

SKRINING AKTIVITAS ENZIM *Bacillus* sp. YANG DIISOLASI DARI TAMAN NASIONAL GUNUNG HALIMUN

[Screening of Enzyme Activity in *Bacillus* sp.
Isolated from Gunung Halimun National Park]

ImanHidayat

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LEPI, Bogor
Jl. It H. Juanda No. 18 Bogor 16002, Tel 0251-321038, Fax 0251-325854
E-mail: hidayatiman@yahoo.com

ABSTRACT

Fifty strains of *Bacillus* sp. isolated from Gunung Halimun National Park (GHNP) were characterized. All strains are characterized by amylase, protease, phosphatase, ligninase, and cellulase activity. Thirtyseven isolates gave positive reaction for amylase activity, 46 isolates for protease activity, 3 isolates for phosphatase activity, 3 isolates for ligninase activity, and 36 isolates for cellulase activity. These findings indicates that *Bacillus* sp. that isolated from GHNP is a potential microbe for enzymes technology and biotechnology application.

Key words: characterized, *Bacillus* sp., amylase, protease, phosphatase, ligninase, cellulase.

PENDAHULUAN

Penggalian potensi mikroba di kawasan konservasi Taman Nasional Gunung Halimun (TNGH) masih jarang dilakukan. Informasi dan referensi tentang keanekaragaman mikroba khususnya *Bacillus* sp. yang berasal dari TNGH dan potensi yang dimilikinya masih sangat terbatas. Beberapa penelitian yang pernah dilakukan di kawasan konservasi ini mengenai kelompok *Bacillus* antara lain dilaporkan oleh Widawati dan Suliasih (2001) yang menemukan *Bacillus megaterium* sebagai salah satu bakteri yang mampu melarutkan fosfat, Sudiana *et al* (2001) menemukan 16 spesies *Bacillus* sp. yang mampu mengurai selulosa, dan Sudiana (2002a) yang menguji kemampuan aktivitas enzim fosfatase *Bacillus* sp. yang diisolasi dari TNGH.

Berdasarkan beberapa laporan penelitian tersebut, masih sedikit sekali fakta yang mengungkapkan tentang keanekaragaman jenis dan potensi *Bacillus* sp. di TNGH, khususnya dalam mensintesa enzim. Beberapa laporan penelitian lebih menitikberatkan kepada peranan daripada keanekaragaman. Padahal kelompok bakteri ini merupakan salah satu kelompok bakteri yang dominan diberbagaiekosistem (Rao, 1994). Kelompok bakteri ini juga memiliki peranan dalam siklus nitrogen, siklus karbon, dan penguraian substansi organik lainnya di

alam (Alexander, 1961). Kesuburan tanah dan keseimbangan unsur hara di dalamnya sangat ditentukan oleh keberadaan kelompok bakteri ini (Waksman, 1932).

Keunikan kawasan konservasi TNGH adalah kondisi geografisnya yang berada pada ketinggian 500 - 1900 meter di atas permukaan laut, tetapi data mengenai keanekaragaman kelompok bakteri ini dan potensi yang dimilikinya masih belum banyak diketahui, sehingga perlu dilakukan isolasi secara selektif terhadap kelompok bakteri ini dan skrining mengenai kemampuannya dalam menghasilkan beberapa jenis enzim. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi terhadap kelompok bakteri *Bacillus* sp. dari TNGH dan dilakukan beberapa skrining aktivitas ekstraselular enzim antara lain amilase, protease, selulase, fosfatase, dan ligninase terhadap kelompok bakteri ini untuk mengetahui potensi yang dimilikinya.

BAHAPANMETODE

Pengambilan sampel

Sampel yang diambil untuk isolasi adalah sampel tanah. Pengambilan sampel dilakukan pada tiga daerah ketinggian yaitu sekitar 600 m, 1000 m, dan 1500 m di atas permukaan laut (dpi). Vegetasi pada ketinggian $\pm$ 600 m dpi didominasi oleh tumbuhan *Ageratum conyzoides*, *Musa* sp., *Eupatorium*

odoratum, *Imperata cylindrica* dan *Lantana camara*. Pada ketinggian ± 1000 m dpi, vegetasi didominasi oleh tumbuhan *Castanopsis acuminatissima*, *Litsea cubeba*, *Macaranga rizinoides*, *Podocarpus neriifolius* dan *Schima wallichii*. Pada ketinggian ± 1500 m dpi, vegetasi lahan didominasi oleh tumbuhan *Altingia excelsa*, *Schima wallichii*, *Lithocarpus* spp. dan *Quercus* spp. Kadar keasaman tanah berkisar antara pH 6,5 - 6,8 pada setiap ketinggian. Tanah yang diambil dari masing-masing lokasi berasal dari kedalaman 0-50 cm dari permukaan tanah. Sampel dimasukkan ke dalam kantung plastik berukuran 1 kg, kemudian dipindahkan ke dalam *ice bag* untuk menjaga kondisi sampel tetap stabil sampai waktu isolasi (Suciatmih dan Kramadibrata, 2002).

Isolasi *Bacillus* sp.

Isolasi *Bacillus* sp. dilakukan dengan cara memanaskan sampel tanah pada suhu 80°C selama 5 menit, kemudian 0,1 g tanah tersebut disebarakan pada media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Komposisi media NA yang digunakan adalah sebagai berikut: *beef extract* 3 g, pepton 5 g, agar 20 g, dan akuades 1000 ml. Setiap koloni yang tumbuh dipindahkan pada NA *slant* (Levine, 1954). Identifikasi *Bacillus* sp. dilakukan sampai dengan tingkat genus dengan melakukan pengamatan fenotip dan uji biokimia berdasarkan metode dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* edisi ke-9 (1994).

Skrining aktivitas enzim secara kualitatif

Aktivitas amilolitik

Skrining untuk aktivitas amilolitik dilakukan berdasarkan metode Smibert dan Krieg (1994) yaitu dengan cara menumbuhkan isolat *Bacillus* sp. yang berumur 24 jam pada media *starch agar* dengan komposisi sebagai berikut: pepton 5 g, *beef extract* 3 g, NaCl 5 g, *starch* 2 g, agar 18 g, dan akuades 1000 ml. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 3-7 hari. Zona bening yang terbentuk pada media tumbuh diamati. Besar kecilnya aktivitas amilolitik ditunjukkan dengan nilai indeks amilolitik yaitu nilai yang menyatakan hasil bagi dari diameter zona bening yang terbentuk dengan diameter koloni yang tumbuh.

Aktivitas proteolitik

Pengujian aktivitas proteolitik dilakukan berdasarkan metode Rodina (1972). Media yang digunakan untuk menguji aktivitas proteolitik bakteri adalah *frazier gelatin medium* dengan komposisi sebagai berikut: NaCl 3 g, KH_2PO_4 0,5 g, gelatin 4 g, *dextrose* 0,05 g, pepton 0,1 g, *beef extract* 5 ml, agar 18 g, dan akuades 1000 ml. Kultur *Bacillus* sp. yang berumur 24 jam diinkubasi pada suhu ruang selama 3-7 hari dan setelah inkubasi selesai koloni yang tumbuh pada media digenangi dengan larutan HgCl_2 . Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Besar kecilnya aktivitas proteolitik ditunjukkan dengan nilai indeks proteolitik yaitu nilai yang menyatakan hasil bagi dari diameter zona bening yang terbentuk dengan diameter koloni yang tumbuh.

Aktivitas selulolitik

Pengujian aktivitas selulolitik dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat *Bacillus* sp. yang berumur 24 jam pada media *cytophage agar* dengan komposisi sebagai berikut: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, *yeast extract* 1 g, FeCl_3 0,01 g, glukosa 1 g, *carboxy methyl cellulose* (CMC) 10 g, agar 18 g, dan akuades 1000 ml. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 3-7 hari. *Congo red* digunakan sebagai indikator dan enumerasi koloni bakteri selulolitik. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni (Rodina, 1972). Besar kecilnya aktivitas selulolitik ditunjukkan dengan nilai indeks selulolitik yaitu nilai yang menyatakan hasil bagi dari diameter zona bening yang terbentuk dengan diameter koloni yang tumbuh.

Aktivitas fosfatase

Pengujian aktivitas fosfatase dilakukan berdasarkan metode Gaur (1981) yaitu dengan menumbuhkan isolat *Bacillus* sp. yang berumur 24 jam pada media dengan komposisi sebagai berikut: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5 g, glukosa 10 g, NaCl 0,2 g, KCl 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,0025 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,0025 g, *yeast extract* 0,5 g, agar 18 g, dan akuades 1000 ml. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 3-7 hari. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terdapat disekitar koloni *Bacillus* sp.

Aktivitas Ligninolitik

Pengujian aktivitas ligninolitik dilakukan dengan menggunakan media *Poly R* (Paterson dan Bridge, 1994) dengan sedikit modifikasi. Komposisi media tersebut adalah sebagai berikut: KH_2PO_4 0,60 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,50 g, K_2HPO_4 0,40 g, $(\text{NH}_4)_2$ tartrate 0,22 g, glukosa 10 g, *Poly R-478 dye* (Sigma) 0,20 g, agar 18 g, *mineral solution* 10 ml, dan akuades ditambahkan sampai dengan volume 1000 ml, pH 7,0. Komposisi *mineral solution* yang digunakan adalah sebagai berikut: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 7,4 g, *ferric citrate* 1,2 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,7 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, *thiamine* HC110 mg, dan akuades 1000 ml. *Bacillus* sp. yang berumur 24 jam diinokulasikan pada media dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3-7 hari. Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna pada media.

HASIL

Isolasi *Bacillus* sp.

Lima puluh isolat *Bacillus* sp. (*Bacillus* sp. AR 023 - AR 072) diperoleh dari hasil identifikasi *Bacillus* sp. yang diisolasi dari tiga daerah ketinggian yaitu 600 m, 1000 m, dan 1500 m. 16 isolat *Bacillus* sp. (AR 023 - AR 038) diperoleh dari ketinggian 600 m dpi. Pada daerah ketinggian 1000 m dpi diperoleh 16 isolat *Bacillus* sp. (AR 039 - AR 054), sedangkan dari ketinggian 1500 m dpi diperoleh 18 isolat *Bacillus* sp. (AR055-AR072).

Skrining aktivitas enzim

Pengujian aktivitas enzimatik yang dilakukan terhadap 50 isolat *Bacillus* sp. menunjukkan bahwa sebagian besar menunjukkan hasil positif, kecuali pada pengujian ligninolitik dan fosfatase.

Tabel 1. Nilai indeks amilase, protease, dan selulase *Bacillus* sp. pada ketinggian 600 m dpi dan pH 7,0.

Nomor Isolat	Indeks amilase*	Indeks protease'	Indeks selulase*
AR023	1,73	9,33	3,00
AR024	1,73	6,33	1,20
AR025	2,00	5,20	2,00
AR026	-	1,69	-
AR027	-	3,67	-
AR028	1,13	2,20	-
AR029	1,60	5,00	2,00
AR030	2,33	6,25	1,20
AR031	1,40	8,00	1,67
AR032	1,45	4,33	1,11
AR033	1,43	5,00	1,17
AR034	1,75	5,67	1,50
AR035	1,50	5,29	3,00
AR036	1,60	4,33	2,00
AR037	-	3,00	2,00
ARO38	1,75	7,00	1,25
Rata - rata	1,34	5,14	1,44

Keterangan: * Nilai indeks rata-rata dari 3 kali ulangan.

Standar deviasi (s) dari indeks amilase = 0,7; protease = 2,01; selulase = 0,92

Tabel 2. Nilai indeks amilase, protease, dan selulase *Bacillus* sp. pada ketinggian 1000 m dpi dan pH 7,0.

Nomor Isolat	Indeks amilase*	Indeks protease*	Indeks selulase"
AR039	-	3,50	-
AR 040	1,39	4,67	-
AR041	3,67	4,86	
AR042	2,75	7,60	1,20
AR043	1,92	5,78	2,50
AR 044	.	4,17	-
AR045	1,21	1,62	-
AR046	-	3,29	-
AR047	2,50	4,20	1,33
AR048	-	3,82	1,50
AR049	1,17	4,80	1,43
AR050	2,08	7,00	1,13
AR051	1,27	9,00	7,33
AR052	1,82	5,00	1,20
AR053	1,14	2,10	1,25
AR054	2,00	4,60	2,00
Rata-rata	1,43	4,75	1,31

Keterangan: • Nilai indeks rata-rata dari 3 kali ulangan.
Standar deviasi (s) amilase = 1,08; protease = 1,91; selulase = 1,80

Tabel 3. Nilai indeks amilase, protease dan selulase *Bacillus* sp. pada ketinggian 1500 m dpi dan pH 7,0.

Nomor Isolat	Indeks amilase*	Indeks protease'	Indeks selulase*
AR055	1,82	-	1,33
AR056	3,33	7,14	1,50
AR057	2,33	1,36	2,00
AR058	2,33	6,33	2,00
AR059	1,56	4,00	1,67
AR060	1,88	5,60	1,50
AR061	2,45	4,80	1,17
AR062	1,88	6,67	2,50
AR063	2,38	-	2,00
AR064	-	1,85	-
AR065	2,50	7,00	2,00
AR066	-	-	-
AR 067	1,67	6,67	2,00
AR 068	2,57	4,00	2,00
AR069	-	7,33	-
AR070	.	4,00	-
AR071	-	-	1,22
AR072	-	6,00	-
Rata - rata	1,48	4,04	1,27

Keterangan: ^a Nilai indeks rata-rata dari 3 kali ulangan.
Standar deviasi (s) amilase = 1,15; protease = 2,79; selulase= 0,88

Aktivitas amilolitik

Data hasil pengamatan (Tabel 1) menunjukkan bahwa dari 50 isolat *Bacillus* sp. yang diuji aktivitas amilolitiknya, 37 isolat menunjukkan hasil positif dan 13 isolat menunjukkan hasil negatif. *Bacillus* sp. AR 041 memiliki indeks amilolitik tertinggi yaitu 3,67 diikuti oleh *Bacillus* sp. AR 056 sebesar 3,33. Kelompok *Bacillus* yang diisolasi dari ketinggian 1500 m dpi memiliki nilai rata-rata indeks amilase tertinggi yaitu 1,45.

Aktivitas proteolitik

Dari 50 isolat *Bacillus* sp. yang diperoleh dari TNGH, 46 isolat mampu menghasilkan enzim protease dan 4 isolat menunjukkan hasil yang negatif (Tabel 1). Dari 46 isolat *Bacillus* sp. yang mampu menghasilkan enzim protease, *Bacillus* sp. AR 023 menunjukkan indeks proteolitik tertinggi yaitu 9,33 diikuti oleh *Bacillus* sp. AR 051 dengan indeks proteolitik sebesar 9,00, sedangkan *Bacillus* sp. AR 057 menunjukkan indeks proteolitik terkecil dengan nilai 1,36. Kelompok *Bacillus* yang diisolasi dari ketinggian 600 m dpi memiliki nilai rata-rata indeks protease tertinggi yaitu 5,14.

Aktivitas selulolitik

Hasil seleksi bakteri selulolitik pada media bersumber karbon CMC (*carboxy methyl cellulose*) terpilih 36 isolat *Bacillus* sp. dari total 50 isolat yang ada menunjukkan hasil yang positif (Tabel 1). *Bacillus* sp. yang memiliki aktivitas selulolitik terbesar yaitu isolat *Bacillus* sp. AR 051 yang memiliki indeks selulolitik sebesar 7,33 diikuti oleh *Bacillus* sp. AR 023 dan AR 035 dengan nilai indeks selulolitik sebesar 3,00. Kelompok *Bacillus* yang diisolasi dari ketinggian 600 m dpi memiliki nilai rata-rata indeks protease tertinggi yaitu 1,44.

Aktivitas fosfatase

Dari 50 isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi dari TNGH, hanya ada 3 isolat yang menunjukkan hasil positif. Ketiga isolat tersebut yaitu *Bacillus* sp. AR 028, *Bacillus* sp. AR 032 dari ketinggian 600 m dpi dan *Bacillus* sp. AR 063 yang diisolasi dari ketinggian 1500mdpl(Tabel4).

Aktivitas ligninolitik

tiga isolat *Bacillus* sp. menunjukkan hasil yang

positif pada media *poly R* untuk skrining aktivitas ligninolitik. Ketiga isolat tersebut yaitu *Bacillus* AR. 046 yang diisolasi dari ketinggian 1000 m dpi dan *Bacillus* sp. AR 051 dan AR 053 yang diisolasi dari ketinggian 1500mdpl(Tabel4).

PEMBAHASAN

Hasil skrining terhadap potensi aktivitas enzim yang dimiliki oleh golongan *Bacillus* sp. dari TNGH membuktikan bahwa mayoritas isolat *Bacillus* sp. memiliki potensi dalam menghasilkan enzim protease, selulase dan amilase. Perbedaan kemampuan masing-masing isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi pada ketinggian yang berbeda menunjukkan bahwa perbedaan ketinggian mempengaruhi keanekaragaman jenis dari *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim-enzim tertentu. Data ini dapat dilihat pada Tabel 1, 2 dan 3.

Berdasarkan nilai indeks amilase pada Tabel 1,2 dan 3, menunjukkan bahwa isolat-isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi dari ketinggian 1500 m dpi memiliki kemampuan menghasilkan amilase lebih tinggi jika dibandingkan dengan isolat-isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi dari ketinggian 600 m dan 1000 m dpi. Sedangkan pada skrining protease dan selulase, isolat-isolat *Bacillus* sp yang diisolasi dari ketinggian 600 m dpi memiliki potensi yang lebih besar dibandingkan dengan isolat-isolat *Bacillus* sp yang diisolasi dari ketinggian 1000 m dan 1500 m dpi. Penyebaran yang luas dari kelompok *Bacillus* sp. di TNGH menunjukkan bahwa kelompok *Bacillus* sp. di daerah ini memiliki peranan yang cukup besar dalam mempertahankan kondisi lingkungan temp at mereka berada. Kemampuan kelompok ini dalam menghasilkan enzim selulase menunjukkan peranannya dalam siklus karbon. *Bacillus* sp. bersama dengan *yeast* dan jamur masing-masing menghasilkan enzim selulase yang berbeda dan mampu mempercepat proses dekomposisi dari materi organik di dalam tanah (Sudiana, 2002b). Aktivitas dari kompleks enzim tersebut secara signifikan mempengaruhi kondisi alamiah tanah yang meliputi komposisi spesies, kelembaban tanah, pH, suhu, dan kondisi aerasi tanah (Rao, 1994).

Tabel 4. Hasil skrining aktivitas enzimphosphatase dan ligninase *Bacillus* sp.

Dae ^{ah} [mrt* ^g fd ⁿ pl ^{gia11}	Nomorlsolat	Fosfat.se-	Ligninase'
600	AR023	-	-
	AR024	-	-
	AR 025	-	-
	AR026	-	-
	AR 027	-	-
	AR 028	+	-
	AR029	-	-
	AR030	-	-
	AR031	-	-
	AR032	+	-
	AR033	-	-
	AR034	-	-
	AR035	-	-
	AR036	-	-
	AR037	-	-
	AR038	-	-
1000	AR039	-	-
	AR040	-	-
	AR041	-	-
	AR042	-	-
	AR043	-	-
	AR 044	-	-
	AR 045	-	-
	AR046	-	+
	AR 047	-	-
	AR048	-	-
	AR 049	-	-
	AR050	-	-
	AR051	-	+
	AR 052	-	-
	AR053	-	+
	AR054	-	-
1500	AR055	-	-
	AR056	-	-
	AR057	-	-
	AR 058	-	-
	AR059	-	-
	AR060	-	-
	AR061	-	-
	AR062	-	-
	AR 063	+	-
	AR 064	-	-
	AR 065	-	-
	AR066	-	-
	AR067	-	-
	AR068	-	-
	AR069	-	-
	AR070	-	-
	AR071	-	-
	AR072	-	-

Keterangan: "Percobaan menggunakan 3 kali ulangan.

Hasil positif juga ditunjukkan dari *screening* aktivitas enzim fosfatase dan ligninase. Meskipun sedikit sekali bakteri pelarut fosfat dari golongan *Bacillus* sp., tetapi dari *screening* diperoleh 3 isolat bakteri pelarut fosfat (*Bacillus* sp. AR 028, *Bacillus* sp. AR 032 dari ketinggian 600 m dpi dan *Bacillus* sp. AR 063 yang diisolasi dari ketinggian 1500 m dpi) dan 3 isolat bakteri yang menghasilkan aktivitas ligninase (*Bacillus* AR. 046 yang diisolasi dari ketinggian 1000 m dpi dan *Bacillus* sp. AR 051 dan AR 053 yang diisolasi dari ketinggian 1500 m dpi). Sangat sedikit sekali referensi yang menyatakan aktivitas ligninolitik yang tinggi diperoleh dari golongan bakteri, karena secara umum kelompok mikroba yang mampu menghasilkan enzim ligninase dengan aktivitas tinggi yaitu dari kelompok jamur (Chahal, 1991). Dengan diperolehnya 3 isolat yang mampu menghasilkan enzim ligninase, menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. memiliki kemampuan untuk menguraikan lignin. Hasil ini menunjukkan potensi dari tanah di kawasan konservasi TNGH sebagai *reservoir* bagi mikroba penghasil ligninase. Enzim ini sangat berguna dalam proses *biobleaching* dan *biopulping* pada industri pulp dan kertas (Camarero dkk., 1994).

Bacillus sp. memainkan peranan yang penting dalam penguraian materi organik di tanah. *Bacillus* sp. menghasilkan beberapa jenis enzim ekstraselular yang akan menghidrolisa substansi organik dan juga memainkan peranan yang cukup penting sebagai mediator bagi transformasi mikroelemen yang diperlukan tumbuhan. Pemahaman yang lengkap mengenai ekologi dan fisiologi dari mikroba yang terlibat dalam siklus nutrient sangat penting dalam manajemen ekosistem hutan (Sudiana, 2002b). Aktivitas in-situ dari mikroba pada tanah ekosistem hutan dapat dipelajari dengan menggunakan analisa in-situ biomassa, rata-rata *soil respiration*, dan perubahan nutrien di tanah (Anderson dan Ingram, 1993).

KESEMPULAN

Lima puluh isolat *Bacillus* sp. (*Bacillus* sp. AR 023 - AR 072) diperoleh dari hasil identifikasi *Bacillus* sp. yang diisolasi dari tiga daerah ketinggian yaitu 600m, 1000m, dan 1500m. 37 isolat menunjukkan hasil positif pada *screening* aktivitas amilolitik, 46

isolat pada aktivitas proteolitik, 36 isolat pada aktivitas selulolitik, 3 isolat pada *screening* aktivitas fosfatase, dan 3 isolat mampu menghasilkan enzim ligninase. Perbedaan kemampuan masing-masing isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi dari TNGH pada ketinggian yang berbeda dalam menghasilkan enzim ekstraselular yang diujikan menunjukkan bahwa perbedaan ketinggian mempengaruhi keanekaragaman jenis dari *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim-enzim tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander M. 1961. *Introduction to Soil Microbiology*. John Wiley & Sons, New York and London, 19-38.
- Anderson JM and JSI Ingrain. 1993. *Tropical Soil Biology and Fertility, A Handbook of Methods*. Second edition. CAB International. UK.
- Camarero S, JM Barrasa, M Pelayo and AT Martinez. 1998. Evaluation of *Pleurotus* species for wheat-straw biopulping. *J. Pulp Paper Sci.* **24**, 197-203.
- Chahal DS. 1991. Lignocellulosic wastes biological conversion, in *Bioconversion of Waste Materials to Industry Products*. 1st Eds (in AM Martin (ed)), Elsevier, London, 376-379.
- Gaur AC. 1981. Phospho-Microorganisms and Various Transformations In Compost Technology. *Project Field Document No. 13*, FAO, 106-111.
- Holt JG, NR Krieg, PHA Sneath, JT Staley, and ST Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.
- Levine, M. 1954. *Laboratory Technique In Bacteriology*. Third Edition. The MacMillan Company. New York, Him. 121-126.
- Paterson RRM and PD Bridge. 1994. *Biochemical Techniques for Filamentous Fungi*. International Mycological Institute. An Institute of CAB International, 23-24.
- Privastava RAK and JN Baruah. 1986. Culture Condition for Production of Thermostable Amylase by *Bacillus stearothermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology* **52** (1), 179-184.
- Rao NSS. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi ke-2. Universitas Indonesia.
- Rodina AG 1972. *Methods In Aquatic Microbiology*. University Park. Baltimore. Butterworths. London, 251-257.
- Smibert RM and NR Krieg. 1994. Phenotypic Characterization. In: P Gerhart, RGE Murray,

- = *v.»,"j> WA Wood, and N. Krieg (eds.). *Methods for General and Molecular Bacteriology*. ASM., Washington, 607-654.
- Suciatmih and K Kramadibrata. 2002.** Arbuscular Mycorrhizal Fungi at Different Ecosystems of Gunung Halimun National Park. *Berita Biologi* 6 (1), 145-149.
- Sudiana IM, RD Rahayu, H Imamuddin, and M Rachmansyah. 2001.** Cellulolytic Bacteria of Soil of Gunung Halimun National Park. *Berita Biologi* 5 (6), 703-710.
- Sudiana IM. 2002a.** Phosphatase Activity of *Bacillus* sp. Isolated From Forest Soil of Gunung Halimun National Park. *Berita Biologi* 6 (1), 49-56.
- Sudiana IM. 2002b.** Characteristic of CMC-ase of *Bacii*:-^ sp. Isolated From Gunung Halimun National Pan. *Berita Biologi* 6(1), 131-136.
- Trevers RS, PAW Martin and CF Reichelderfer. 198"** Selective Process for Efficient Isolation of So. *Bacillus* spp. *Applied and Environmentc Microbiology* Si (6), 1263-1266.
- Waksman SA. 1932.** Principles of Soil Microbiology Second Edition. The Williams & Wilkin; Company. Baltimore, 543-565.
- Widawati S and Suliasih. 2001.** The Population o: Nitrogen Fixing Bacteria and Phosphate Solubilizing Bacteria in The Rhizosphere from Gunung Halimun National Park. *Berita Biologi* 5 (6), 691-696.