District, Grobogan Regency, Central Java. The method used in this study was isolation on LB + NaCl media with NaCl levels of 10%, 12.5% and 15%. Characterization was done by Gram staining and motility test. The results obtained in samples from 3 sources, namely teak water, salt water and mud water, obtained 8 pure isolates. The seven isolates have the ability to grow optimally at 10% NaCl concentration so that these bacteria can be classified as moderate halophilic bacteria with the majority of species being coccus, Gram positive, and non motile.

Keywords: *Bledug Kuwu, Grobogan, halophilic, bacterial morphology*

#### Abstrak

Bledug Kuwu merupakan daerah yang memiliki kadar garam cukup tinggi, hal ini disebabkan oleh adanya air laut yang terperangkap pada proses sedimentasi sekitar abad 18. Mikroorganisme yang mampu hidup di daerah ekstrim cenderung memiliki aktivitas metabolisme yang khas dan dapat dimanfaatkan dalam bidang industri. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan karakterisasi secara mikrobiologis, bakteri yang diisolasi dari Bledug Kuwu, Kecamatan Kradenan, Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolasi pada media LB+NaCl dengan kadar NaCl 10%, 12,5% dan 15%. Karakterisasi dilakukan dengan pengecatan Gram dan uji motilitas. Hasil yang diperoleh pada sampel yang berasal dari 3 sumber yaitu air jantu, air asin dan air lumpur, didapatkan 8 isolat murni. Ketujuh isolat memiliki kemampuan untuk tumbuh optimal pada konsentrasi NaCl 10% sehingga bakteri ini dapat digolongkan menjadi bakteri halofilik moderat dengan mayoritas jenis berupa bakteri kokus, Gram positif, dan non motil.

Kata kunci : *Bledug Kuwu, Grobogan, halofilik, morfologi bakteri*

#### PENDAHULUAN

Kelompok mikroorganisme yang mampu hidup pada kondisi lingkungan dengan kadar garam tinggi disebut mikroorganisme halofil. Mikroorganisme dominan yang hidup pada lingkungan ini ialah bakteri halofil moderat dan arkea (archaea) halofil ekstrem. Kushner (1985)

menyebutkan bahwa halofil moderat adalah kelompok mikroorganisme yang tumbuh optimum pada kadar NaCl 0.5 - 2.5 M. Bakteri halofil moderat memiliki banyak potensi, yaitu dalam fermentasi makanan, penghasil senyawa osmoprotektan, enzim hidrolitik, polimer, dan degradasi senyawa toksik (Ventosa et al., 1998).

Kelebihan bakteri halofilik adalah kemampuannya untuk tumbuh di kadar garam yang tinggi, sehingga mengurangi resiko kontaminasi, dan mudah tumbuh karena kebutuhan nutrisinya yang sederhana. Kelebihan ini membuat bakteri halofilik memiliki potensi yang tinggi untuk dimanfaatkan (Kushner, 1989). Pemanfaatan bakteri ini antara lain dalam proses fermentasi makanan, penghasil polimer, pendegradasi senyawa toksik, penghasil senyawa osmoprotektan, dan penghasil enzim hidrolitik seperti amilase, protease, dan nuklease yang memiliki nilai potensial digunakan sebagai enzim komersial (Ventosa et al., 1998).

Bakteri halofil moderat memiliki habitat antara lain danau berkadar garam tinggi, kolam yang dibuat manusia di ladang pemanenan garam laut, tanah berkadar garam tinggi, dan makanan yang diasinkan. Salah satu daerah berkadar garam tinggi yang ada di Indonesia ialah Bledug Kuwu yang terletak di Desa Kuwu, Kecamatan Kradenan, Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah. Daerah ini berupa kolam lumpur luas yang memiliki kadar garam lebih tinggi dari laut dan dimanfaatkan oleh penduduk setempat untuk ladang pemanenan garam. Keunikannya ialah di dalam kolam terjadi letupan lumpur secara periodik hingga dapat mencapai ketinggian beberapa meter dari permukaan kolam. Letupan tersebut dapat berbunyi seperti dentum meriam, mengeluarkan asap, gas, dan air garam (Pangastuti et al., 2002). Pada studi literatur yang dilakukan, Sabdaningsih (2019) menyebutkan bahwa Bledug Kuwu menjadi salah satu tempat yang unik karena merupakan laut purba yang terjebak dan menjadi daratan karena proses sedimentasi sekitar abad 18 (Hartoko et al., 2014).

Berdasarkan alasan tersebut maka isolasi bakteri halofilik ini perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas dan jenis bakteri yang dapat hidup di kawasan Bledug Kuwu. Mikroorganisme yang mampu hidup di daerah ekstrim cenderung memiliki aktivitas metabolisme yang khas dan dapat dimanfaatkan dalam bidang industri. Penelitian lebih lanjut mengenai bakteri halofilik di daerah Bledug Kuwu ini diperlukan untuk mengetahui karakterisasi dari bakteri tersebut sehingga dapat diterapkan untuk memenuhi kebutuhan industri. Penelitian ini bertujuan

melakukan karakterisasi mikrobiologis mikroorganisme yang diisolasi dari Bledug Kuwu, Kecamatan Kradenan, Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah

## **BAHAN DAN METODE**

### *Pengambilan Sampel*

Bledug Kuwu terletak di Kabupaten Grobogan, sekitar 50 km arah tenggara Kota Semarang, memiliki ketinggian 53 m di atas permukaan laut dengan areal seluas 45 ha. Saat pengambilan sampel dilakukan pengukuran suhu udara, suhu lumpur, pH, salinitas, posisi, serta deskripsi lokasi lainnya. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel lumpur, air jantu (air hasil rembesan pembuatan garam), dan air asin (air untuk pembuatan garam). Sampel lumpur dimasukkan ke dalam plastik, sampel air jantu, dan air asin dimasukkan ke dalam botol steril.

### *Pemurnian Isolat Bakteri Halofil*

Bakteri yang terdapat pada sampel lumpur, air jantu, dan air asin masing-masing ditumbuhkan dalam media LB (Luria Bertani *Broth*) diinkubasi pada temperatur ruang sekitar 25-28 °C dengan *shaker* 150 rpm selama 24 jam. Sebanyak 1 mL kultur dilakukan pengenceran hingga tingkat  $10^{-10}$  lalu pada tingkat  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$ , dan  $10^{-10}$  diambil aliquot sebanyak 100  $\mu$ L untuk dituang pada media LA (Luria Bertani Agar) yang diinkubasi pada temperatur ruang sekitar 25-28 °C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diamati warna, ukuran, dan bentuknya. Tiap koloni yang berbeda dimurnikan dan isolat yang telah murni disimpan pada agar-agar miring (*slant agar*).

### *Pengukuran Nilai Absorbansi*

Isolat murni ditumbuhkan pada medium LB yang dimodifikasi dengan garam konsentrasi 10%, 12,5% dan 15% selama 24 jam. Spektrofotometri dilakukan guna mengetahui pertumbuhan bakteri dalam konsentrasi garam yang berbeda melalui nilai absorbansi yang ditunjukkan oleh spektrofotometer.

### *Karakterisasi Isolat Murni*

#### *Pewarnaan gram*

Isolat murni yang optimal pada kadar garam tinggi dilakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan dengan membersihkan gelas benda dengan alkohol sehingga bebas lemak, kemudian dipanggang di atas nyala Bunsen. Preparat apusan

bakteri dibuat dengan mengambil secara aseptik 1 ose suspensi biakan bakteri halofil lalu diratakan di atas permukaan gelas benda kira-kira seluas 1 cm<sup>2</sup>. Gelas benda yang berisi apusan bakteri jika sudah dingin ditetesi dengan cat Gram A secara merata sebanyak 2 – 3 tetes dan dibiarkan selama 1 menit. Dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan. Gelas benda ditetesi dengan larutan mordan Gram B, dibiarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Tahapan selanjutnya dicuci dengan peluntur (Gram C) selama ± 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Tahapan terakhir diberi larutan cat penutup (Gram D) dibiarkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Gelas benda diamati dengan mikroskop perbesaran dari kecil hingga yang paling besar menggunakan minyak emersi. Bakteri gram positif berwarna ungu (violet) sedang bakteri gram negatif berwarna merah.

#### *Uji motilitas*

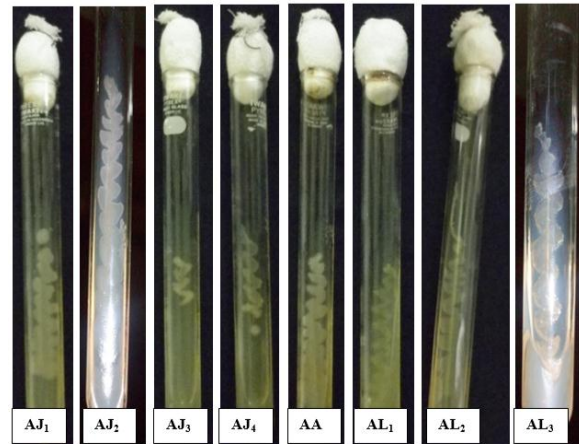
Uji motilitas dilakukan dengan menanamkan biakan pada media LA dengan cara tusuk (*stab inoculation*) sedalam ± 5mm yang diinkubasi pada temperatur ruang sekitar 25-28 °C selama 24 jam. Hasil positif (motil) ditunjukkan jika bakteri tumbuh pada seluruh permukaan media yang semi solid, hasil negatif ditunjukkan jika bakteri hanya tumbuh pada daerah tusukan saja.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel untuk penelitian ini diambil pada akhir bulan Juli tahun 2012 yang masih termasuk musim kemarau. Pangastuti et al. (2002) menyebutkan bahwa besarnya diameter Bledug Kuwu bergantung pada musim. Pada musim kemarau diameter dan rongga menyempit, letupan agak lambat karena tanah mengkristal, dan ledakan tinggi, sedangkan pada musim hujan diameter melebar dan besar ledakan tidak tinggi. Letupan berasal dari tenaga endogen yang kuat dan ketinggian terkecil ialah 40 cm. Di sekitar lokasi hampir tidak terdapat tumbuhan dan hewan, hanya terdapat rumput pada pinggiran lokasi dan hewan yang datang pada sore hari ialah burung blekok (*Ardeola palloides*). Rumput dan burung blekok diduga berperan dalam suplai bahan organik bagi mikroorganisme yang hidup di lokasi ini. Di luar

kawasan Bledug Kuwu (45ha) tidak terdapat keunikan lagi. Sumur yang digunakan oleh penduduk di sekitarnya (di luar area Bledug Kuwu) tidak terasa asin. Data lain yang diperoleh dari lokasi Bledug Kuwu ialah salinitas air 14%, salinitas air lumpur 2%, sedangkan salinitas air jantu 10%. Temperatur dari masing-masing sampel yaitu air lumpur, air asin, dan air jantu adalah 20 °C, 24 °C dan 14 °C, kelembapan udara diukur menggunakan hygrometer sling menunjukkan skala 69% RH. Suhu udara rata-rata 31-32 °C.

Ketiga sampel yang diisolasi dari daerah Bledug Kuwu diperoleh 8 isolat murni yaitu AJ1, AJ2, AJ3, AJ4, AA, AL1, AL2, AL3. Isolat AJ diambil dari sampel air jantu, isolat AA diambil dari sampel air asin yang berada dekat dengan titik letupan dan isolat AL diambil dari isolat air lumpur. Pangastuti et al. (2002) juga menjelaskan bahwa air jantu adalah air hasil rembesan pembuatan garam. Morfologi koloni dari kedelapan isolat murni ini ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Isolat Murni AJ1, AJ2, AJ3, AJ4, AA, AL1, AL2, AL3 pada *slant agar* medium Luria Bertani Agar inkubasi 24 jam pada temperatur ruang

Kedelapan isolat murni lalu diamati karakteristik morfologinya. Cappuccino dan Sherman (1992) menyebutkan bahwa karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun morfologi sel bakteri pada isolat bakteri yang telah lolos seleksi. Ketika ditumbuhkan dalam media yang bervariasi,

mikroorganisme akan menunjukkan penampakan makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya. Perbedaan ini disebut dengan karakteristik kultur, yang digunakan sebagai dasar untuk memisahkan mikroorganisme dalam kelompok taksonomik. Isolat bakteri ini diamati morfologi koloni dengan melihat bentuk koloni,

warna, tepian dan elevasi pada medium agar lempeng, agar tegak dan agar miring. Morfologi sel ditentukan dengan melihat olesan biakan yang sudah diwarnai di bawah mikroskop dan melihat bagaimana bentuk sel, sifat gram dan lain sebagainya

Tabel 1. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Bledug Kuwu

Kode Isolat	Ukuran	Pigmentasi	Karakteristik Optik	Bentuk	Elevasi	Permukaan	Tepi
AJ <sub>1</sub>	Kecil	-	<i>Opaque</i>	Teratur	Timbul	Halus mengkilap	Rata
AJ <sub>2</sub>	Kecil	-	Transparan	Tak teratur	Datar	Halus mengkilap	Berombak
AJ <sub>3</sub>	Kecil	-	<i>Opaque</i>	Teratur	Timbul	Halus mengkilap	Rata
AJ <sub>4</sub>	Kecil	-	<i>Opaque</i>	Gelendong	Timbul	Halus mengkilap	Rata
AA	Kecil	-	<i>Opaque</i>	Teratur	Timbul	Halus mengkilap	Rata
AL <sub>1</sub>	Moderat	-	Transparan	Tak teratur	Datar	Halus mengkilap	Berombak
AL <sub>2</sub>	Kecil	-	<i>Opaque</i>	Tak teratur	Timbul	Halus mengkilap	Berombak
AL <sub>3</sub>	Kecil	-	<i>Opaque</i>	Teratur	Timbul	Halus mengkilap	Rata

Tabel 2. Morfologi Sel Isolat Bakteri yang Diperoleh dari Kawasan Bledug Kuwu

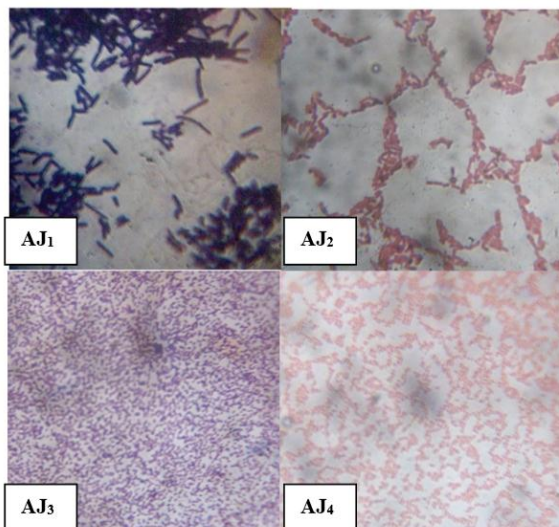
Kode Isolat	Asal	Warna Koloni	Bentuk	Bakteri Gram
AJ <sub>1</sub>	Air jantu	Putih susu	Basil	(+)
AJ <sub>2</sub>	Air jantu	Transparan	Basil	(-)
AJ <sub>3</sub>	Air jantu	Krem berlendir	Kokus	(+)
AJ <sub>4</sub>	Air jantu	Putih	Kokus	(-)
AA	Air asin	Putih susu	Basil	(+)
AL <sub>1</sub>	Air lumpur	Transparan	Kokus	(-)
AL <sub>2</sub>	Air lumpur	Krem berlendir	Kokus	(+)
AL <sub>3</sub>	Air lumpur	Kuning kemerahan	Kokus	(+)

Tabel 1 dan 2 menunjukkan morfologi isolat bakteri dari Bledug Kuwu baik morfologi koloni maupun sel. Tabel tersebut menunjukkan bahwa rata-rata koloni bakteri berukuran kecil, tidak mengalami pigmentasi, memiliki karakteristik optik yang *opaque* yaitu tidak dapat ditembus cahaya namun ada juga yang *translucent* artinya dapat ditembus cahaya sebagian. Mayoritas bentuknya teratur dan ada beberapa yang tidak teratur dan gelendong (*spindle*), memiliki elevasi yang timbul tetapi juga ada yang datar, permukaan dari semua isolat adalah sama yaitu halus mengkilap sedangkan tepiannya, ada yang rata dan berombak. Berdasarkan asal isolat, isolat murni paling banyak diisolasi dari air jantu. Hal ini disebabkan karena kondisi lingkungan dari air jantu ini cenderung lebih nyaman bagi

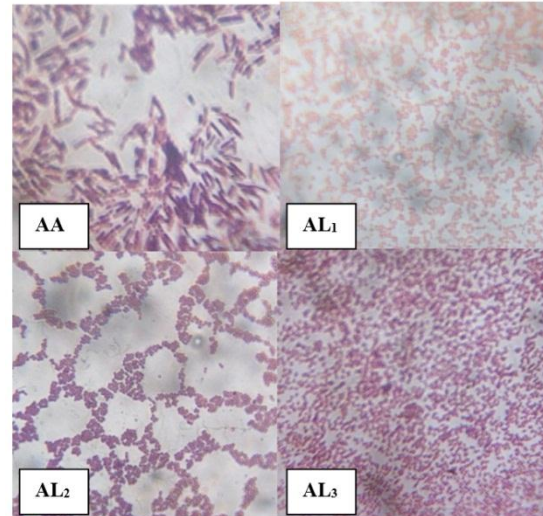
pertumbuhan mikroorganisme dengan lingkungan yang relatif lembab dan terlindungi dari paparan sinar matahari langsung. Warna koloni dari setiap isolat cenderung berbeda kecuali isolat AJ<sub>3</sub> dan AL<sub>2</sub> yang secara morfologi sel memiliki kesamaan bentuk, warna, dan gram namun secara morfologi koloni bentuk dan tepiannya berbeda. Bentuk dari bakteri asal Bledug Kuwu ini didominasi oleh bentuk kokus dan yang berbentuk basil rata-rata berkoloni membentuk diplobasil.

Berdasarkan pengecatan gram yang dilakukan pada isolat murni tersebut ditemukan bakteri gram positif dan gram negatif. Sampel yang diambil dari air jantu ditemukan bakteri gram positif yaitu isolat AJ<sub>1</sub> dan AJ<sub>3</sub> selain itu juga ditemukan bakteri gram negatif yaitu isolat AJ<sub>2</sub> dan AJ<sub>4</sub>. Sampel air asin ditemukan gram positif

yaitu isolat AA, sedangkan sampel air lumpur ditemukan bakteri gram negatif yaitu isolat AL1 dan gram positif yaitu isolat AL2 dan AL3. Isolat dari ketiga sampel tersebut paling banyak memiliki dinding sel tunggal karena tergolong dalam bakteri gram positif. Menurut Cooper (2007) bakteri gram positif memiliki sistem membran ganda di mana membran plasmanya diselubungi oleh membran luar permeabel. Bakteri ini mempunyai dinding sel tebal berupa peptidoglikan, yang terletak di antara membran dalam dan membran luarnya, sedangkan menurut Madigan (2006), bakteri gram positif hanya mempunyai membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan. Sekitar 90% dari dinding sel tersebut tersusun atas peptidoglikan sedangkan sisanya berupa molekul lain bernama asam teikhoat. Morfologi bakteri gram tersebut di bawah mikroskop ditunjukkan oleh Gambar 2 dan Gambar 3



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram Isolat AJ1, AJ2, AJ3, AJ4 perbesaran 1000x



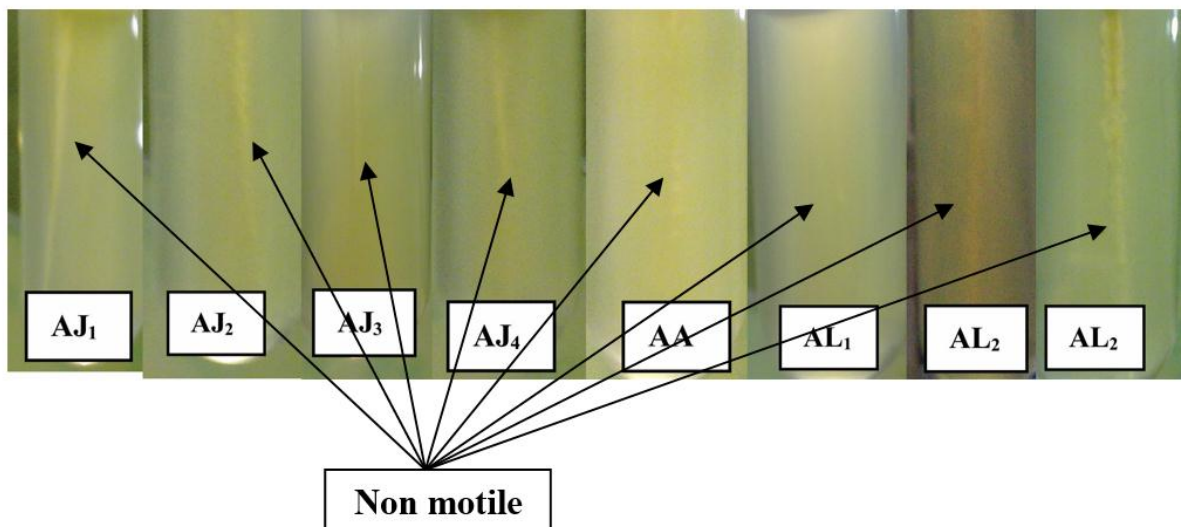
Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram Isolat AA, AL1, AL2, AL3 perbesaran 1000x

Bakteri yang diisolasi dari Bledug Kuwu ini tergolong halotoleran karena menurut Pangastuti et al. (2002) Bledug Kuwu merupakan kolam lumpur luas yang memiliki kadar garam lebih tinggi dari laut dan dimanfaatkan oleh penduduk setempat untuk ladang pemanenan garam. Guna mengetahui bahwa isolat tersebut memang berasal dari Bledug Kuwu dan tergolong halotoleran maka kedelapan isolat bakteri ditumbuhkan pada medium Luria Bertani *Broth* yang dimodifikasi dengan NaCl konsentrasi 10%, 12,5%, dan 15%. Pemilihan konsentrasi berdasarkan data awal yang diperoleh saat sampling, yaitu salinitas dari masing-masing sampel. Hasil yang diperoleh adalah dari isolat AJ1, AJ2, AJ3, AJ4, AA, AL1, AL2, AL3 hanya isolat AJ3 yang tidak mampu tumbuh pada larutan kontrol maupun kadar garam, hal ini dimungkinkan terjadi akibat bakteri yang diinokulasikan pada suhu kamar dengan agitasi 125 rpm selama 24 jam telah mati akibat ose tanpa sengaja menyentuh api bunsen. Kemampuan bakteri tersebut tumbuh pada daerah berkadar garam tinggi dibuktikan dengan pengukuran pertumbuhan isolat pada medium Luria Bertani *Broth* selama 24 jam pada suhu kamar menggunakan panjang gelombang 540 nm, hasil dari pengukuran tersebut ditunjukkan oleh Tabel 3.

Tabel 3. Nilai absorbansi isolat asal Bledug Kuwu pada medium Luria Bertani *Broth* selama 24 jam pada temperatur ruang

Kode Isolat	Kontrol	NaCl 10%	NaCl 12,5%	NaCl 15%
AJ <sub>1</sub>	0,37	0,11	0,11	0,09
AJ <sub>2</sub>	0,43	0,06	0,06	0,06
AJ <sub>3</sub>	-	-	-	-
AJ <sub>4</sub>	0,16	0,11	0,13	0,11
AA	0,41	0,11	0,07	0,08
AL <sub>1</sub>	0,77	0,34	0,33	0,33
AL <sub>2</sub>	0,72	0,47	0,44	0,41
AL <sub>3</sub>	0,39	0,24	0,17	0,14

Berdasarkan Tabel 3, bakteri yang diisolasi dari daerah Bledug Kuwu mampu tumbuh pada kadaran gerakannya pun tidak dapat dilihat dari gambar dua garam yang tinggi, meskipun pertumbuhan dari setiap dimensi sehingga *stab culture* dipilih untuk mengetahui bakteri tersebut berbeda. Dilihat dari rata-rata nilai absorbansi yang ada, bakteri tersebut tumbuh baik pada konsentrasi garam 10%. Hal ini sesuai dengan pendapat Meral & Chenk (2003) dan Ford (1993) bahwa bakteri yang mempunyai flagel, karena flagel ini merupakan alat gerak bagi sel dari Bledug Kuwu ini tergolong bakteri halofil moderat. Flagel merupakan bulu-bulu cambuk yang tumbuh optimal pada konsentrasi NaCl 10%. Hasil dari motilitasnya menggunakan *stab culture*, hal ini dipilih sebab penggunaan *hanging drop* jika tidak jeli maka



Gambar 4. Pengujian motilitas menggunakan *stab culture* dalam media Luria Bertani Agar semi solid selama 24 jam

Berdasarkan Gambar 4 didapatkan bahwa kedelapan isolat yang diisolasi dari Bledug Kuwu bersifat nonmotil atau tidak bergerak. Menurut Irianto (1996) dan Ledernberg (1992) kemampuan suatu organisme untuk bergerak sendiri disebut motilitas (daya gerak). Hampir semua sel bakteri spiral dan sebagian dari sel bakteri basil bersifat motil, sedangkan bakteri yang berbentuk kokus bersifat tidak bergerak (immotil).

### KESIMPULAN

Isolasi bakteri halofilik di daerah Bledug Kuwu berhasil mendapatkan 8 isolat murni. Isolat yang paling banyak didapatkan berasal dari sampel air jantu, isolat-isolat tersebut mampu tumbuh baik pada konsentrasi NaCl 10%. Berdasarkan karakteristik morfologi sel, bakteri yang dominan berbentuk kokus, Gram positif dan bersifat non-motil.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dan kerjasama dari Bapak Maryadi dan Mas Indra Gunawan, S.T dalam persiapan alat dan bahan

### DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J. G. and Sherman, N., 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual*. Addison Wesley Publishing Company, New York.
- Cooper GM, Hausman RE. 2007. *The Cell: A Molecular Approach*. 4th ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Fardiaz, Srikandi. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. PT. Raja Grafindo, Jakarta.
- Ford, T.E. 1993. *Aquatic Microbiology an Ecological Approach*. Blackwell Scientific Publication, Boston.
- Hartoko, A. Hariyadi, H. Suhardjo, P. Srisumantyo, I.T. 2014. *Satellite Data Spatial Based Reconstruction and Discovery of the*

*Ancient Coastaline, Coral-Fringing Reef and Mollusc Fossils at the Muria Strait, Central Java, Indonesia*. Proceeding 6th Indonesia Japan Joint Scientific Symposium. ISBN:978-979-8786-52-5.

- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganisme*. Yrama Widya, Bandung.
- Kushner DJ. 1985. *The halobacteriaceae*. Di dalam: Woese CR, Wolfe RS (ed). *The Bacteria*. Vol. 8. London: Academic Pr. hlm 171-214.
- Ledernberg, J. 1992. *Encyclopedia of Microbiology Volume 1*. Academic Press Inc., USA.
- Madigan MT, Martinko JM, Brock TD. 2006. *Brock Biology of Microorgnisms*. Pearson Prentice Hall, New Jersey.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. dan Parker, J. 2000. *Brock Biology of Microorganism*. Prentice Hall Inc., New Jersey.
- Meral, B. dan Cenk, S. 2003. *Extremely Halophilic Bacterial Communities in pereflikochisar Salt Lake in Turkey*. Turk J.Biol. 27(1): 7-22
- Pangastuti, A., D. Wahjuningrum & A. Suwanto. 2002. *Isolasi, Karakterisasi, dan Kloning Gen Penyandi  $\alpha$ -Amilase Bakteri Halofil Moderat asal Bledug Kuwu*. Hayati, 9 (1): 10-14. ISSN 0854-8587.
- Sabdaningsih, A. 2019. *MITOLOGI DAN SAINS: Bledug Kuwu di Kabupaten Grobogan*. Sabda. 13(1):7-17.