

Isolasi dan Potensi Enzim Hidrolase Bakteri Simbion *Padina* sp. dari Pantai Lengkuas Belitung

Isolation and Potential of Bacterial Hydrolase Enzymes Symbion *Padina* sp. from Lengkuas Beach Belitung

**Siti Nur Jannah , Yumna Rahmadias Hanifa , Adi Budi Utomo,
Ashar Kurnia Dian Prambodo dan Arina Tri Lunggani**

Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang
Jln Prof. Soedarto, SH, Semarang, 50275, Telp: (024)7474754; Fax (024) 76480923
Corresponding Author : nurjannah.suroso@gmail.com

Abstract

Marine organism is one of the riches in the ocean of Indonesia. The benefits of sea use for new products produced are widely used and have high market demand. Enzymes that have marine interests have unique properties and have good benefits for industry. This study aims to isolate the bacteria that have symbionts with *Padina* sp and determine the potential of the enzyme hydrolase produced by these bacteria. Isolation is done by the spread plate method. Pure isolates obtained were then tested for the potential of the enzyme hydrolase on selective media. Clear zone measurements are performed to determine which bacterial isolates are good for enzyme production. The results obtained by 6 isolates of pure bacteria, all of which include Gram negative bacteria that form bacilli. All isolates had the ability to produce different Protease, Lipase, Amylase and Cellulase enzymes. The enzymes obtained from these symbiotic bacteria are expected to be used for industrial-scale production in Indonesia. In addition, the presence of this symbiont bacteria is able to reduce the level of exploitation of *Padina* sp and contribute to preserving the marine ecosystem.

Keywords: *Padina* sp, Symbiotic Bacteria and Hydrolase Enzymes

Abstrak

Organisme laut merupakan salah satu kekayaan yang berada di perairan laut Indonesia. Pemanfaatan organisme laut bertujuan untuk menghasilkan suatu hal baru seperti produk metabolisme yang telah banyak digunakan dan memiliki permintaan pasar yang tinggi yaitu enzim. Enzim yang berasal dari organisme laut memiliki sifat yang unik dan memiliki manfaat yang baik bagi bidang industri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri yang bersimbion dengan *Padina* sp dan mengetahui potensi enzim hidrolase yang dihasilkan bakteri tersebut. Isolasi dilakukan dengan metode *spread plate*. Isolat murni yang didapat kemudian di uji potensi enzim hidrolase pada media selektif. Pengukuran zona bening dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri yang berpotensi baik untuk produksi enzim. Hasil penelitian diperoleh 6 isolat bakteri murni yang semuanya termasuk bakteri Gram Negatif yang berbentuk basil. Semua isolat memiliki kemampuan menghasilkan enzim Protease, Lipase, Amilase dan Selulase yang berbeda-beda. Enzim yang didapatkan dari bakteri yang bersimbion ini diharapkan dapat digunakan untuk produksi enzim skala industri di Indonesia. Selain itu, dengan adanya bakteri simbion ini mampu menurunkan tingkat eksploitasi terhadap *Padina* sp dan turut melestarikan ekosistem perairan laut.

Kata kunci : *Padina* sp, Bakteri Simbion dan Enzim Hidrolase

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki potensi kekayaan laut yang tinggi. Dengan adanya perkembangan ilmu pengetahuan seperti ilmu bioteknologi, akan membuka jalan bagi perkembangan penelitian dan pengetahuan tentang pemanfaatan kekayaan laut Indonesia. Pemanfaatan organisme laut ini bertujuan untuk mendapatkan produk hasil metabolisme, bioproses, maupun enzim yang spesifik (Djohan, 2012). Pemanfaatan enzim di dunia industri berkembang

semakin pesat. Dibutuhkan sumber enzim yang stabil untuk industri, yaitu yang mudah ditemukan dan menghasilkan enzim dengan kualitas yang baik. Mikroorganisme merupakan salah satu pilihan yang diambil untuk mendapatkan hasil metabolisme berupa enzim, terutama bagi mikroorganisme yang berasosiasi dengan organisme lain yang diketahui memiliki banyak manfaat.

Enzim merupakan zat kimia yang dihasilkan dari proses metabolisme primer organisme

khususnya pada mikroorganisme seperti bakteri. Enzim berperan sebagai biokatalisator yang dapat mempercepat proses reaksi kimia yang ada di dalam tubuh tanpa ikut bereaksi. Enzim yang umum dihasilkan oleh mikroorganisme yaitu selulase, esterase, lipase, amilase, protease, dan masih banyak lagi (Negara B.F.S.P, *et al.*, 2016).

Enzim protease merupakan enzim yang berperan dalam reaksi pemecahan protein. Protease berfungsi menghidrolisis ikatan peptide menjadi oligopeptida dan asam amino (Maziah, 2009). Pemanfaatan enzim protease dalam bidang industri adalah dalam pembuatan makanan, industri farmasi, dan dalam bidang bioremediasi. (Nascimento dan Martin, 2006). Aktivitas proteolitik dapat dilihat dengan mengukur zona bening di sekitar media pertumbuhan selektif bakteri yang telah ditambahkan skim milk agar. Zona bening yang muncul disekitar bakteri menunjukkan bahwa protein yang terkandung dalam susu skim milk tersebut telah terhidrolisis oleh aktivitas enzim protease yang senyawa yang lebih sederhana yaitu peptida dan asam amino yang sifatnya terlarut dalam media (Roslina, 2009).

Enzim Lipase atau disebut juga triasilgliserol hydrolase merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam bidang bioteknologi. Enzim ini berperan dalam bidang industri makanan, susu, detergen, dan farmasi. Beberapa jenis bakteri penghasil enzim lipase adalah *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Burkholderia* (Gupta, 2004). Uji hidrolisa lemak bertujuan untuk mendeteksi keberadaan enzim lipase. Enzim lipase merupakan eksoenzim yang memiliki kemampuan untuk menguraikan lemak menjadi asam lemak dan gliserol pada suatu organisme. Suatu mikroorganisme dikatakan memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim amilase bila setelah dibiakkan pada media selektif mengandung lemak dan diberi larutan CuSO_4 jenuh akan muncul warna hijau mengkilap pada media (Laboffe, 2010).

Enzim amilase memiliki kemampuan untuk dapat menghidrolisis padi menjadi molekul karbohidrat yang lebih sederhana seperti maltosa dan glukosa. Enzim amilase banyak dimanfaatkan dalam industri roti, detergen, lem, tekstil, bahkan dalam industri obat. Enzim amilase pada manusia dihasilkan oleh pankreas dan kelenjar ludah (Reddy *et al.*, 2003 dalam Ningsih *et al.*, 2012). Pengujian enzim amilase dilakukan dengan penambahan larutan Iodium pada larutan pati atau medium selektif bakteri. Warna biru-hitam yang dihasilkan menunjukkan bahwa terdapat

kandungan pati pada media. Sebaliknya, bila media tersebut menunjukkan warna orange atau kuning maka pada media tersebut tidak terdapat kandungan pati, atau pati telah dihidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti disakarida dan monosakarida oleh enzim amilase (Ariandi, 2016).

Enzim Selulase banyak digunakan dalam industri kertas untuk *bleaching*, *drinking* enzimatis, mengurangi pemakaian klorin dan meningkatkan efektivitas pengeringan (Agustini L., *et al.*, 2017). Selulase (EC 3,2,1,4) merupakan kompleks enzim yang tersusun atas beberapa enzim yang bekerja bertahap atau bersama-sama dalam menguraikan glukosa dengan cara menghidrolisis ikatan β -1,4 pada selulosa menjadi primer yang lebih sederhana seperti glukosa (Budi K.L., *et al.*, 2018). Enzim Selulase terdiri atas tiga tipe enzim utama yaitu kompleks endo β -1,4-glukanase (CMCase, Cx selulase endoselulase, atau carboxymethyl cellulose), kompleks glukanase (aviselase, selobihidrolase, C1 selulase), dan β -1,4-glukosidase atau selobiase (Murtiyaningsih H. dan M. Hazmi, 2017).

Pemanfaatan organisme laut untuk memenuhi kebutuhan produksi manusia dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan organisme tersebut, hal ini juga dapat berpengaruh pada kualitas lingkungan dan ekosistem perairan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk dapat mengisolasi bakteri yang berasosiasi dengan organisme laut dan menguji aktivitas enzimatisnya agar eksploitasi terhadap organisme laut dapat dikurangi namun tetap mendapatkan manfaat dari organisme laut tersebut dari bakteri yang berasosiasi dengannya..

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2019 sampai Oktober 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Semarang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, *microwave*, autoklaf, *laminar air flow*, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer, batang pengaduk, jarum ose bulat, mortar dan pastle, pipet ukur, timbangan analitik, mikroskop, pH *stick*, termometer, *refractometer*, inkubator, gelas benda, alat tulis, penggaris, *spreader*. Bahan yang digunakan yaitu Nutrient Agar (NA), Skim Milk Agar (SMA), pepton, *Padina* sp, air laut, aquades, Pewarna Gram,

minyak zaitun, CuSO_4 , *Tween 80*, amilum, CMC, dan Congo red.

Isolasi Bakteri

Sampel *Padina* sp. digerus menggunakan mortar dan pastle steril kemudian ditimbang sebanyak 13 gr. Sampel yang sudah digerus dimasukkan kedalam campuran 200 ml air laut steril dan 4 gr pepton untuk *enrichment* atau perbanyak jumlah bakteri. Sampel yang telah di *enrichment* dilakukan pengenceran secara bertingkat sebanyak 4 kali pengenceran dengan memasukkan 1 ml sampel dari pengenceran sebelumnya dalam air laut steril 9 ml. Masing-masing pengenceran diambil 1 ml dan kemudian di spread pada media Nutrient agar. Air laut yang berada pada botol sampel juga dilakukan *enrichment* kemudian diambil 1 ml, dan dispread pada cawan petri berisi media NA. Masing-masing pengenceran ditanam sebanyak 2 kali agar didapatkan hasil yang sesuai. Cawan yang telah berisi sampel kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan diamati setiap 24 jam. Isolat yang telah didapatkan kemudian distreak pada media NA untuk mendapatkan isolat bakteri yang murni dan baik. Isolat bakteri yang tumbuh kemudian ditumbuhkan pada media NA dalam cawan petri dengan menggunakan metode streak agar didapatkan koloni bakteri tunggal. Proses penanaman dengan metode streak ini dilakukan hingga 2 kali untuk mendapatkan koloni tunggal dari bakteri tersebut.

Uji Gram

Isolat bakteri yang telah didapatkan dilakukan pengujian Gram dengan menggunakan pewarna Gram untuk mengetahui jenis bakteri berdasarkan pewarnaan Gram, mengetahui bentuk sel serta mengetahui kemurnian dari bakteri yang telah diisolasi.

Uji Enzim Amilase

Uji Amilase dilakukan dengan membuat media pertumbuhan bagi bakteri. Sebanyak 2 gr NA dan 0,2 gr pati dilarutkan dalam 100ml air laut steril kemudian dihomogenkan dengan menggunakan microwave. Setelah homogen, media di sterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121 °C. Media yang sudah disterilisasi kemudian dituang pada cawan petri steril secara aseptis. Bakteri yang telah didapatkan kemudian diambil sebanyak 1 ose kemudian disentukan pada media pertumbuhan yang telah memadat. Setelah itu diinkubasi dalam suhu 35 °C selama 48 jam. Setelah bakteri tumbuh

maka masing-masing cawan diberi larutan gram B kurang lebih sebanyak 10 tetes kemudian diratakan. Ditunggu kurang lebih selama 5 menit untuk mengamati perubahan yang terjadi.

Uji Enzim Protease

Uji enzim protease bakteri simbion *Padina* sp dilakukan dengan cara Isolat bakteri yang diperoleh dari *Padina* sp ditumbuhkan pada media Skim Milk Agar (SMA). Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 – 48 jam. Kemampuan proteolitik dari bakteri *Padina* sp yang ditumbuhkan pada media SMA ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening yang muncul di sekitar koloni yang terbentuk. Media SMA dibuat dengan cara bubuk skim milk 2 gr dilarutkan dalam 40 ml air laut steril. Kemudian di pasturisasi pada suhu 63 °C selama 3 hari. Media Agar sebanyak 2,4 gr dilarutkan dalam 60 ml air laut steril kemudian di sterilisasi menggunakan autoklaf 121°C selama 15 menit. Kemudian dalam keadaan hangat media Agar dicampurkan dengan media skim milk hingga homogen.

Uji Enzim Lipase

Uji enzim lipase bakteri simbion *Padina* sp. media NA dibuat dengan melarutkan media NA *ready for use* sebanyak 2 gram dilarutkan dalam 100 ml air laut.. Media kemudian ditambahkan minyak zaitun atau *olive oil* untuk menghasilkan emulsi dari media dengan mengocok secara kuat. Bakteri murni yang didapat dari alga diinokulasikan pada medium dengan metode *streak*. Mikroba kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Biakan yang telah tumbuh lalu ditambahkan reagen berupa CuSO_4 sebanyak 8-10 ml kemudian dibiarkan selama 10-15 menit. Isolat kemudian dibilas dengan air mengalir untuk menghilangkan tembaga sulfat. Peristiwa lipolisis ditandai dengan adanya zona berwarna hijau mengkilap

HASIL DAN PEMBAHASAN

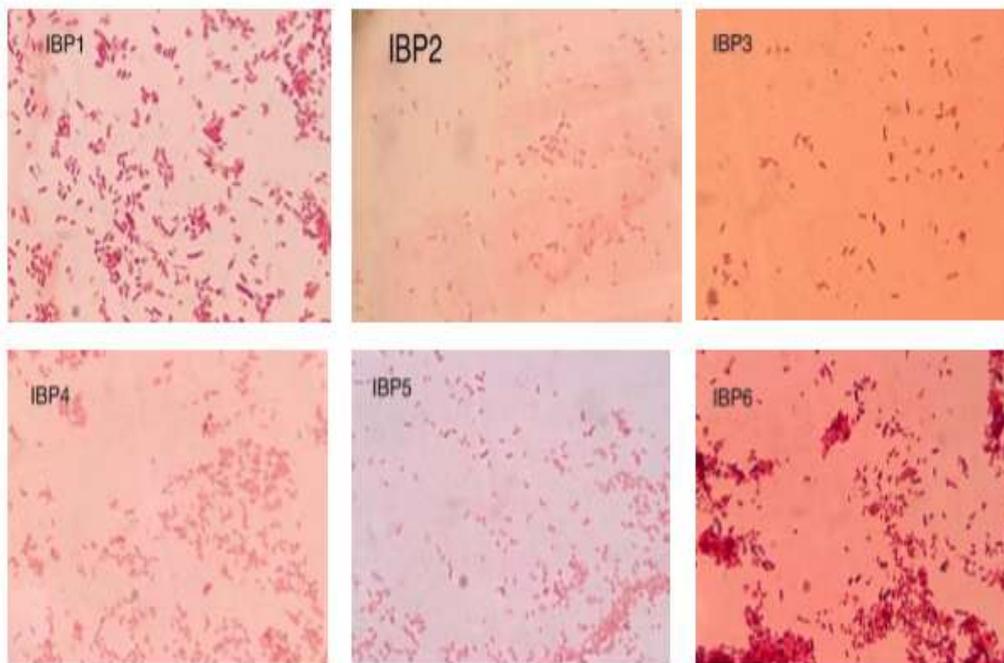
Isolasi merupakan proses pemindahan organisme dari habitat asli ke dalam media untuk menumbuhkannya sebagai biakan murni. Tujuan isolasi bakteri menurut Tortora (2010) adalah untuk mendapatkan bakteri yang diinginkan dengan cara mengambil sampel mikroba dari lingkungan yang ingin diteliti. Dari sampel tersebut kemudian dikultur/dibiakkan dengan menggunakan media universal atau media selektif, tergantung tujuan yang ingin dicapai. Berdasarkan penelitian diperoleh 6 isolat murni bakteri simbion *Padina* sp. yaitu IBP 1, IBP2, IBP3, IBP4 IBP5,

dan IBP6 (IBP = Isolat Bakteri Padina) dengan karakter morfologi yang ditunjukkan pada Tabel 1
Tabel 1. Karakter Morfologi Bakteri Simbion *Padina* sp.

Berdasarkan tabel 1, semua isolat termasuk

kelompok bakteri Gram Negatif dan berbentuk basil. Hal ini ditandai dengan warna merah pada sel bakteri setelah dilakukan pewarnaan Gram seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.

No	Kode isolat	Bentuk koloni	Warna koloni	Bentuk sel	Jenis Gram
1.	IBP 1	Bulat	Putih susu	Basil	Negatif
2.	IBP 2	Bulat	Putih susu	Basil	Negatif
3.	IBP 3	Bulat	Putih susu	Basil	Negatif
4.	IBP 4	Bulat	Putih susu	Basil	Negatif
5.	IBP 5	Bulat	Putih susu	Basil	Negatif
6.	IBP 6	Bulat	Putih susu	Basil	Negatif



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram yang diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x

UJI POTENSI ENZIM PROTEASE

Protease adalah enzim yang berfungsi menghidrolisis ikatan peptida menjadi oligopeptida dan asam amino (Marziah, 2009). Kemampuan protease dari bakteri *Padina* sp yang ditumbuhkan pada media *Skim Milk Agar* (SMA) ditunjukkan dengan terlihatnya zona bening yang muncul di sekitar koloni yang terbentuk. Zona bening yang terbentuk mengindikasikan bahwa protein yang terkandung dalam susu skim telah

dihidrolisis oleh enzim protease yang dihasilkan oleh isolat bakteri menjadi senyawa sederhana yaitu peptida dan asam amino yang sifatnya terlarut dalam media (Rosliana, 2009). Bakteri yang menghasilkan zona bening dapat dilihat pada Gambar 2A.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, semua isolat menghasilkan enzim protease yang masing-masing berbeda kemampuannya. Hal ini dapat diketahui dari besarnya diameter zona bening yang dihasilkan. Semakin besar zona

bening yang dihasilkan artinya banyak enzim yang dihasilkan oleh isolat bakteri. Sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut memiliki potensi yang baik untuk memproduksi protease. Berdasarkan Tabel 2. Isolat yang memiliki zona bening terbesar adalah IBP 1 yaitu sebesar 0,5 cm dan isolate yang diameter zona beningnya terkecil adalah IBP 2 dan IBP 5 yaitu sebesar 0,3 cm

LIPASE

Enzim lipase merupakan eksoenzim yang memiliki kemampuan untuk menguraikan lemak menjadi asam lemak dan gliserol pada suatu organisme (Laboffe, 2010). Menurut Harigan (1998) reaksi lipolitik yang terjadi pada uji Lipase ini ialah mikroba menghasilkan enzim lipase yang menguraikan lemak menjadi asam lemak dan gliserol Media yang telah dibuat kemudian diinokulasikan bakteri dari alga *Padina* sp lalu diinkubasi. Bakteri yang telah tumbuh pada media kemudian ditambahkan reagen berupa CuSO_4 . Penambahan Reagen CuSO_4 menimbulkan zona berwarna hijau mengkilap. Warna hijau ini dapat dilihat pada Gambar 2B. Berdasarkan penelitian dari 6 isolat bakteri yang di uji IBP 1 dan 4 tidak menghasilkan Lipase, hal ini ditandai dengan tidak ada perubahan warna saat di tetesi CuSO_4 . Sedangkan IBP 2,3,5,6 menghasilkan enzim Lipase hal ini ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau.

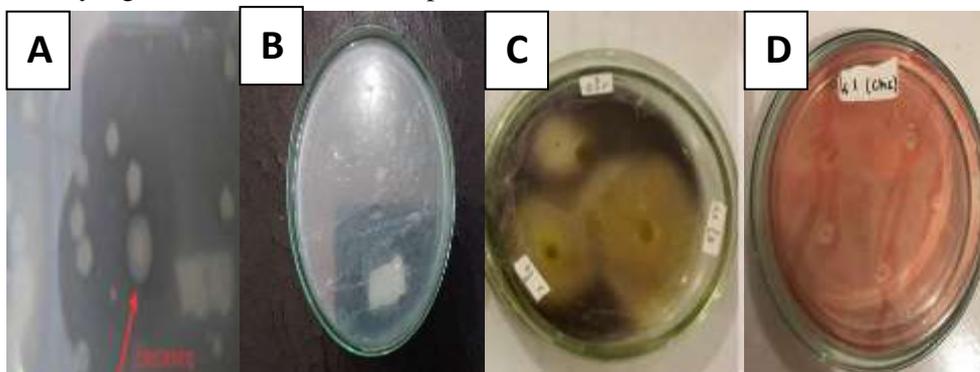
AMILASE

Enzim Amilase merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk memutuskan ikatan glikosida pada amilum (Purnawan A, et al., 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan hasil yang positif dari bakteri yang menghasilkan enzim amilase ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang mengindikasikan bahwa pati pada daerah tersebut telah dihidrolisis oleh aktifitas bakteri tersebut, sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan media yang berwarna biru kehitaman yang menandakan bahwa pada

daerah tersebut pati belum terhidrolisis (Gambar 2C). Menurut Silaban S dan Simamora P (2018), Penambahan larutan Iodin bertujuan untuk mendeteksi keberadaan enzim amilase pada sampel. Larutan Iodin akan diikat oleh molekul pati dengan menempatkan iodine dalam struktur spiral pati, hal ini akan menyebabkan kompleks tersebut berwarna biru. Zona bening yang muncul pada media mengindikasikan bahwa bakteri tersebut menghasilkan enzim amilase yang akan menghidrolisis pati pada media dan iodine tidak dapat terikat. Media yang berwarna biru kehitaman menandakan bahwa pati pada daerah tersebut belum terhidrolisis dan dapat mengikat molekul iodine atau bakteri tidak memiliki aktifitas enzim amilase. Berdasarkan penelitian dari 6 isolat IBP 1 tidak menghasilkan enzim amilase sedangkan IBP 2,3,4,5,dan 6 menghasilkan enzim amilase. Berdasarkan tabel 2, isolat bakteri yang memiliki diameter zona bening terbesar adalah IBP 2 sebesar 3,7 cm dan isolat yang diameter zona beningnya terkecil adalah IBP 6 sebesar 1,03.

SELULASE

Selulase adalah enzim yang dapat menghidrolisis selulosa menjadi polimer yang lebih sederhana seperti sukrosa ataupun glukosa. Menurut Nenci, (2012) selulase merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari beberapa enzim yang berkerja bertahap atau bersama-sama menguraikan selulosa menjadi glukosa dengan cara menghidrolisis ikatan β -1,4 pada selulosa. Indikator potensi bakteri selulase ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri. Berdasarkan penelitian yang dilakukan dari 6 isolat bakteri semuanya menghasilkan enzim selulase. Berdasarkan tabel 2 isolat bakteri yang memiliki diameter zona bening terbesar adalah IBP 5 sebesar 1,9 cm dan isolat yang diameter zona beningnya terkecil adalah IBP 2 sebesar 0,4 cm.



Gambar 2. Hasil Uji Potensi Bakteri Simbion *Padina* sp penghasil enzim A. Enzim Protease, B. Enzim Lipase, C. Enzim Amilase, D. Enzim Selulase

Tabel 2. Uji Potensi Bakteri Penghasil Enzim berdasarkan Zona Bening yang dihasilkan

No	Kode Isolat	Diameter Zona Bening Bakteri		
		Protease (cm)	Amilase (cm)	Selulase (cm)
1.	IBP 1	0,5	0	0,5
2.	IBP 2	0,3	3,7	0,4
3.	IBP 3	0,4	3,5	0,5
4.	IBP 4	0,4	3,3	0,5
5.	IBP 5	0,3	3,33	1,9
6.	IBP 6	0,4	1,03	0,8

KESIMPULAN

Berdasarkan isolasi yang telah dilakukan dari bakteri symbion *Padina* sp didapatkan 6 isolat bakteri murni. Hasil pewarnaan gram dari 6 isolat bakteri tersebut menunjukkan bahwa semua isolat termasuk bakteri gram negatif yang berbentuk basil. Dari 6 isolat yang didapat masing-masing memiliki kemampuan menghasilkan enzim Protease, Lipase, Amilase dan Selulase yang berbeda-beda.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini L.A, R.S.B. Irianto, M.Turjaman, S.A. Faulina, R. Ariantari, S. Stephandra, H. Yuniar, Aryantom Najmulah, dan A. Yani. 2017. Pengaruh Kondisi Kultur pada Aktivitas Selulase Isolat *Pycnopus* sp. dan *Phlebiopsis* sp.
- Ariandi, 2016. Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-amylase) dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa pada Pati menjadi Glukosa. *Jurnal Dinamika*, April 2016 halaman 74-82 ISSN: 2087-7889.
- Budi K.L, Wijanarka, dan E. Kusdiyantini. Aktivitas Enzim Selulase yang Dihasilkan Oleh Bakteri *Serratia marcescens* pada Substrat Jerami. *Jurnal Biologi*, Volume 7 no 1, Januari 2018.
- Djohan, Apridah Cameliawati. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Manolitik Laut dari Pulau Pari. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor (IPB).
- Gupta, N. Gupta, P. Rathi. 2004. Isolation of Microbia Hydrolitic Enzym. *Journal Appl Microbiol Biotechnol*, 64 (2004) 763-781.
- Harrigan, F., W. 1998. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Bridgen; Academic Press.
- Laboffe, Michael J & Burton E Pierce. 2010. *Microbiology Laboratory Theory & Applications United State: Morton Publishing Company*.
- Maziah, Atik Zaidatul, 2009. Produksi dan Karakterisasi Protease Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Plantungan – Kendal. *Tugas Akhir II*. Universitas Negeri Semarang.
- Murtiyaningsih H. dan M. Hazmi. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritop Volume 15, Vol. 2, ISSN 1693-2877*.
- Nascimento WCA, M. M. 2006. *Studies on Stability of Protease from Bacillus sp. And its Compatibility with Comercial Detergen* 37: 307-311. *Brazilia Microbiol*, 37: 307-311.
- Negara B.F.S.P, M. Kawaroe, dan D. Setyaningsih, 2016. Identifikasi Potensi Enzim Agarase yang Dihasilkan Oleh Kapang Hasil Isolasi dari *Caulerpa* sp. *Jurnal Enggano DRAMA* volume 1 Nomor 1.
- Nenci. 2012. Isolasi dan karakterisasi selulose dari *Trichoderma viride* strain TO51 dengan substrat jerami. Skripsi. UI Press, Jakarta.
- Purnawan. A, Capriyanti. Y, Kurniatin. P A, Rahmani. N, dan Yopi. 2015. Optimasi Produksi Enzim Amilase Bakteri Laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*). *Jurnal Biologi Indonesia* 11 (2) : 215-224.
- Reddy NS, Nimmagadda A, dan Rao KR, 2003 dalam Ningsih DR, U Rastuti, dan R Kamaludin. 2012. Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. *Prosiding Seminar Nasional ISBN: 978-979-9204-79-0*.
- Roslina, M., 2009, Aktivitas Enzim Protease Isolat Asal Indonesia pada Berbagai Substrat Limbah Pertanian, *Skripsi*, FMIPA, IPB, Bogor.
- Silaban S dan Simamora P, 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Amilase dari Sampel Air Tawar Danau Toba. *Edu Chemia-Jurnal Kimia dan Pendidikan*

Volume 3 Nomer 2 e-ISSN:2502-4787.
Tortora, G. J., Funke, B. R. & Case, C. L., 2010,
Microbiology an introduction 10th edition,

Pearson edition, Inc., Publishing as Pearson
Benjamins Cummings, San Francisco, 1301
Sansome