

# Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Pepaya (*Carica Papaya* L.) Dan Uji Aktivitas Enzim Amilase

Ledy Ginting<sup>1</sup>, Wijanarka<sup>1</sup>, Endang Kusdiyantini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. H. Soedarto, SH Tembalang, Semarang, Indonesia  
E-mail: [wijanarka1810@gmail.com](mailto:wijanarka1810@gmail.com)

## ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme menguntungkan yang berinteraksi dengan tanaman tanpa menyebabkan gangguan atau kerusakan pada tanaman tersebut. Penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit tertentu dapat memproduksi metabolit sekunder yang memiliki efek bagi kesehatan, terutama bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman Pepaya (*Carica Papaya* L.). Bakteri amilolitik merupakan salah satu bakteri yang berpotensi menghasilkan enzim amilase (EC 3.2.1.1) yang berperan penting dalam industri. Bakteri endofit diisolasi dengan menggunakan media Nutrien Agar 1% pati (*soluble starch*) dan pengukuran indeks amilolitik dilakukan dengan menggunakan pereaksi Lugol's. Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan metode streak pada media Nutrien Agar. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh diamati ciri-ciri morfologi dan dilakukan pewarnaan Gram bakteri. Aktivitas amilase diukur menggunakan metode Dinitrosalisilic acid (DNS). Hasil dari penelitian ini telah ditemukan jumlah bakteri endofit yang berhasil diisolasi sebanyak 19 isolat. Terdapat 5 isolat yang memiliki zona bening tertinggi yaitu isolat AE4, BE2, DE6, TD2, dan TD5. Aktivitas enzim amilase tertinggi sebesar 0.225 U/mL dihasilkan pada isolat TD5.

**Kata kunci** : *Isolasi, Bakteri Endofit, Enzim Amilase, Tanaman Pepaya*

## ABSTRACT

Endophytic bacteria are beneficial microorganisms that interact with plants without causing disturbance or damage to them. Research shows that certain endophytic bacterial isolates can produce secondary metabolites that have health effects, especially endophytic bacteria isolated from the Papaya plant (*Carica Papaya* L.). Amylolytic bacteria is one of the bacteria that has the potential to produce amylase enzymes which play an important role in industry. Endophytic bacteria were isolated using Nutrient Agar media 1% starch (*soluble starch*) and amylyolytic index measurements were carried out using Lugol's reagent. Isolation of endophytic bacteria was carried out by streak method on Nutrient Agar media. The cultures were incubated at 37°C for 48 hours. The morphological characteristics of the growing colonies were observed and Gram stained was carried out. Amylase activity was measured using the Dinitrosalisilic acid (DNS) method. The results of this study found 19 isolates of endophytic bacteria were isolated. There were 5 isolates that had the highest clear zone, namely isolates AE4, BE2, DE6, TD2, and TD5. The highest amylase enzyme activity of 0.225 U / mL was produced in TD5 isolates.

**Keyword** : *Isolation, Endophytic Bacteria, Enzyme Amylase, Papaya Plants.*

## 1. Pendahuluan

Endofit merupakan mikroorganisme yang menghabiskan seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya di dalam tanaman dan tidak menyebabkan gejala tertentu pada tanaman inangnya (Hallman *et al.*, 1997). Komunitas endofit memberikan keuntungan terhadap tanaman inangnya seperti melindungi tanaman melawan herbivora, serangga, atau patogen, serta mampu menstimulasi pertumbuhan

tanaman. Berbagai penelitian tentang komunitas bakteri yang berasosiasi dengan tanaman sebagai endofit telah berkembang cukup pesat. Salah satu kontribusi dari bakteri endofit yaitu sebagai penghasil enzim.

Bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai jenis tumbuhan mulai dari monokotil hingga dikotil. Isolasi bakteri endofit telah dilakukan lebih dari 20 tahun yang lalu dan setiap bagian tanaman ditemukan adanya mikroba endofit, baik pada daun, akar maupun batang. Isolasi

bakteri endofit dapat memproduksi protein dan enzim yang penting bagi fungsi biologis sebagai metabolit sekunder dan bermanfaat bagi tanaman inang (Zhang *et al.*, 2006). Menurut Strobel dan Daisy (2003), saat ini terdapat sekitar 300.000 spesies tanaman di dunia yang menjadi inang dari satu atau lebih bakteri endofit. Isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari akar tanaman *chaya* telah diketahui memiliki potensi bioaktif metabolit sekunder (Fitriani *et al.*, 2015). Enzim dari mikroorganisme lebih menguntungkan dan produksinya lebih cepat dibandingkan enzim yang berasal dari tanaman dan hewan. Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang unggul dalam usaha produksi enzim (Pricilia *et al.*, 2018). Berdasarkan kemampuan bakteri endofit yang sangat besar dan keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia ini menjadikan prospek penelitian tentang bakteri endofit dari tumbuhan yang ada di Indonesia sangat besar. Indonesia merupakan Negara tropis yang memiliki beraneka ragam tanaman diseluruh Nusantara. Salah satunya adalah tanaman Pepaya yang dikenal dan disukai oleh hampir seluruh masyarakat. Pepaya merupakan salah satu komoditas tanaman yang memiliki banyak fungsi dan manfaat (Sujiprihati dan Suketi, 2009). Kebutuhan yang tinggi terhadap enzim amilase dan pemakaiannya yang luas pada beberapa bidang industri menyebabkan perlu dicari sumber daya alam yang potensial untuk menghasilkan enzim amilase. Salah satu bahan yang memiliki potensi untuk diisolasi dan dieksplorasi sebagai sumber enzim amilase adalah tanaman pepaya (*carica papaya L.*). Mengingat potensinya sebagai tanaman yang hidup di daerah tropis sangat besar dan masih sangat sedikit informasi mengenai bakteri endofit penghasil enzim amilase dari tanaman pepaya serta belum banyak terdapat penelitian mengenai bakteri endofit pepaya, maka penelitian tentang bakteri endofit pepaya sebagai penghasil enzim ekstraselular penting untuk dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengeksplorasi kemampuan aktivitas enzim amilase dari bakteri endofit tanaman pepaya.

## **1. Metode**

### **1.1 Pengambilan Sampel**

Sampel akar, batang, tangkai daun dan daun diambil dari tumbuhan Pepaya di Kelurahan Menoreh, Kecamatan Salaman,

Kota Magelang, kemudian dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan dalam box. Selanjutnya sampel langsung dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika untuk diisolasi.

### **1.2 Isolasi bakteri endofit *carica papaya***

Bagian tanaman pepaya yang digunakan adalah daun, batang, tangkai daun dan akar dalam kondisi segar. Sampel tanaman dibersihkan dengan air mengalir kemudian dipotong-potong sepanjang 1-3 cm dan dipisahkan menurut bagian tanamannya. Potongan sampel direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, larutan natrium hipoklorit 5,25% selama 2 menit, dan potongan bagian tanaman dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Potongan sampel diiris kemudian ditanam dalam media nutrient agar (NA) yang mengandung nistatin. Isolasi bakteri dilakukan dengan teknik direct planting, yaitu dengan meletakkan potongan bagian tanaman yang sudah kering (4-5 potongan) di atas permukaan Nutrien Agar Plate (NAP). Seluruh medium yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Morfologi koloni yang penampakan, warna, dan ukurannya sama dianggap isolat yang sama. Setiap koloni representatif dipisahkan menjadi isolat-isolat tersendiri (Suciati *et al.*, 2011).

### **1.3 Pemurnian bakteri endofit**

Bakteri endofit yang tumbuh pada media NA, dimurnikan satu per satu pada media NAP dengan metode *streak* pada suhu 37°C selama 24 jam, sampai diperoleh koloni murni. dan koloni murni kemudian dipindahkan ke agar miring dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap isolat bakteri endofit dibuat dua pada agar miring NA, masing-masing dipergunakan sebagai *stock culture* dan *working culture* (Rosana, 2001).

### **1.4 Karakteristik bakteri endofit**

Isolat bakteri endofit yang telah murni diidentifikasi secara makroskopis, dilakukan dengan mengamati morfologi dan pertumbuhan koloni. Pengamatan yang dilakukan meliputi warna koloni, bentuk koloni, bentuk tepi dan bentuk permukaan (Mutmainnah *et al.*, 2008).

**1.5 Karakterisasi mikroskopis** dilakukan pengamatan dengan metode pewarnaan Gram, yaitu menyiapkan preparat uji

dengan mengoleskan bakteri diatas kaca objek yang kemudian difiksasi dengan cara dilewatkan diatas nyala api sebentar untuk melekatkan bakteri. **Skrining bakteri endofit**

Satu ose bakteri berumur 48 jam yang ditumbuhkan pada NA agar miring dipindahkan ke media NA agar 1% Pati dan diinkubasi sampai ada pertumbuhan. Setelah 48 jam inkubasi pada suhu 37°C, media selektif yang telah ditumbuhi bakteri tersebut diuji dengan meneteskan larutan iodin. Isolat bakteri endofit yang memiliki enzim amilase maka akan menunjukkan zona bening disekitar koloni bakteri, yang kemudian diukur dengan jangka sorong dengan rumus indeks amilase yaitu diameter zona bening dibagi diameter koloni, sedangkan pada bakteri yang tidak memiliki aktivitas amilase maka media disekitarnya akan terlihat berwarna biru.

### 1.6 Pembuatan inoculum

Inokulum dibuat dengan cara memindahkan isolat bakteri yang telah diremajakan pada media NA miring yang mampu menghasilkan enzim amilase dari medium agar miring menggunakan jarum ose sebanyak 2 ose secara aseptis ke dalam 50 mL medium inoculum Nutrient Broth. Larutan diinkubasi dalam shakerbath 150 rpm selama 24 jam pada suhu dan pH sesuai habitat asal hingga inoculum menjadi keruh.

### 1.7 Kurva Pertumbuhan bakteri amilolitik

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan membuat stok inoculum masing-masing isolat terpilih dengan memindahkan 10% (v/v) inoculum dalam 100 ml medium Nutrient Broth 1% Pati kemudian 3 ml dari masing-masing isolat diambil tiap 4 jam sekali sampai pada fase stasioner dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spectrophotometer uv-vis sehingga didapatkan nilai OD (Optical Density).

### 1.8 Produksi Amilase

Produksi amilase dilakukan dengan memindahkan 10% (v/v) biakan bakteri dari medium inoculum ke dalam 30 mL medium produksi. Medium produksi yang sudah ditanami bakteri dari medium inoculum selanjutnya dikocok dengan shakerbath (150

rpm) selama 48 jam waktu produksi optimum pada suhu 35°C. Biakan bakteri dari medium produksi kemudian dipanen dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit pada keadaan dingin (4°C). Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim, sedangkan pelet dibuang. Endapan dibuang sedangkan supernatant (cairan) disimpan dan dipergunakan sebagai larutan enzim amilase. Endapan yang dibuang terdapat sel bakteri, sehingga sebelum dibuang sel tersebut dihilangkan dulu dengan cara direbus dengan air sampai mendidih.

### 1.9 Penentuan Kurva Standart

Sebanyak 10 tabung reaksi disiapkan, masing-masing diisi dengan larutan glukosa dengan konsentrasi 0,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 ppm. Setelah itu diambil 1 ml dari masing-masing konsentrasi dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan ke dalam tabung reaksi 1 ml reagen DNS dan dihomogenkan. Ditunggalkan mulut tabung dengan aluminium foil dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5-15 menit sampai larutan berwarna merah-coklat. Kemudian ditambahkan dengan aquades hingga volumenya 10 ml dan dihomogenkan, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

### 1.10 Uji aktivitas amilase metode DNS

Sebanyak 1 ml ekstrak kasar enzim hasil sentrifugasi dicampur dengan 1 ml substrat (pati 1% dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7) lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30°C, ditambahkan 2 ml asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS) kemudian dikocok dengan vortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Lalu didinginkan di dalam air es selama 20 menit. Setelah dingin diukur absorbansinya pada  $\lambda = 540$  nm. Blanko mendapat perlakuan yang sama dengan sampel, namun penambahan enzim dilakukan setelah campuran dipanaskan. Satu unit aktivitas enzim amilase didefinisikan jumlah emzin yang diperlukan untuk melepas 1  $\mu$ mol gula pereduksi/menit atau setara dengan 1  $\mu$ mol glukosa/menit (Tresnawati, 2004).

## 2. Hasil dan Pembahasan

### 2.1 Isolasi bakteri endofit

Hasil isolasi bakteri endofit *carica papaya* diperoleh 19 isolat bakteri yang terdiri dari 4 isolat berasal dari akar, 5 isolat dari daun, 5 isolat dari batang dan 5 isolat dari tangkai daun. Isolat bakteri endofit tumbuh setelah 48 jam dari proses penanaman potongan sampel di atas media isolasi. Proses isolasi bakteri endofit dari tanaman pepaya diawali dengan sterilisasi permukaan. Kontrol sterilisasi menggunakan alkohol 70% menunjukkan bahwa sterilisasi permukaan yang dilakukan mampu menghambat pertumbuhan mikroba pada permukaan tanaman sehingga yakin bahwa isolat bakteri yang diperoleh adalah isolat bakteri endofit. Efisiensi sterilisasi permukaan tanaman dapat dilihat dari aquades bilasan terakhir yang ditumbuhkan pada cawan petri sebagai kontrol. Hal ini sesuai dengan Goryluk *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa sterilisasi permukaan dikatakan berhasil apabila tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme pada cawan petri. Sterilisasi permukaan bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme epifit yang berada di permukaan tanaman, sehingga koloni yang diperoleh merupakan koloni endofit yang berasal dari dalam jaringan tanaman.

## 2.2 Karakterisasi bakteri endofit

Hasil pengamatan bahwa koloni isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman papaya memiliki keragaman morfologi yang meliputi warna, bentuk, elevasi dan tepian koloni. Jumlah koloni yang memiliki bentuk bergelombang sebanyak 9 isolat sedangkan bentuk bulat 10 isolat. Memiliki elevasi raised sebanyak 4 isolat dan flat sebanyak 15 isolat. Koloni yang berwarna putih sebanyak 16 isolat dan koloni yang berwarna kuning sebanyak 2 isolat. Tepi yang berbentuk Lobate sebanyak 9 isolat dan entire sebanyak 10 isolat. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada isolat bakteri endofit yang berasal dari akar, AE1 dan AE3 memiliki morfologi yang sama tetapi kedua isolat mempunyai bentuk bakteri yang berbeda. Isolat bakteri yang berasal dari daun yaitu DE1 dan DE2 memiliki morfologi yang sama tetapi jenis bakteri yang berbeda. Isolat bakteri yang berasal dari tangkai daun yaitu TD4 dan TD5 memiliki morfologi yang sama tetapi jenis bakteri yang berbeda, isolasi bakteri endofit umumnya memiliki keanekaragaman yang

sangat tinggi. Hal ini didukung oleh Bhore dan Sathisha (2010) yang menyatakan bahwa keanekaragaman morfologi koloni bakteri endofit dari suatu jaringan tanaman luas, hal ini dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman dan kondisi tanah. Tanaman dengan spesies yang sama tidak selalu memiliki bakteri yang sama. Bentuk sel bakteriberbeda-beda, tetapi biasanya terdapat 3 bentuk yang lebih umum, yaitu bulat (*coccus*), bentuk batang (*bacillus*) dan bentuk spiral. Variasi bentuk sel mungkin akan terjadi baik secara tetap ataupun sebagai bentuk kelainan karena pengaruh lingkungan yang tidak menguntungkan yang disebut dengan bentuk involusi. menunjukkan hasil pengamatan secara mikroskopik.

## 2.3 Skrining bakteri endofit penghasil amilase

Pembentukan zona bening menunjukkan bahwa pati yang terdapat di dalam media dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi senyawa yang sederhana. Zona bening dapat dilihat dengan meneteskan larutan *lugol's iodine* pada media pati padat yang telah ditumbuhi oleh isolat bakteri. Uji Iodin bertujuan untuk mengidentifikasi polisakarida berupa amilosa. Reagen yang digunakan adalah larutan iodin yang merupakan  $I_2$  terlarut dalam potasium iodida. Prinsip iodin adalah terjadinya reaksi antara polisakarida dengan iodin membentuk rantai poliiodida. Menurut Sumardjo (2009), polisakarida umumnya membentuk rantai heliks (melingkar), sehingga dapat berikatan dengan iodin, sedangkan karbohidrat berantai pendek seperti disakarida dan monosakarida tidak membentuk struktur heliks sehingga tidak dapat berikatan dengan iodin.

Isolat bakteri sebanyak 14 lainnya tidak membentuk zona bening, karena tidak dapat mendegradasi pati. Hal ini didukung oleh pendapat Hermanila (2015), bahwa tidak terbentuknya zona bening disebabkan kebutuhan sumber karbon yang berbeda pada masing-masing isolat. Sifat dan jumlah sumber karbon dalam medium kultur penting bagi pertumbuhan dan produksi amilase ekstraseluler pada bakteri.

## 2.4 Aktivitas amilase Metode DNS

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas amilase pada isolat bakteri endofit tanaman pepaya isolat AE4 memiliki rata-rata aktivitas amilase sebesar 0,069 U/mL, isolat DE2 sebesar 0,057 U/mL, isolat BE1 sebesar 0,068 U/mL, isolat TD2 sebesar 0,087 U/mL dan isolat TD5 sebesar 0,225 U/mL. Aktivitas amilase yang terbaik terdapat pada isolat TD5 karena memiliki nilai aktivitas amilase tinggi yaitu 0,225 U/mL dengan konsentrasi glukosa 610,188 mg/mL, sedangkan aktivitas amilase terendah terdapat pada isolat DE2 yaitu 0,057 U/mL dengan konsentrasi glukosa 156,930 mg/mL. Perbedaan aktivitas disebabkan karena berasal dari isolat bakteri yang berbeda serta hasil isolasi dari jaringan yang berbeda yaitu akar, batang, daun dan tangkai daun. Isolat TD5 berasal dari tangkai daun memungkinkan kandungan karbohidrat lebih banyak. Bakteri amilolitik yang diisolasi dari sumber kaya amilum umumnya berpotensi menghasilkan amilase yang lebih baik. Pati dapat ditemukan pada umbi, daun, batang dan biji-bijian. Beberapa faktor lingkungan juga mempengaruhi aktivitas amilase. Hal ini sesuai pendapat De Carvalho *et al.*, (2008) bahwa faktor tersebut meliputi kandungan nutrisi, derajat keasaman media, tekanan osmotik, tingkat aerasi, suhu, dan kontrol terhadap kontaminasi selama fermentasi. Besar kecilnya aktivitas enzim amilase ini akan mempengaruhi kadar gula pereduksi (glukosa) yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Capriyanti *et al.*, (2015) bahwa umumnya gula pereduksi yang dihasilkan berhubungan erat dengan aktivitas enzim, dimana semakin tinggi aktivitas enzim maka semakin tinggi pula gula pereduksi yang dihasilkan. Peningkatan aktivitas enzim disebabkan oleh semua bakteri sudah memanfaatkan substrat pati untuk mensekresikan enzim amilase.



Gambar 1. Pengujian aktivitas amilase

### 3. Kesimpulan

- 3.1 Bakteri endofit pada tanaman pepaya menghasilkan 19 isolat yang terdiri dari 4 isolat dari akar, 5 isolat dari daun, 5 isolat dari tangkai daun dan 5 isolat dari batang.
- 3.2 Pada tanaman pepaya terdapat 5 isolat bakteriyang menghasilkan enzim amilase. Hal ini dapat diketahui dari terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri
- 3.3 Isolat bakteri BE19 menghasilkan aktivitas enzim amilase terbesar yaitu 0.168 U/ml dengan konsentrasi glukosa sebesar 455,937mg/ml.

### Daftar Pustaka

- Afifah, N., Putri, DH., dan Irdawati. 2018. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from the Andalas Plant Stem (*Morus macroura* Miq.). *Bioscience*. Vol 2 (1). 72-75
- Aiyer, P.V., 2005, Amylases and their applications, *African Journal of Biotechnology*, 4 (13); 1525-1529.
- Ghavidel, R.A., Davoodi, M.G., Adib, A.F., Tanoori, T., dan Shyekholeslami, Z. 2013. Effect of Selected Edible Coatings to Extend Shelf-Life of Fresh-Cut Apples. *International Journal of Agriculture and Corp Sciences* 6(16) : 11711178.
- Grisham, Charles M.; and Reginald H. Garrett. 1999. *Biochemistry*. Saunders College Pub. Philadelphia. Pp. 426-7.
- Goryluk, A., Rekosz-Burlaga, H. and Blaszczyk, M., 2009, "Isolation and Characterization of Bacterial Endophytes of *Chelidonium majus* L.", *Polish Journal of Microbiology*, 58(4), 355-361.
- Handayani. 2007. Skrining Kapang Endofit Penghasil Antimikroba dari Ranting Tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre terhadap *Escherichia coli*. *Skripsi* Sarjana Farmasi UI, Depok.
- Mursal Ghazali, dkk., 2015. Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala penyakit ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*. Vol. 1 No.2

- Parija, S. C., 2012, *Textbook of Microbiology & Immunology 2nd* (d atas) Ed, Elsevier Inc.
- Poedjiadi, A. dan T., Supriyatin. 2009. *Dasardasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press.
- Priscilla LeMone, Bauldoff, Gerene, Karen M. Burke.,2016. *Keperawatan Medikal Bedah* (Ed. 5). Jakarta: EGC.
- Pricilia S, Astuti W, Marlina E. 2018. Skrining Bakteri Endofit Penghasil Amilase, Lipase Dan Protease Dari Daun Macaranga *hulleitii* King ex Hook.f. *Jurnal Atomik* 3(2) : 102-105.
- Prescott, L.M. 2014.*Prescott-Harley-Klein: Microbiology 5th Edition*. USA: TheMcGrawth-Hill Companies.
- Purwanto, UMS, FH Pasaribu, M Bintang. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry*. Volume 1 (1): 51 – 57.e-ISSN: 2355- 7877.
- Rahayu, L.S. 2017 Pengendalian Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Variasi Jarak Sinar Ultra Violet. *Undergraduate thesis*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Rismawati.2018. *Identifikasi Bakteri Endofit Daun Mangrove Api-Api Putih (Avicennia marina) dan potensinya menghasilkan senyawa anti mikroba*. UIN Alauddin Makassar.
- Singleton, P. and D. Sainsbury. 2006. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd Edition*. England: John Wiley and Sons. Ltd.
- Sivaramkrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K.M., Soccol, C.R., and Pandey, A., 2006,  *$\alpha$ -Amylases from Microbial Sources, Food Technol. Biotechnol*, 44 (2); 173–184.
- Smith, W.S., Hauser, S.L., Easton, J.D., 2005. *Cerebrovascular Disease*. New York: McGraw-Hill pp 1269-77
- Strobel, G. dan Daisy, B. 2003.Bioprospecting for microbial endophytes and their natural product.*Microbiology and Molecular Biology Rievew*, 67, 491-502
- Strohl WA, Rouse H, Fisher BD. 2001. *Microbiology*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Suarni dan Patong, R. 2002. Tepung Sorgum Sebagai Bahan Substitusi Terigu. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 21 (1): 43-47.
- Suciatmih. 2010. Pengaruh konsentrasi antimikroorganisme, media fermentasi, dan waktu inkubasi terhadap *Absidia corymbifera* (Cohn.) Sacc.& Trotter dari jamur endofit *Fusarium nivale* (Fr.) Ces.*Media Litbang Kesehatan* 20(10), 17-25.
- Sujiprihati, S. & K. Suketi. 2009. *Budidaya Pepaya Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta. 91 hlm.
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta*.Jakarta:EGC
- Suhartono, M.T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Sofyan,dkk. 2011. Kajian Probiotik AB (*Aspergillus niger* dan *Basillus sp.*) Sebagai Imbuhan Ransum dan Implikasi Efeknya Terhadap Mikroflora Usus Serta Penampilan Produksi Ayam Petelur. *Disertasi*. Program Pascasarjana UNPAD. Bandung.
- Yang, G. J., Funke, B. R., Case, C. L., 2011.*Microbiology : An Introduction*, 7<sup>th</sup> Edition, San Fransisco : Benjamin Cummings p.125
- Takagi M, Hisano T, Nishimura M, Yamashita T, Sakaguchi K, Imanaka T, Akira, Murata K. 2010. Production of bacterial alginate-specific lyase by recombinant *Bacillus subtilis*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 78(1):79-83.
- Tilakchand, Mahima, Balaram Naik & Abhijith S. Shetty. 2014. A Comparative Evaluation of the Effect os 5.25% Sodium Hypochlorite and 2% Chlorhexidine on the Surface Texture of Gutta-Oercha and Resilon Cones Using Atomic Force Microscope. *J Conserv Dent*. 17 (1):18-21
- Trivedi.P.C., S.Pandey, & S.Bhadauria, 2010.*Text Book Of Microbiology*. Aavishkar Publishers. India
- Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L., 2001, *Microbiology : An Introduction*, 7<sup>th</sup>

- edition, San Fransisco : Benjamin Cummings, p. 125.
- Vaseekaran S, Balakumar S, Arasaratnam V (2010). Isolation and identification of a bacterial strain producing thermostable  $\alpha$ -amylase. *Tropical Agricultural Research*, 22:1-11.
- Volk, W. A dan Wheeler, M. F. 1999. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan Markham. Jakarta: Erlangga
- Yuliana, N., 2008, Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak. *J. Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2):108-116
- Yuniarti, T. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Cetakan Pertama Med Press. Yogyakarta.
- Warisno. 2003. *Budidaya Pepaya*: Kanisius. Yogyakarta.
- Wilis Ari Setyati. 2015. Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36K dari sedimen Ekosistem Mangrove, Karimunjawa, Jepara. *Jurnal Ilmu Kelautan Undip*. 20(3):163-169
- Winarno MW dan Sundari D. 1996. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat diare di Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran* 109:25-32
- Wirahadikusuma. 2001. *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: ITB