

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFIL PENGHASIL AMILASE DARI SUMBER AIR PANAS LEJJA SULAWESI SELATAN

¹Rugaiyah A. Arfah, ¹Abdul Rauf Patong, ¹Ahyar Ahmad, ²M. Natsir Djide
¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin
²Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin
Email: rugayaharfah@yahoo.com

Abstract: *A Research isolation and identification of bacteria termofil amylase from hot springs Lejja South Sulawesi has been done. This study aims to characterize the morphological, biochemical, genus and species of bacteria producing the enzyme amylase. The method used in this study through the stages: 1) Skrening and isolation of bacteria by means of as much as 1.0 mL of sample dilution plated on Petri dishes containing agar medium, then incubated for 20-24 hours at 50 °C, colonies of bacteria growing and has a colony morphology different character each taken 1 ose then etched into the amylolytic selective medium then incubated for 20-24 hours at 40°C and 50°C. Colonies that grew on selective media is scratched quadrant amylolytic to obtain pure isolates. Pure bacterial isolates taken 1 ose then grown in selective medium for 48 h at 50° C, bacterial isolates were grown spilled iodine solution (2% I₂ and 0.2% KI) when there is a clearing zone around the colony indicated as the enzyme-producing bacterial isolates termofil amylase; 2) termofil characterization of bacterial isolates in microscopy with Gram stain; 3) isolates selected biochemical tests performed according to the method Bergey's Manual and Systematic of Bacteriology. Results of screening and isolation of 10 bacterial isolates obtained amylase through iodine test, selected 2 isolates, 1 isolate from water samples RSAII-1B and 1 isolates from water samples mixed sediment RSSII-4B, which has a diameter of clearing zone of 5.6 cm respectively and 5.15 cm; out such characterization results of gram stain microscopy showed that the 2 isolates including gram + and shaped bacillus, the colony morphology as observed macroscopically, microscopy and biochemical test results obtained RSAII isolates and isolates RSSII-1B-4B is a Bacillus sp.*

Keywords: amilolitik, bacteria termofil, enzyme amylase

1. PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropik yang memiliki banyak daerah dengan aktivitas geotermal seperti daerah sumber air panas dan kawah gunung merapi. Daerah sumber air panas dan kawah gunung merapi merupakan salah satu sumber mikroba termofil yang dapat menghasilkan enzim termostabil. Menurut Edwards (1990), mikroba ekstrim termofil tumbuh pada kisaran suhu 55-88 °C dan mampu mensekresikan enzim termostabil. Mikroba yang dapat hidup pada lingkungan seperti ini mengandung suatu senyawa aktif yang dapat mempertahankan hidupnya. Salah satu hal yang menyebabkan mikroba termofil mampu bertahan hidup dan berkembang biak pada suhu ekstrim tinggi

adalah kandungan proteinnya sangat stabil terhadap panas sehingga dapat berfungsi secara optimal pada suhu tinggi (Brock and Madigan, 1991 dalam Natsir, 2010).

Hasil penelitian terkait dengan bakteri termofil penghasil amilase termostabil dilakukan Dirnawan *et. al* (2000). Dia berhasil mengeksplorasi bakteri termofil penghasil enzim hidrolitik dari sumber air panas Gunung Pancar dan mendapatkan 18 isolat bakteri penghasil enzim amylase. Isolat GP-15 memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 90°C dan pH 8 dengan aktivitas 0,03 unit/mL. Sutiamiharja (2008), mengisolasi bakteri penghasil amilase dari sumber air panas Gurukiyan Karo Sumatra Utara, mendapat 25 isolat. Ada 3 isolat yang memiliki zona beningnya yang besar yaitu: GK13 (32,18 mm), GK4 (35,20 mm) dan GK14 (30,15 mm), isolat GK13 menghasilkan amilase yang bekerja optimum pada suhu 60°C dan pH 6,0 dengan menghasilkan glukosa sebesar 639,59 µg/mL.

Enzim amilase termostabil memiliki nilai komersial yang luas dalam penggunaannya dalam memproses pati, pembuatan bir dan produksi gula, industri tekstil, kertas, farmasi dan dalam proses pembuatan deterjen (Souza and Magalhães, 2010; Dirmawan *et. al.*, 2000). Industri gula cair sangat memerlukan enzim α -amilase termostabil yang masih aktif pada temperatur tinggi, misalnya pada proses gelatinisasi (100-110°C) dan proses pencairan pati (80-90°C) (Rasooli *et al.*, 2008). Pada industri pati enzim amilase termostabil dapat meningkatkan proses degradasi pati untuk menghasilkan glukosa, kristal dekstrosa, sirup dekstrosa, maltosa dan maltodekstrin (Souza and Magalhães, 2010).

Penggalan stain-stain mikroorganisme penghasil enzim termostabil dari sumber air panas di Sulawesi Selatan belum banyak dilakukan, sedangkan di Sulawesi Selatan cukup banyak tempat-tempat potensial untuk memperoleh mikroorganisme penghasil enzim termostabil, seperti: sumber air panas Lejja kab. Soppeng, sumber air panas Lemo-Lemo Kab. Pinrang, sumber air panas Makula Kab. Tana Toraja, sumber air panas Kaloling Sinjai Timur Kab. Sinjai, dan lain-lain. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri termofil penghasil amilase dari sumber Air Panas Lejja Sulawesi Selatan. Lokasi sumber air panas permandian Lejja di Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan yang suhunya 45°C sampai 65°C pH 7,0 (Khairuddin, 2011) terdapat mikroba (bakteri) yang mampu bertahan hidup pada suhu 45°C – 65°C dan dapat menghasilkan enzim amilase. Dengan demikian dalam penelitian ini akan dilakukan eksplorasi bakteri termofil penghasil amilase yang bersumber dari lokasi air panas permandian Lejja Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan.

2. METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan adalah botol sampel steril, termometer, pH meter (Hanna Instrument), timbangan analitik (Ohaus), jarum ose, spatula, *water bath* (Griffin), *shaker water bath* (Memmert), lampu spiritus, mikropipet (Gilson), magnetik strirer, *hot plate*, cawan petridish, tabung uji, *sentrifugator*, *autoclave* (Yamato), inkubator (Memmert), oven (Gallenkamp), gelas benda, mikroskop, kamera foto digital, spektrofotometer, tip biru dan kuning, dan alat gelas umum yang digunakan di laboratorium.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air (SA I, SA II, SA III, SA IV), sampel air campur sedimen (SSI dan SSII), ekstrak ragi, bacto agar, pepton, NaCl, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, H_2O_2 , amilum (*soluble starch*), alkohol 70%, kristal violet, akuades, kalium iodida, NaOH, HCl, kristal violet, safranin, maltosa, glukosa monohidrat, $MgCl_2$, larutan iodin, amonium molibdat, natrium sulfat anhidrat, glukosa anhidrat (E Merck).

Cara Kerja

Skrining dan Isolasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim Amilase

Sampel air dan air campur sedimen diambil dari sumber air panas Lejja Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan yang bersuhu $45^{\circ}C$ - $65^{\circ}C$, dengan pH 6,9-7,0. Sebanyak 1,0 mL sampel diencerkan dengan air steril sampai pengenceran 10^{-3} - 10^{-5} . Kemudian sebanyak 1,0 mL sampel hasil pengenceran disebar ke medium agar dan diinkubasi selama 20-24 jam pada suhu $50^{\circ}C$.

Koloni bakteri yang tumbuh dan mempunyai karakter morfologi koloni berbeda masing-masing diambil 1 ose kemudian digores ke dalam medium selektif amilolitik dan diinkubasi selama 20-24 jam pada suhu $40^{\circ}C$ dan $50^{\circ}C$. Koloni yang tumbuh digores kuadran pada medium selektif amilolitik dan diinkubasi selama 20 jam pada $50^{\circ}C$ hingga diperoleh isolat murni. Isolat murni tersebut diambil 1 ose lalu ditotol pada medium selektif amilolitik kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu $50^{\circ}C$. Isolat bakteri yang tumbuh ditetesi larutan iodin (2% I_2 dan 0,2% KI) bila terdapat zona bening di sekeliling koloni diindikasikan sebagai isolat bakteri termofil penghasil enzim amilase karena dapat menghidrolisis pati di sekeliling koloni. Selanjutnya isolat bakteri murni yang memiliki zona bening ditumbuhkan kembali pada medium selektif amilolitik, untuk mengetahui indeks amilolitiknya, diukur diameter zona bening dengan menggunakan jangka sorong. Sebelum pengujian tiap isolat, disiapkan stok kulturnya pada media agar miring. Hal ini perlu

dilakukan karena uji iodine membuat isolat bakteri mati karena larutan iodine bersifat desinfektan (Abdel-Fattah *et al.*, 2012). Isolat bakteri termofil yang mempunyai diameter zona bening yang besar dan mempunyai keteraturan pertumbuhan yang bagus selanjutnya dikarakterisasi.

Karakterisasi Isolat Bakteri Termofil Penghasil Enzim Amilase

Karakterisasi morfologi isolat bakteri penghasil amilase secara makroskopis

Pengamatan morfologi dari setiap isolat meliputi: bentuk koloni, permukaan koloni dilihat dari samping, tepi koloni dilihat dari atas, warna koloni (Rasooli *et al.*, 2008).

Karakterisasi isolat bakteri penghasil amilase secara mikroskopis dengan pewarnaan gram

Kultur isolat 1 ose yang berumur 24 jam dibuat preparat olesan pada objek kaca dengan menggunakan NaCl fisiologis dan dikeringkan di udara dan difiksasi di atas bunsen. Preparat ditetesi larutan gram A (kristal violet) dan dibiarkan selama 3 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya ditetesi dengan larutan gram B (Iugol) dan dibiarkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya ditetesi dengan gram C (alkohol) sampai sisa zat warna hilang dan dibilas kembali dengan air mengalir, tahap akhir preparat ditetesi dengan larutan gram D (safranin) dan dibiarkan sampai mengering, lalu ditetesi minyak imersi untuk diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x. Pengamatan dilakukan dengan melihat morfologi sel dan warna. Bakteri gram-positif berwarna biru keunguan, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah.

Uji Biokimia Isolat Bakteri Terpilih

Uji biokimia isolat bakteri terpilih dilakukan berdasarkan metode *Bergey's Manual and Systematic of Bacteriology* (Raharjo *et al.*, 2010) sebagai berikut:

1. Uji *Simon Citrat Agar* (SCA).

Uji sitrat dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri terpilih, digores pada permukaan medium *Simon Citrat Agar* dan juga 1 ose isolat bakteri ditusukkan ke bagian tengah media sampai ke dasar tabung reaksi. Medium kultur tersebut diinkubasi pada suhu 65°C selama 48 jam. Uji positif bila medium berubah dari warna hijau menjadi warna biru.

2. Uji katalase

Hidrogen peroksida 3% diteteskan sebanyak 2 tetes pada kaca obyek, kemudian 1 ose isolat bakteri diletakkan di atasnya. Uji katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara. Adanya gelembung udara menunjukkan banyaknya gas oksigen yang dihasilkan.

3. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Isolat bakteri digoreskan pada permukaan medium agar miring TSIA, dan juga ditusuk tegak lurus ditengah medium. Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 65°C, uji positif ditandai adanya perubahan warna medium TSIA dari warna coklat tua menjadi oranye atau kuning. Terbentuknya H₂S dapat diamati dengan terbentuknya warna kehitaman ada bekas goresan, pembentukan gas dapat diamati terbentuknya rongga pada bagian bawah agar.

4. Uji gelatinase

Uji gelatinase dilakukan dengan menginokulasikan isolat bakteri terpilih dengan cara menusuk tegak lurus jarum ose pada bagian tengah medium gelatin, lalu diinkubasi selama 5 hari pada suhu 65°C, setelah itu kultur medium disimpan dalam kulkas selama 30 menit. Uji gelatinase positif ditandai dengan bentuk medium tetap cair meskipun telah disimpan dalam lemari pendingin.

5. Uji motilitas

Isolat bakteri sebanyak 1 ose diinokulasikan pada medium *Sulfit Indol Motility* (SIM) dengan cara menusukkannya hingga setengah medium pada tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 65°C. Uji positif ditunjukkan dengan adanya jejak pergerakan bakteri.

6. Uji *methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP)

Isolat bakteri sebanyak 1 ose diinokulasikan pada medium MR-VP, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Untuk pengujian *methyl Red*, inokulum diteteskan 2 tetes *methyl Red*, jika terbentuk cincin ungu-merah maka menunjukkan reaksi positif. Untuk pengujian *Voges Proskauer*, inokulum diteteskan 2 tetes reagen barit A dan barit B, jika terbentuk cincin ungu-merah menunjukkan reaksi positif.

7. Uji fermentasi karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menginokulasi 1 ose biakan bakteri ke dalam medium yang terdiri dari glukosa, sukrosa, maltosa dan laktosa. Uji positif ditandai dengan berubahnya medium menjadi warna kuning.

8. Identifikasi

Hasil karakterisasi dari masing-masing isolat bakteri diidentifikasi dengan menggunakan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan, R.E. & N.E Gibbons (CoE, 1974)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Skrining dan Isolasi Bakteri Termofil Penghasil Amilase dari Sumber Air Panas Permandian Lejja Kabupaten Soppeng Sulsel

Hasil skrining dan isolasi yang telah dilakukan, diperoleh 30 isolat bakteri termofil. Dari 30 isolat tersebut terdapat 10 isolat bakteri penghasil amilase. Dari 10 isolat tersebut, 1 isolat berasal dari lokasi I (SAI), 2 isolat dari lokasi II (SAII), 1 isolat dari lokasi III (SSI), 4 isolat dari lokasi IV (SSII) dan 1 isolat dari lokasi V (SAIII) dan 1 isolat dari lokasi VI (SAIV). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap lokasi air panas terdapat bakteri termofil penghasil amilase. Sutimiharja (2008) berhasil mengisolasi 25 isolat bakteri penghasil amilase dengan suhu pertumbuhan optimum 60°C dan pH pertumbuhan optimum 6,0. Sedangkan Santos dan Martin (2003) berhasil mengisolasi 16 bakteri termofil penghasil amilase dengan suhu pertumbuhan 50°C dan pH pertumbuhan optimal 6,5.

Koloni bakteri yang tumbuh ditetesi dengan iodium untuk mengetahui kemampuan bakteri menghidrolisis pati menjadi maltosa atau glukosa. Deteksi dilakukan dengan melihat terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri yang tumbuh. Bakteri yang memiliki aktivitas amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening (zona hidrolisis) di sekitar koloni bakteri pada medium agar yang berisi substrat amilum 1,0%. Isolat- isolat tersebut mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam menghidrolisis amilum sebagai substratnya. Isolat yang mempunyai aktivitas amilolitik yang tinggi memiliki zona bening yang luas sebagaimana terlihat pada Gambar 1.

Inchem 2008 dalam Sutimiharja 2008 menyatakan bahwa degradasi yang terjadi pada pati diketahui dengan hilangnya material yang terwarnai oleh iodine, sedangkan menurut Melliawati dan Sukara tahun 1989, kemampuan atau daya amilolitik suatu mikroba ditandai dengan terbentuknya zona jernih dalam medium yang mengandung pati. Produksi amilase dapat dilihat pada pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Dua isolat terpilih berdasarkan diameter zona bening yang besar dan teratur setelah inkubasi 48 Jam pada suhu 50°C yaitu Isolat R-SAII-1B dan Isolat R-SSII-4B.

Dari 10 isolat amilolitik permandian Lejja dipilih 2 isolat yang memiliki zona bening yang besar dan beraturan. Isolat R-SAII-1B diameter zona beningnya 5,6 cm, Isolat R-SII-4B zona beningnya 5,15 cm. Proses seleksi dan isolasi dilakukan pada suhu 50°C dengan pH 7. Isolat R-SAII-1B diperoleh dari lokasi 2 yang memiliki suhu 50°C, pH 6,9. Isolat R-SSII-4B diperoleh dari lokasi 4 yang memiliki suhu 48°C, pH 7,0.

Pada Gambar 1 terlihat ada 3 isolat tetapi 2 yang dipilih mempunyai zona bening yang besar. Adanya zona bening setelah penambahan larutan iodine menandakan bahwa bakteri tersebut mempunyai kemampuan menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis amilum menjadi glukosa, semakin besar zona beningnya menandakan aktivitas enzim amilase semakin besar pula.

Karakter Morfologi dan Biokimia Isolat Bakteri Terpilih

Karakterisasi yang dilakukan terhadap koloni bakteri yang tumbuh meliputi: 1) Pengamatan makroskopis yaitu: bentuk koloni, permukaan koloni dilihat dari samping, tepi koloni dilihat dari atas, warna koloni (Rasooli *et al.*, 2008), 2) Pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan gram dan 3) Uji reaksi biokimia. Hasil karakterisasi bentuk morfologi koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter morfologi isolat bakteri terpilih

No	Morfologi Koloni	Kode Isolat	
		R-SAII-1B	R-SSII-4B
1	Warna koloni	krem	krem
2	Bentuk koloni	batang	batang berspora
3	Tepi koloni	berombak	berombak
4	Warna gram	ungu	ungu
5	Gram	+ basil	+ basil
6	Permukaan koloni	Menyebar	Menyebar

Pada Tabel 1 terlihat bahwa isolat R-SAII-1B dan R-SSII-4B merupakan gram positif, bentuk koloni berbentuk batang, R-SSII-4B bentuk koloni berbentuk batang tapi bersepora, kedua isolat bakteri tersebut berbentuk basil. Pada pengamatan mikroskop isolat bakteri setelah pewarnaan bakteri, terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Foto Isolat Bakteri R-SAII-1B dan R-SSII-4B pada mikroskop pembesaran 1000x

Sutiamiharja (2008) berhasil mengisolasi 3 bakteri termofilik penghasil amilase semua bersifat gram positif dan berbentuk batang, juga penelitian yang dilakukan oleh Fu Shaw *et al.*, 1995 berhasil mengisolasi bakteri termofil penghasil amilase jenis *Thermus sp* yang bersifat gram positif.

Uji reaksi biokimia menunjukkan kedua isolat memiliki sifat yang bervariasi, seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik sifat biokimia isolat bakteri amilolitik termofilik permandian Lejja Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan

No	Reaksi Biokimia	Isolat Bakteri			
		R-SAII-1B Pengamatan		R-SAII-4B Pengamatan	
1	Uji motilitas	Ada jejak bakteri	+	Tidak ada jejak bakteri	-
2	Uji sitrat	Warna medium hijau	-	Warna medium hijau	-
3	Uji gelatin	Medium tetap cair pada keadaan dingin	+	Medium tetap cair pada keadaan dingin	+
4	Uji VP	Ada cincin ungu	+	Ada cincin ungu	+
5	Uji MR	Ada cincin ungu merah	+	Ada cincin ungu merah	+
6	Uji katalase	Gelembung udara	+	Gelembung udara	+
7	Uji glukosa	Warna medium berubah menjadi kuning	+	Warna medium tetap hijau	-
8	Uji sukrosa	Tidak ada gas		Tidak ada gas	
		Warna medium berubah menjadi kuning	+	Warna medium tetap hijau	-
9	Uji maltosa	Tidak ada gas		Tidak ada gas	
		Warna medium berubah menjadi kuning	+	Warna medium tetap hijau	-
10	Uji laktosa	Tidak ada gas		Tidak ada gas	
		Warna medium tetap hijau	-	Warna medium tetap hijau	-
11	Uji sulfida	Warna medium cokelat tua dan tidak ada endapan hitam	-	Warna medium cokelat tua dan tidak ada endapan hitam	-

Karakter sifat biokimia isolat bakteri dari sumber air panas Lejja seperti pada Tabel 2. Pada uji motilitas dengan menggunakan medium *Sulfide Indol Motility* menunjukkan bahwa isolat R-SAII-1B bersifat motil ditandai dengan adanya jejak pergerakan bakteri dalam medium, sedangkan isolat R-SSII-4B bersifat immotil, uji sitrat positif ditandai dengan perubahan warna medium dari hijau menjadi biru, ternyata kedua isolat tersebut tidak mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Pada uji gelatin kedua isolat tersebut menunjukkan hasil positif karena medium gelatin tetap cair setelah dimasukkan ke dalam lemari es selama 30 menit, ini sesuai dengan pendapat Cappucino dan Sherman (1983) dalam Sutiamiharja (2008) bahwa uji positif ditandai dengan medium gelatin tetap cair setelah dimasukkan ke dalam lemari es selama 30 menit. Uji *methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP) kedua isolat tersebut menunjukkan hasil positif karena waktu diberikan 2 tetes metil red pada medium MR-VP membentuk cincin warna ungu, begitu pula pada penambahan 2 tetes reagen Barit A dan B pada medium membentuk cincin warna ungu kemerahan.

Hasil uji katalase dengan penambahan larutan 3% H₂O₂ pada medium terbentuk gelembung udara di sekitar koloni pada isolat R-SAII-1B dan R-SSII-4B. Menurut Lay tahun (1994) dalam Sutiamiharja (2008) bahwa uji katalase membuktikan adanya enzim katalase dari isolat yang mampu menguraikan H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂.

Uji fermentasi karbohidrat meliputi uji glukosa, sukrosa, maltosa dan laktosa. Isolat R-SA-1B pada uji fermentasi glukosa, sukrosa, maltosa menunjukkan hasil positif karena terjadi perubahan warna medium dari warna hijau menjadi kuning setelah diinkubasi selama 24 jam, sedangkan fermentasi laktosa warna medium tetap warna hijau. Isolat R-SSII-4B pada uji fermentasi glukosa, sukrosa, maltosa, dan laktosa menunjukkan nilai negatif. Isolat Bakteri R-SA-1B mempunyai kemampuan menggunakan glukosa, sukrosa, dan maltosa sebagai sumber karbon.

4. PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa sumber air panas Lejja Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan mengandung bakteri termofil sebanyak 30 isolat, tetapi 10 isolat bakteri penghasil amilase melalui uji iodium, dipilih 2 isolat, 1 isolat dari sampel air RSAII-1B dan 1 isolat dari sampel air campur sedimen RSSII-4B, yang memiliki diameter zona bening masing-masing 5,6 cm dan 5,15 cm; hasil karakterisasi seraca mikroskopi bewarnaan gram menunjukkan bahwa ke 2 isolat tersebut termasuk gram + dan berbentuk basil, berdasarkan pengamatan morfologi koloni secara makroskopi, mikroskopi dan hasil uji biokimia didapatkan isolat RSAII-1B dan isolat RSSII-4B merupakan bakteri *Bacillus sp.*

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Fattah, Y.R., Soliman, N.A., El-Toukhy N.M., El-Gendi H., and Ahmed R.S., 2012, Production, Purification and Characterization of Thermostable α -amilase Produced by *Bacillus licheniformis* Isolate AI20, *Jurnal Chemistry*, **2012**: 1-11.
- Dirmawan, H. A., Suwanto, dan Purwadaria T., 2000, Eksplorasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim Hidrolitik-Ekstraseluler dari Sumber Air Panas Gunung Pancar, *Hayati*, **7**: 52-55.
- Edwards, C., 1990, "*Thermophiles*" *Microbiology and Extreme Environments*, (Ed): Alden Press Oxford.

- Khairuddin, F., 2011, *Lejja Wisata Permandian Andalan Sulawesi Selatan*, Kompasiana 19 Juli 2011, **Online**, <http://wisata.kompasiana.com/jalan-jalan/2011/07/19/lejja-wisata-permandian-andalan-sulawesi-selatan/> (Diakses 12 oktober 2011)
- Natsir, H., 2010, Kajian Enzim Kitinase Termotabil dari Bakteri Termofil: Pemurnian, Karakterisasi, dan Aplikasi dalam Hidrolisis Kitin, *Disertasi*, Makassar: Program Pascasarjana MIPA-UNHAS.
- Rasooli, I., Astaneh, S.D.A.A., Borna, H., and Barchini K.A., 2008, A Thermostable α -amilase Producing Natural Variant of *Bacillus sp.* Isolated from Soil in Iran. *Am.J.Agric. & Biol. Sci.* 3 (3): 591-296
- Santos E.O., and Martins M.L., 2003, Effect of the Medium Composition on Formation of Amylase by *Bacillus sp.* *Brazilian Arch Biol. Technol* 46: 129-134
- Souza, P.M. De., and Magalhães, P.O. De., 2010, Application of Microbial α -amylase in Industry - A review. **Online**, *Braz. J. Microbiol.*, 41 (4), <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822010000400004> (Diakses 19 Oktober 2011)
- Suhartono, M. T., 1989, *Enzim dan Bioteknologi*, Depdikbud-Dikti, Bogor: PAU Bioteknologi-IPB
- Sutiamiharja, N., 2008, Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Kasar Termofilik dari Sumber Air Panas Gurukinayan Karo Sumatra Utara. *Tesis*. Medan: Pascasarjana Universitas Sumatra Utara.