

**ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM PROTEASE
STAPHYLOCOCCUS HOMINIS PADA ONCOM MERAH PASCA
FERMENTASI 120 JAM**

**Aulia Harun¹⁾, Sakti Imam Muchlissin²⁾, Ana Hidayati Mukaromah³⁾, Sri Darmawati¹⁾,
Stalis Norma Ethica³⁾**

¹Program Studi D4 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Indonesia.

Email: auliaharun13@gmail.com, ciciekdarma@unimus.ac.id

²Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

Email: muchlissin@outlook.com

³Program Studi D3 Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan (FIKKES), Universitas Muhammadiyah Semarang, Indonesia

Email: norma@unimus.ac.id, ana_hidayati@unimus.ac.id

Abstract

Enzymes are complex protein molecules produced by living cells playing a role as catalysts in various chemical processes in the body. Among enzymes playing an important role in human life is protease. The purpose of this study was to determine the presence of protease – producing bacteria found on 120-h post-fermented oncom and to identify the bacteria based on its 16S rRNA gene analysis. Bacterial isolation and purification was carried out using Nutrient Agar media with spread technique. Of the six bacterial isolates isolated from the oncom sample after 120 hours of fermentation, there was one isolate that had protease activity, namely IROD 5. The protease enzyme income test was carried out using Skim Milk Agar media. Molecular identification process was carried out through sequential analysis of 16S rRNA using PCR method using primers forward F: 5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3' and reverse R: 5'-GGTTACCTTGTTAC. GACTT-3' primers' followed by sequencing process. The protease enzyme production test to bacterial isolate was conducted using Skim Milk Agar. Molecular identification was performed through analysis of 16S rRNA gene sequence using PCR method followed by sequencing process. A single bacterial isolate having proteolytic activity was obtained based on observation of the clear zone of protease surrounding the bacterial colony with a diameter of 72 mm. The 16S rRNA gene sequence of the obtained proteolytic bacterial strain IROD5 has been obtained and analysis on the gene sequence resulted 99% similarity levels with sequence of similar genes of Staphylococcus hominis. As conclusion, the obtained bacterial isolate in this study is a potential protease enzyme producer and molecularly identified as Staphylococcus hominis strains IROD5.

Keyword : *Protease Enzyme, Gen 16S rRNA, Red Oncom*

1. PENDAHULUAN

Enzim adalah molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh. Industri enzim berkembang sangat luas dan berperan penting dalam bidang industri (Yunita, 2014). Menurut Suranto (2011), enzim berperan penting dalam kehidupan semua makhluk hidup, terutama pada manusia. Salah satu Enzim yang berperan penting dalam kehidupan manusia adalah Enzim

protease. Enzim protease berperan sebagai penyokong kondisi tubuh agar tetap sehat luar dan dalam. Enzim protease mampu mencerna serpihan-serpihan yang tidak diinginkan dalam darah termasuk bakteri dan virus (Yunita, 2014).

Indonesia dikenal sebagai negara yang telah memanfaatkan enzim protease dalam bidang industri pengolahan pangan seperti susu, roti, dan secara tradisional digunakan sebagai pelunak daging. Pentingnya enzim protease dan tingginya harga jual enzim protease mendorong para ilmuwan untuk mencari sumber – sumber enzim protease yang baru yang dapat menghasilkan lebih banyak protease dan memiliki aktivitas tinggi (Melliawati, 2015).

Isolasi bakteri penghasil protease dalam media *Nutrient Agar* yang tidak mengandung sumber karbohidrat tetapi memiliki kandungan sumber nitrogen yang cukup baik untuk pertumbuhan bakteri. Namun, kapang dan khamir tidak dapat tumbuh dengan baik. Kemudian dilanjutkan dalam media *Skim Milk Agar* dengan kandungan kasein sebagai protein susu akan dipecah oleh mikroorganisme proteolitik menjadi senyawa nitrogen terlarut sehingga pada koloni dikelilingi area bening (Fatoni dkk., 2008).

Enzim protease dari mikroba cenderung lebih sering digunakan saat ini, karena dapat tumbuh dengan mudah, memiliki produktivitas yang tinggi, sifat yang lebih menguntungkan dan berkembangnya pengetahuan mengenai teknik fermentasi (Suhartono, 1989).

Saat ini, harga protein hewani yang berasal dari daging, ikan, telur dan susu semakin mahal sehingga tidak terjangkau oleh masyarakat luas, khususnya yang berpendapatan pas-pasan. Untuk mencegah meluasnya masalah kekurangan gizi terutama protein di masyarakat, perlu digalakkan pemakaian sumber-sumber protein nabati. Penggunaan protein nabati dari kacang-kacangan (seperti tahu, tempe, dan oncom) telah terbukti ampuh untuk mengatasi masalah kekurangan gizi dan protein tersebut (Siswono, 2002).

Penelitian Chayadi (2010) menyatakan bahwa oncom sebagai makanan khas dari Jawa Barat yang merupakan warisan nenek moyang bangsa Indonesia, memiliki nilai gizi yang baik dan harganya pun sangat terjangkau, namun sosialisasi oncom di Indonesia masih sangat minim. Oncom masih kalah terkenal dibandingkan hasil olahan kacang-kacangan yang lain, seperti tahu dan tempe. Banyak masyarakat Indonesia yang belum mengetahui bahwa oncom merupakan makanan tradisional yang bergizi tinggi sehingga banyak yang mengabaikan makanan tradisional ini. Sebagai salah satu makanan tradisional hasil fermentasi, sebenarnya oncom pun tidak kalah dari tempe dan tahu. Oncom memiliki kandungan protein yang tinggi, selain itu oncom juga dapat diolah menjadi pepes, sayur tumis campur leunca, sayur lodeh, keripik oncom, combro (oncom dijero), dan berbagai macam makanan enak lainnya.

PCR atau polimerisasi berantai adalah teknik amplifikasi (perbanyak) DNA spesifik dengan melakukan proses pemanjangan nukleotida dari primer yang merupakan pasangan komplementer dari utas DNA secara simultan. Proses pemanjangan nukleotida dilakukan oleh DNA polimerase berdasarkan cetakan DNA (Bardacki, 1994).

Pada peneliti sebelumnya telah dilakukan pada oncom segar. Namun pada oncom pasca fermentasi belum. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian isolasi bakteri penghasil enzim protease pada oncom merah pasca fermentasi 120 jam dan identifikasi molekuler bakteri berbasis gen 16S rRNA.

2. KAJIAN LITERATUR

Oncom sendiri merupakan makanan olahan berasal dari kedelai, nilai gizinya hampir sama dengan tahu dan tempe, mengandung protein dan lemak yang baik bagi tubuh. Oncom bisa menjadi salah satu sumber alternatif asupan gizi yang baik bagi tubuh. Proses fermentasi yang digunakan dalam pembuatan oncom ini, dapat mengurai struktur kimia dari bahan-

bahan pembuatannya menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga akan lebih mudah dicerna dan dimanfaatkan oleh tubuh (Nuraini dkk., 2015).

Protease adalah enzim yang berperan dalam reaksi pemecahan protein. Beberapa sumber yang dapat menghasilkan enzim ini, yaitu dari tumbuhan, hewan dan mikroba. Mikroba lebih sering digunakan karena kemampuannya untuk menghasilkan enzim yang bersifat termotabil (Pramitha, 2014).

Enzim protease sangat penting dalam banyak prosedur pemrosesan makanan industri. Reaksi yang dikatalisis oleh enzim protease ialah hidrolisis ikatan peptida protein, dimana reaksi ini merupakan persyaratan yang khas untuk hidrolisis ikatan peptida oleh enzim protease (deMan, 1997).

Bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu mendegradasi protein, karena memproduksi enzim protease ekstraseluler. Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Untuk menentukan kemampuan mikroorganisme dalam mensekresikan protease yang dapat mendegradasikan protein (Wikandar, 2012).

Seiring perkembangan zaman telah dikembangkan metode identifikasi berbasis molekuler yang lebih cepat dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, yaitu dengan analisis sekuensing gen 16S rRNA (16S *ribosomal Ribonucleic acid*) yaitu Asam ribonukleat pengkode ribosom 16S, S menyatakan *Svedberg*, yaitu satuan ukuran ribosom (Rinanda, 2011).

Sekuensing gen 16S rRNA diperlukan dalam menentukan urutan nukleotida pada fragmen DNA yang terdeteksi dari hasil visualisasi DNA yang teramplifikasi dalam proses PCR. Selain itu, sekuensing gen 16S rRNA mampu mencari kesamaan urutan nukleotida gen 16S rRNA dalam menentukan spesies bakteri resisten (Fatimawali, 2011).

PCR adalah suatu metode *in vitro* untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari sejumlah kecil template kompleks. PCR merupakan suatu teknik sangat kuat dan sensitive yang dapat diaplikasi dalam berbagai bidang seperti biologi molekuler, diagnostic, genetika populasi dan analisis forensic (Anggereini, 2012).

Elektroforesis merupakan suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi campuran berdasarkan atas pergerakan partikel – partikel koloid yang bermuatan, dibawah pengaruh medan listrik. Cara elektroforesis banyak digunakan untuk analisa asam nukleat, virus, enzim dan protein (Bintang, 2010).

Metode sekuensing telah mengalami perkembangan yang cukup pesat. Perkembangan teknologi saat ini telah memungkinkan dilakukannya analisis terhadap jutaan sekuens DNA per tahun. Sekuensing merupakan proses penentuan urutan nukleotida pada suatu fragmen DNA atau RNA. Pada dasarnya ada dua metode yang digunakan yaitu metode Maxam-Gilbert dan metode Sanger yang keduanya diperkenalkan pada tahun 1977 (Muliani, 2016).

3. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini dilakukan dengan menggunakan analisis deskriptif untuk mendapatkan data yang diperlukan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kelautan dan Oseanografi Universitas Diponegoro Semarang, Jawa Tengah. Waktu penelitian di laksanakan pada bulan April – Mei. Tahun 2018. Dalam penelitian digunakan sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam.

Sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam ditimbang sebanyak 1 gram, oncom merah diencerkan dengan NaCl fisiologis 9 ml sampai dengan pengenceran 10^{-5} , masing – masing pengenceran di diratakan pada media *Nutrient Agar* menggunakan *triangel* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Proses penanaman pada media *Nutrient*

Agar di ulang sebanyak 3 kali hingga diperoleh isolat murni. Setelah didapat isolat tunggal dilakukan uji aktivitas proteolitik. Uji skrining ini dilakukan pada media *Skim Milk Agar*. Pada pengujian ini dilihat zona bening yang dihasilkan.

Isolat yang menghasilkan zona bening di re-cultur ke media *Nutrient Agar* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan isolasi DNA genom, isolat bakteri diambil secukupnya lalu dimasukkan dalam tabung mikrotube yang berisi 100 µl ddH₂O dan 1 ml saponin 0,5% dalam PBS 1x, biakan bakteri kemudian di inkubasi selama 24 jam (suhu 4 °C), campuran yang sudah diinkubasi kemudian disentrifuse 12000 rpm selama 10 menit lalu dibuang supernatannya, 1 ml *Phosphate Buffer Lysis* dimasukkan ke campuran, kemudian campuran disentrifuse kembali selama 5 menit dengan kecepatan 12000 rpm lalu supernatannya dibuang, lalu ditambahkan 100 µl ddH₂O dan 50 µl chelex 100 20% , kemudian di masukkan ke dalam waterbath selama 10 menit , campuran divortex setiap 5 menit, campuran kemudian disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 12000 rpm, pellet yang terdapat disupernatan dasar tabung mikrotube dipindahkan kedalam microtube dan ditambahkan larutan TE sebanyak 100 µl, pellet DNA kemudian simpan dalam suhu -20 °C, didapat stok DNA untuk dilanjutkan ke tahap uji kuantifikasi DNA. Kemudian uji kuantitas ekstrak DNA dengan spektrofotometer NanoDrop, Ekstrak DNA dipipet 200 µl + 4800 µl ddH₂O dihomogenkan, absorbansi dibaca menggunakan nanodrop dengan 260 nm dan 280 nm, dihitung dengan rumus $260/280$.

DNA di amplifikasi dengan primer gen 16S rRNA, dimasukkan ddH₂O 6 µl, Promega Master Mix 12,5 µl, Primer *forward* 2 µl, Primer *reverse* 2 µl, DNA template, 2,5 µl ke dalam mikrotube, dimasukkan mikrotube berisi campuran ke alat PCR lalu di tunggu selama kurang lebih 2 jam. Setelah proses PCR selesai, hasil amplifikasi di lanjutkan ke proses elektroforesis, Loading dye dipipet sebanyak 4 µl, sampel ditambahkan sebanyak 6 µl kemudian larutan disuspensi, larutan dimasukkan ke dalam sumuran menggunakan mikropipet, marker dipipet sebanyak 5 µl lalu di masukkan ke dalam sumuran gel agarose, kemudian dihubungkan alat elektroforesis pada sumber listrik (*power supply*) tegangan 100 volt selama ± 1 jam. hasil running elektroforesis dibaca di UV Transluminator. Sekuen hasil sekuensing dianalisis secara bioinformatika dan dicocokkan hasilnya pada Gen *bank* www.ncbi.nlm.nih.gov melalui program *BLAST* .

4. HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian didapatkan total jumlah bakteri koloni yang diperoleh dari proses isolasi dari sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam adalah 6 koloni bakteri murni dengan morfologi koloni yang berbeda. Karakteristik morfologi masing – masing isolat dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel. 1. Morfologi Koloni Bakteri pada Oncom Merah pasca fermentasi 120 jam

Kode Koloni	Bentuk	Warna	Ukuran	Tepi	Elevasi	Konsistensi
IROD 5.1	Bergerigi	Putih	Besar	Tidak Rata	Cembung	Kering
IROD 5.2	Bergerigi	Putih	Kecil	Tidak Rata	Cembung	Berlendir
IROD 5.3	Bulat	Putih	Besar	Rata / licin	Cembung	Berlendir
IROD 5.4	Bulat	Putih	Kecil	Rata / licin	Cembung	kering
IROD 5.5	Bulat	Putih	Kecil	Rata / licin	Cembung	Berlendir

IROD 5.6 Bulat Kuning Kecil Rata / Cembung Berlendir
licin

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa 6 koloni bakteri yang ditemukan pada isolasi oncom merah pasca fermentasi 120 jam memiliki morfologi dan karakteristik yang berbeda.

Koloni bakteri yang ditemukan pada isolasi bakteri pada sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam diidentifikasi karakteristik dan jenisnya berdasarkan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram koloni bakteri dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut :

Tabel. 2. Karakteristik koloni bakteri pada pewarnaan Gram

Kode Koloni	Karakteristik Koloni pada Pewarnaan Gram
IROD 5.1	Basil Gram-positif bergerombol
IROD 5.2	Basil Gram-positif berderet
IROD 5.3	<i>Coccus</i> Gram-negatif bergerombol
IROD 5.4	<i>Coccus</i> Gram-negatif bergerombol
IROD 5.5	<i>Coccus</i> Gram-negatif bergerombol
IROD 5.6	<i>Coccus</i> Gram-positif bergerombol

Setelah pengamatan morfologi koloni, pada penelitian ini dilakukan pewarnaan Gram terhadap sel-sel bakteri. Pengamatan pewarnaan Gram berdasarkan tabel 8 menunjukkan 3 isolat bakteri bersifat Gram-negatif dan 3 isolat yang bersifat Gram-positif, dengan bentuk sel basil dan kokus.

Berdasarkan hasil dari isolasi dan identifikasi bakteri, maka dipilih satu bakteri dengan bentuk sel yang unik untuk selanjutnya dilakukan uji enzimatik penghasil enzim protease. Bakteri yang dipilih adalah isolat dengan kode sampel E diberi label IROD5.

Koloni bakteri yang telah diisolasi dan diidentifikasi kemudian dilakukan uji enzimatik untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah protein. Hasil uji enzimatik koloni bakteri dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut



Gambar 1. (a) Hasil uji enzimatik (b) pengukuran zona bening

Isolat IROD 5 menghasilkan protease dalam jumlah besar, berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan jumlah diameter zona bening adalah 72 mm.

Berdasarkan hasil uji enzimatik, isolat IROD 5 kemudian dilanjutkan ke tahap uji kuantifikasi nilai absorbansi.

Uji kuantifikasi ekstrak DNA genom yang diperoleh berdasarkan prinsip absorbansi DNA menggunakan NanoDrop spektrofotometre diperlukan untuk mengetahui berapa volume isolat hasil ekstraksi DNA templat dalam PCR (Nuraida, 2016).

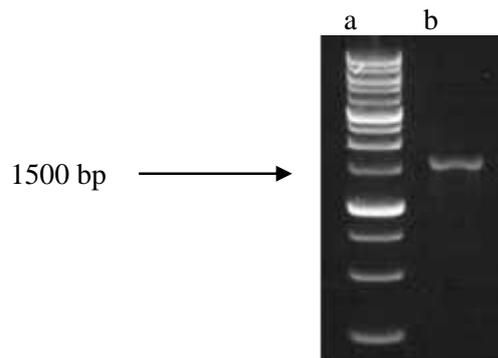
Tabel. 3. Hasil kuantifikasi nilai absorbansi isolat IROD5

No	Sampel ID	Nucleic Acid Conc	A260	A280	$\frac{260}{280}$
1	IROD 5	45, 5 (ng/ μ l)	0,91	0,289	3,15

Pada penelitian ini, nilai rasio konsentrasi DNA pada panjang gelombang 260/280 adalah 3,15. Nilai ini jauh berada diatas nilai standar yaitu antara rasio 1,8-2,0. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh sampel DNA yang tidak murni disebabkan oleh adanya sisa-sisa etanol atau adanya sisa kandungan metabolit sekunder bakteri yang diekstrak. Namun pada hasil dengan rasio di atas 2,0, selama visualisasi ekstrak DNA masih menunjukkan pita yang tebal, maka isolat DNA dapat digunakan sebagai templat PCR (Fatchiyah dkk.,2011).

Berdasarkan hasil perhitungan absorbansi dan hasil visualisasi ekstrak DNA dapat dikatakan genom bakteri dengan kemurnian yang cukup dapat digunakan sebagai *template* untuk PCR gen 16S rRNA.

Produk amplifikasi fragmen DNA 16S rRNA pada PCR konvensional divisualisasikan dan kualitasnya divisualisasikan menggunakan gel elektroforesis. Hasil gel elektroforesis produk amplifikasi fragmen gen 16S rRNA bakteri isolat IROD5 dapat dilihat pada gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 2. Hasil amplifikasi fragmen 16S rRNA isolat IROD5
a. marker b.IROD 5

Berdasarkan gambar hasil amplifikasi fragmen 16S rRNA didapatkan pita gen 16S rRNA pada 1500 bp yang kemudian dilanjutkan ke tahap sekuensing. Hasil sekuensing amplifikasi gen 16S rRNA dengan primer B27F dan U1492R didapat data nukleotida yang layak untuk dianalisis (Widyadnyana dkk., 2015).

Uji sekuensing dilakukan untuk menentukan urutan nukleotida pada fragmen DNA yang terdeteksi dari hasil visualisasi DNA yang teramplifikasi dalam proses PCR menggunakan mesin sekuensing DNA otomatis (Fatimawali, 2013).

Jumlah salinan gen 16S rRNA di Bakteri beragam (1-15) di setiap Genom. Setiap salinan memiliki ukuran sekitar 1500 Bp. Marchandin *dkk*. (2003) dalam Darmawati *dkk*. (2014) mengatakan urutan gen 16S rRNA di setiap salinan setiap organisme itu identik.

Penentuan urutan DNA (sekuensing) dilakukan melalui jasa komersial *1 st Base DNA Sequencing, Malaysia*. Pemeriksaan hasil sekuens dilakukan dengan menggunakan MEGA 7.0, kemudian hasil dimasukkan ke program BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool – for nucleotide*) melalui website NCBI (*National Center for Biotechnology Information*).

Sekuen yang diperoleh dari 1st Base DNA Sequencing ditampilkan pada lampiran 2. Urutan basa nitrogen yang diperoleh oleh sekuensing dengan program BLAST

menunjukkan kemiripan 99% dengan fragmen gen 16S rRNA isolat bakteri *Staphylococcus hominis* strain K23 (Kode akses Genbank: [KU922442.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/KU922442.1)). Sehingga isolat diberi nama *Staphylococcus hominis* strain IROD5 (IROD5= Indonesian Red Oncom Day-5).

Bakteri *S. hominis* ditemukan pada oncom pasca fermentasi 120 jam. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya kontaminasi akibat pengolahan dengan tangan pada proses pembuatan oncom, sehingga terjadi kontak kulit manusia dengan oncom.

Hal ini sejalan dengan kenyataan bahwa saat ini pembuatan oncom masih banyak dilakukan secara tradisional dan manual di rumah-rumah sebagai bagian dari industri rumah tangga. Dengan kemampuan menghasilkan zona bening protease yang telah ditunjukkan dan dengan memperhatikan sifat bahayanya, *Staphylococcus hominis* strain IROD5 berpotensi menjadi sumber protease non pangan, yang diharapkan dapat dieksplorasi dalam skala yang lebih besar.

5. SIMPULAN

Isolasi bakteri dari sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam didapat enam isolat bakteri, dari keenam isolat bakteri terdapat satu isolat bakteri yaitu isolat IROD 5, dengan morfologi sel *Coccus* Gram-negatif bergerombol yang memiliki aktivitas protease ditandai dengan terbentuknya zona bening berdiameter 72 mm di sekeliling koloni bakteri pada medium *Skim Milk Agar*.

Proses identifikasi molekuler isolat IROD5 menghasilkan sekuen gen 16S rRNA dengan urutan nukleotida yang menunjukkan tingkat kesamaan 99% dengan urutan nukleotida gen 16S rRNA bakteri *Staphylococcus hominis* sehingga isolat IROD5 dinyatakan sebagai bakteri *Staphylococcus hominis* strain IROD5 (*Indonesian Red Oncom Day-5*).

6. REFERENSI

- Anggereini, E. *Random amplified polymorphic DNA (RAPD), suatu metode analisis DNA dalam menjelaskan berbagai fenomena biologi*. *Biospecies*, 2012, 1.2.
- Chayadi, Adityo; Surya, Angga. *Penangkapan mikroba mixed culture dari alam sebagai inokulum dalam pembuatan ragi oncom menggunakan media kacang tanah, kedelai, dan jagung*. 2010. PhD Thesis. Teknik Kimia UNDIP.
- Darmawati,S., Sembiring,L., Asmara,S., Artama.W.T., Kawaichi.M. 2014. Phylogenetic relationship of Gram Negative Bacteria of *Enterobacteriaceae* Family in the Positive Widal Blood Cultures based on 16S rRNA Gene Sequences. *Indonesian Journal of Biotechnology*. Vol. 19, No. 1, pp.64-70.
- deMan,J.M. 1997.,*Kimia Makanan*. 2nd ed,ITB. Bandung.
- Ethica, S. N. (2014). *Detection Of Genes Involved In Glycerol Metabolism Of Alcaligenes sp . JG3*.
- Fatchiyah dkk., 2011., *Biologi Molekuler-Prinsip Dasar Analisis*. 8th ed.,Erlangga. Jakarta.
- Fatimawali; Badaruddin, F; Yusuf, I. *Isolasi dan identifikasi bakteri resisten merkuri dari muara Sungai Sario yang dapat digunakan untuk detoksifikasi limbah merkuri*. *Jurnal Ilmiah Sains*, 2011, 11.2: 282-288
- Fatimawali. 2013. Identifikasi Mikrobiologi dan Analisis Gen 16S rRNA Bakteri Resistensi Merkuri Isolat S3.2.2 yang Diperoleh dari Limbah Tambang Rakyat. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. Vol 2. No 04.
- Fatoni, A.Z & Puji.L., 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Tahu*. *Jurnal Natur Indonesia*, 10.2.83-88.
- Melliawati R. 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Enzim Protease. *Pros Sem Nas Masy Biodiy Indon*, 1.2. 184 – 188.

- Muliani, A. 2016. *Identifikasi Keragaman Gen Growth Hormone Pada Domba Ekor Tipis Sumatera*. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.
- Nuraida, F. 2016. EKSTRAKSI DNA *Salmonella* TIFOID. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung Bandar Lampung.
- Nuraini.,dkk. *Batu Bata Belanda Krenyesinovasi Makanan Untuk Memberdayakan Makanan Lokal*. 2015.
- Pramitha,D.A.I. 2014. Produksi dan Aplikasi Protease Termotabil. Tesis. Pasca Sarjana Universitas Udayana, Bali.
- Rinanda, T. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA Di Bidang Mikrobiologi. Jks, 3, 172–177
- Widyadnyana,D.G.A., I Dewa, M.S. & I Wayan,S. 2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA. *Jurnal Sain Veteriner*. 33. 2
- Yunita dkk., Uji Aktivitas Enzim Protease Dari Isolat Bacillus sp. Galur Lokal Riau. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 2014, 2.1: 116-122.