

POTENSI BAKTERI HETEROTROFIK DALAM MENGURANGI TINGKAT PENCEMARAN PERAIRAN TAWAR

¹⁾Inggit Winarni, ²⁾Tri Saptari Haryani, ¹⁾Tri Ratna Nastiti

¹⁾Jurusan Biologi FMIPAUT, Jl. Cabe Raya, Pondok Cabe, Pamulang, Tangsel. Fax.021-7434691

²⁾Prodi Biologi FMIPAUNPAK, Jl. Pakuan PO Box 452 Bogor

inggit@ut.ac.id

Abstrak

Penurunan kualitas air tawar ditandai dengan adanya perubahan fisiko-kimia air, yaitu bau, warna, dan rasa. Bakteri heterotrof adalah bakteri yang banyak terdapat di perairan air tawar. Bakteri ini dapat memproduksi enzim amilolitik, yaitu enzim yang dapat mendegradasi senyawa organik kompleks menjadi senyawa sederhana. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi jenis-jenis bakteri heterotrof dan selanjutnya menguji aktivitas enzim amilolitik dari bakteri heterotrof tersebut. Sampel diambil dari perairan air tawar Situ Cibuntu, Cibinong, Bogor. Titik pengambilan sampel difokuskan pada 3 (tiga) titik, yakni zona aliran masuk (inlet), zona tengah (middle), dan zona aliran keluar (outlet). Pengujian dilakukan triplo dengan ulangan sebanyak 5 (lima) kali untuk setiap titik sehingga terdapat 45 sampel pengamatan yang kemudian ditumbuhkan pada media padat TGY. Identifikasi bakteri meliputi karakterisasi fisiologi melalui uji katalase, karakterisasi morfologi yang meliputi bentuk dan warna koloni, motilitas, pewarnaan Gram, serta pewarnaan spora. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas enzim amilolitik pada isolat bakteri terpilih. Dari hasil identifikasi diperoleh 7 (tujuh) isolat berbentuk basil dan 4 (empat) isolat berbentuk kokus. Adapun hasil uji aktivitas enzim amilolitik terbaik diperoleh dari isolat kode OP5 yang memiliki zona bening terbesar, yakni 5 cm. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa enzim amilolitik bakteri heterotrof yang terdapat di perairan air tawar Situ Cibuntu mempunyai potensi cukup signifikan dalam mengurangi tingkat pencemaran perairan air tawar, dan sekaligus dapat mendeteksi tingkat pencemaran suatu perairan.

Kata kunci: heterotrof, enzim amilolitik, perairan Situ Cibuntu, pencemaran

Pendahuluan

Air memegang peranan penting di dalam kehidupan manusia dan juga makhluk hidup lainnya, antara lain air dapat digunakan untuk minum, memasak, mencuci, dan mandi. Disamping itu, air juga banyak diperlukan untuk mengairi sawah, ladang, industri, dan masih banyak lagi kegunaan air (Effendi, 2003). Saat ini, masalah utama yang dihadapi oleh sumber daya air adalah kuantitas air yang sudah tidak mampu memenuhi kebutuhan yang terus meningkat dan kualitas air untuk keperluan domestik yang semakin menurun. Dikatakan lebih lanjut oleh Effendi (2003) terdapat beberapa kegiatan yang berdampak negatif terhadap sumber daya air, misalnya: kegiatan industri, domestik, perikanan, dan kegiatan lainnya yang dapat menyebabkan pencemaran air, sehingga terjadi penurunan kualitas air. Pencemaran air adalah masuknya zat, energi, unsur, atau komponen lain ke dalam air sehingga menyebabkan kualitas air terganggu. Kualitas air yang terganggu ditandai dengan perubahan bau, warna, dan rasa. Hasil penelitian Betawati, *et al.* (2008) menunjukkan bahwa beberapa situ di Jabodetabek mengindikasikan telah

tercemar. Situ Babakan, Ulin Salam, dan Agathis tergolong perairan tawar yang tercemar sedang, dan danau Sunter dan danau Lido tergolong perairan yang tercemar berat.

Telah diketahui beberapa bakteri dapat digunakan untuk mendeteksi tingkat pencemaran di perairan. Pemantauan kualitas air secara periodik dan perbaikan pemanfaatan lahan di wilayah perairan sangat diperlukan guna memelihara kesehatan masyarakat yang berada di sekitar lingkungan perairan. Terdapat kelompok bakteri heterotrofik yang berperan penting dalam sistem perairan karena kemampuan aktivitas metabolismenya, baik pada lingkungan aerob ataupun anaerob (Sigeo, 2005).

Lebih lanjut Sutiknowati dan Ruyitno (2008) menyatakan bahwa bakteri heterotrofik dapat digunakan sebagai salah satu indikator kualitas kesuburan suatu perairan, karena kemampuannya menguraikan senyawa organik. Jika kelimpahan bakteri heterotrofik dalam suatu perairan tinggi dapat mengindikasikan bahwa dalam suatu perairan terdapat cemaran bahan organik. Kelangsungan hidup bakteri heterotrofik di perairan tergantung dari senyawa-senyawa organik baik untuk kebutuhan energinya maupun sebagai sumber karbon yang diperlukan untuk pembentukan biomasnya.

Pertumbuhan bakteri heterotrofik di perairan juga didukung oleh faktor lingkungan, diantaranya yaitu kadar oksigen terlarut (DO), pH, salinitas, dan suhu. Menurut Waluyo (2009) pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme banyak dipengaruhi oleh konsentrasi ion hidrogen, misalnya pH. Pada kebanyakan bakteri umumnya tumbuh optimum antara pH 6,6-8,5. pH rata-rata pada kebanyakan danau adalah 7,0 dan pada sungai besar memiliki pH 7,5, serta pada permukaan laut mempunyai pH 8,2. Proses respirasi dapat menurunkan pH, dan sebaliknya proses fotosintesis dapat menaikkan nilai pH. Oleh karena itu, pH dapat memberikan dampak pada ekosistem perairan.

Bakteri heterotrofik memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim ekstraseluler sehingga mampu memanfaatkan dan mendegradasi senyawa organik kompleks baik yang mengandung unsur C, H, dan N (Parwanayoni, 2008). Bakteri heterotrofik lebih umum dijumpai di perairan dibandingkan bakteri autotrofik, oleh karena itu dalam ekosistem perairan, bakteri heterotrofik berfungsi menghancurkan bahan-bahan organik pencemar dalam air (Achmad, 2004).

Enzim amilase dapat berasal dari beberapa sumber, diantaranya tanaman, hewan, dan mikroorganisme. Amilase dapat memecah atau menghidrolisis pati, glikogen dan turunan polisakarida dengan cara memecah ikatan glikosidik pati. Enzim ini dapat terdeteksi dengan menumbuhkan bakteri pada media media NA 25% + Starch 10% (Mills nad Wassel, 1980). Genus bakteri yang termasuk kelompok bakteri amilolitik dan dikenal cukup luas yaitu *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, dan *Micrococcus* (Pelczar and Chan, 1986).

Suatu perairan tawar mempunyai fungsi utama sebagai daerah resapan air untuk kelangsungan penyediaan air pada waktu kemarau serta sebagai area penampung air pada waktu hujan sehingga dapat mencegah terjadinya banjir. Namun dalam perkembangannya, saat ini perairan tersebut memiliki fungsi

utama sebagai sumber mata pencaharian masyarakat sekitar, yaitu untuk kegiatan irigasi pertanian dan perikanan. Dengan adanya berbagai aktivitas masyarakat, lambat laun akan menimbulkan dampak pada perairan tersebut, misalnya penurunan kualitas air. Selain itu, dari hasil pengamatan di lapangan terdapat dua hal yang dapat mengancam kelestarian suatu perairan tawar, yaitu ancaman pendangkalan oleh endapan yang masuk dari erosi lahan di sekitarnya dan adanya pembuangan limbah dari kegiatan domestik, perikanan, dan pertanian ke areal situ yang dapat menurunkan kualitas air itu sendiri. Untuk itu perlu dilakukan suatu kajian untuk mengetahui seberapa jauh telah terjadi penurunan kualitas perairan tawar, dengan memanfaatkan enzim amilolitik bakteri heterotrofik yang dapat digunakan sebagai indikator pencemaran perairan tawar. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri heterotrofik dan menguji aktivitas enzim amilolitik bakteri heterotrofik sebagai indikator dalam menurunkan tingkat pencemaran perairan tawar.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Desember 2013, di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, UNPAK-Bogor. Bahan yang digunakan antara lain: media untuk pertumbuhan bakteri heterotrofik: tripton, glucose, yeast, agar, aquades; berbagai bahan untuk uji fisiologi dan morfologi; media untuk menguji ada tidaknya enzim amilolitik, dan media NA. Pengambilan sampel dari perairan Situ Cibuntu, dengan cara membagi dalam tiga titik pengambilan sampel, yaitu inlet, tengah, dan outlet. Sampel diambil dengan menggunakan botol plastik yang telah disterilisasi. Botol plastik dimasukkan ke dalam air Situ yang ditetapkan sebagai titik pengambilan sampel sampai air memenuhi botol plastik. Botol yang telah berisi sampel air danau disimpan dalam *cool box* untuk menjaga komponen dalam sampel tidak berubah. Selanjutnya, dilakukan pengenceran sampel dengan tingkat pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} dan dilakukan inokulasi sampel pada media padat TGY untuk menumbuhkan bakteri, kemudian sampel diinkubasi pada suhu 22°C selama 24 jam. Kemudian dilanjutkan dengan isolasi dan identifikasi terhadap jenis-jenis bakteri heterotrofik berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Holt *et al.* (1994), meliputi karakterisasi fisiologi dan morfologi. Karakteristik fisiologi meliputi uji katalase, sedang karakterisasi morfologi meliputi: bentuk dan warna koloni, motilitas, serta pewarnaan Gram dan pewarnaan spora. Isolat bakteri heterotrofik yang terpilih diambil secara acak dan siap digunakan sebagai isolat bakteri uji. Langkah berikutnya berupa pengujian aktivitas enzim amilolitik dengan cara: isolat bakteri yang terpilih diinokulasikan kembali pada media uji aktivitas enzim amilolitik dan diinkubasi pada suhu 22°C selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh dilakukan pengujian dengan cara ditetesi iodium dan diamati ada atau tidaknya zona bening di sekitar bakteri dan diukur diameternya. Efektivitas enzim amilolitik dapat dilihat dari luasnya zona bening yang terbentuk dari bakteri uji.

Hasil dan Pembahasan

Pengamatan Morfologi dan Fisiologi

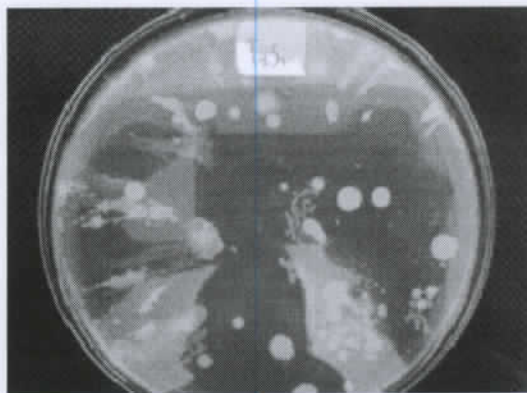
Hasil pengamatan terhadap 45 isolat bakteri heterotrofik yang tumbuh dengan baik, diperoleh 11 isolat mampu menghasilkan enzim amilolitik, 34 isolat lainnya tidak menghasilkan enzim amilolitik. Enzim amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Sebelas isolat tersebut, selanjutnya dilakukan karakterisasi. Ternyata 11 isolat tersebut mempunyai karakteristik morfologis dan fisiologis yang berbeda (Tabel 1 dan Gambar 1).

Tabel 1. Hasil karakterisasi morfologis dan fisiologis terhadap 11 isolat bakteri heterotrofik

No	Kode Isolat	Koloni			Bentuk Sel	Karakterisasi Morfologis				Karakterisasi Fisiologis
		Warna	Bentuk	Permukaan		Uji Gram	Uji Spora	Uji Kapsul	Uji Motilitas	Uji Katalase
1	IP1	Putih	Tumpul	Cembung	Basilus	+	+	+	+	+
2	IP3	Putih	Lancip	Cembung	Diplobasil	-	-	+	+	+
3	ISi2	Transparan	Lancip	Cekung	Diplobasil	+	-	+	-	-
4	ISo5	Putih	Tumpul	Cekung	Monobasil	-	-	+	+	+
5	TP4	Putih	Lancip	Cembung	Diplococcus	+	-	-	+	+
6	TSi1	Putih	Tumpul	Cekung	Streptococcus	+	-	-	+	+
7	TSi2	Putih	Tumpul	Cembung	Monococcus	-	-	-	+	+
8	TSi3	Putih	Tumpul	Cekung	Diplococcus	-	-	-	+	+
9	TSi5	Kuning	Tumpul	Cembung	Basilus	+	-	+	+	+
10	TSo4	Putih	Runcing	Cekung	Diplobasil	+	+	+	+	+
11	OP5	Kuning	Tumpul	Cekung	Diplobasil	+	-	-	+	+

Keterangan:

I: inlet, T: tengah, O: outlet, P: pagi, Si: siang, So: sore, 1, 2, 3, 4, 5: ulangan, +: positif, -: negatif.

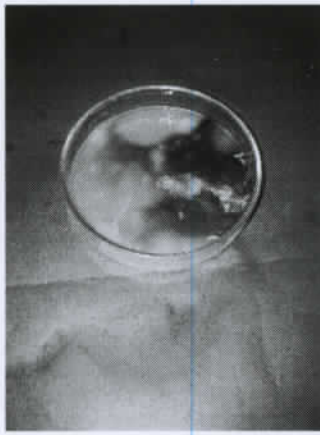


Gambar 1. Salah satu Koloni Isolat Bakteri Heterotrofik

Pada Tabel 1 terlihat bahwa dari 11 isolat yang mampu menghasilkan enzim amilolitik, terdapat 2 isolat yang mampu membentuk spora, yaitu IP1 dan TSo4. Bakteri amilolitik adalah kelompok bakteri yang mampu memproduksi enzim amilase sehingga mampu memecah pati. Reddy *et al.* (2003) melaporkan bahwa genus bakteri yang termasuk kelompok bakteri amilolitik adalah *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteriodes*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Thermus*, dan *Actinomycetes*. Pada penelitian ini isolat IP1 dan TSo4 menunjukkan karakter morfologi yang sama dengan ciri dari genus *Bacillus* dan *Clostridium* yang dilaporkan Holt *et al.* (1994), yaitu mampu membentuk spora, katalase positif, Gram positif, dan mempunyai habitat yang berada pada lingkungan akuatik. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Tresnawati, dkk (2014) yang melaporkan bahwa hasil identifikasi genus *Bacillus* bakteri penghasil amilolitik menunjukkan ciri-ciri yang sama, yaitu bakteri Gram positif, berbentuk batang, aerob, dan menghasilkan endospora. Sedang 9 isolat yang tidak mampu membentuk spora, yaitu isolat IP3, ISi2, ISo5, TP4, TSi1, TSi2, TSi3, TSi5, dan OP5, mempunyai karakter morfologi dan fisiologi lain yang sangat beragam. Diantaranya: isolat TP4, TSi1, dan OP5, mempunyai ciri-ciri Gram positif, motil, dan katalase positif. Holt *et al.* (1994) melaporkan bahwa kelompok bakteri amilolitik yang menunjukkan Gram positif tetapi tidak mampu membentuk spora, bersifat motil, dan katalase positif dikelompokkan ke dalam genus *Corynebacterium* spp. Ciri yang sama tetapi katalase menunjukkan negatif Holt *et al.* (1994) dikelompokkan ke dalam genus *Lactobacillus* spp. Ciri yang seperti itu ditunjukkan oleh isolat ISi2. Dwi Rukmi Putri, dkk (2012) melaporkan bahwa bakteri laktat amilolitik mempunyai ciri-ciri karakteristik: Gram positif, bentuk batang, dan katalase negatif, ciri ini sama dengan ciri yang dimiliki isolat ISi2. Enam isolat lain, yaitu IP1, IP3, ISi2, ISo5, TSi5, dan TSo4, merupakan bakteri berkapsul, dengan ciri-ciri: Gram negatif, motil, katalase positif, habitat pada lingkungan akuatik. Menurut Holt *et al.* (1994) ciri-ciri demikian dikelompokkan dalam bakteri berselongsong. Dengan demikian 11 isolat yang dihasilkan dari penelitian ini diduga merupakan kelompok *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., dan kelompok bakteri berkapsul, namun masih perlu diuji lebih lanjut.

Aktivitas Enzim Amilolitik

Hasil pengujian aktivitas enzim terhadap 45 isolat bakteri heterotrofik, didapatkan 11 isolat mampu menghidrolisis karbohidrat menjadi senyawa yang lebih sederhana. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bening pada 11 isolat bakteri uji (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Enzim Amilolitik

Zona bening yang muncul di sekitar isolat mengindikasikan bahwa isolat tersebut mengandung enzim amilum yang dapat mendegradasi pati/amilum. Rahayu, dkk (2008) melaporkan bahwa zona bening terjadi karena amilum yang disekresikan oleh bakteri-bakteri menghidrolisis molekul pati di sekitarnya sehingga kompleks amilum-iod dengan warna biru kehitaman (karena adanya penambahan iodin) berkurang/hilang.

Hasil pengukuran diameter zona bening bakteri heterotrofik selengkapnya tersaji dalam Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil pengukuran zona bening terhadap 11 isolat bakteri heterotrofik

No.	Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)
1.	IP1	4
2.	IP3	15
3.	ISi2	9
4.	ISo5	25
5.	TP4	10
6.	TSi1	20
7.	TSi2	25
8.	TSi3	20
9.	TSi5	25
10.	TSo4	20
11.	OP5	50

Keterangan:

I: inlet, T: tengah, O: outlet, P: pagi, Si: siang, So: sore, 1, 2, 3, 4, 5: ulangan.

Pada tabel 2 terlihat bahwa diameter zona bening yang dihasilkan 7 isolat (ISo5, TSi1, TSi2, TSi3, TSi5, TSo4, dan OP5) cukup tinggi, yaitu berkisar 20-50 mm, sedang 4 isolat lain (IP1, IP3, ISi2, dan TP4) zona bening yang dihasilkan kurang dari 20 mm atau berkisar 4-15 mm. Beragamnya zona bening yang dihasilkan menunjukkan beragamnya kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim amilolitik. Isolat yang memiliki enzim amilolitik terendah adalah IP1 dan yang menghasilkan enzim

amilolitik tertinggi adalah isolat OP5 dengan diameter zona bening sebesar 50 mm. Hal ini menandakan bahwa bakteri heterotrofik dengan kode isolat OP5 merupakan bakteri yang paling banyak mengandung enzim amilolitik dibandingkan dengan isolat-isolat lainnya dalam mengkatalis proses hidrolisis pati yang kemudian akan menjadi senyawa sederhana dan selanjutnya akan dimanfaatkan untuk proses metabolisme bakteri tersebut. Diameter zona bening yang terbentuk dapat menunjukkan secara kualitatif tingginya kemampuan amilolitik enzim amilase yang dihasilkan atau tingginya jumlah enzim yang diproduksi dan dilepas keluar (Ari Setyati dan Subagyo, 2012). Semakin besar zona bening yang terbentuk maka bakteri tersebut memiliki potensi paling tinggi dalam mendegradasi bahan organik (Suarsini, 2006). Dengan demikian isolat OP5 memiliki kemampuan yang besar dalam mendegradasi amilum jika dibandingkan dengan isolat-isolat lainnya (Ginting, 2009).

Potensi Isolat

Mengingat 11 isolat mampu menghasilkan enzim amilolitik sehingga dapat melakukan proses pemecahan senyawa organik yang kompleks menjadi senyawa yang sederhana, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bakteri pendegradasi bahan organik. Menurut Batch *et al.* (2001), adanya enzim amilase dalam bakteri heterotrofik menandakan bakteri tersebut dapat menurunkan tingkat pencemaran ammonia, nitrit, dan nitrat suatu perairan tawar. Perbedaan besar kecilnya diameter zona bening yang terbentuk pada bakteri uji tergantung dari jenis bakteri dan lamanya waktu inkubasi.

Ari Setyati dan Subagyo (2012) melaporkan bahwa jenis-jenis bakteri yang mempunyai kemampuan mensekresikan enzim amilase memiliki potensi yang besar untuk digunakan sebagai agensia pembersih bahan pencemar yang bersifat pati/amilum. Dengan demikian OP5 memiliki potensi yang sangat besar untuk menurunkan tingkat pencemaran, khususnya dari bahan amilum

Pengukuran parameter penunjang yang dilakukan pada lokasi sampling antara lain: suhu, pH, dan DO yang merupakan faktor-faktor penunjang pertumbuhan bakteri heterotrofik. Berdasarkan hasil pengukuran parameter penunjang diperoleh nilai kandungan DO (oksigen terlarut) berkisar antara 7.3-9.4, dan pH cenderung basa. Menurut Boyd (1990), jika kandungan DO pada suatu perairan tawar ≥ 5 maka perairan tersebut termasuk dalam kategori tercemar sedang. Hal ini berarti perairan pada lokasi sampling termasuk dalam kategori tercemar sedang. Hasil pengukuran selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata hasil pengukuran parameter penunjang

No.	Titik Sampling	Parameter Penunjang (rata-rata)		
		Suhu (°C)	pH	DO
1.	Inlet (I)	25	8.3	7.3
2.	Tengah (T)	25	8.1	9.4
3.	Outlet (O)	25	8.1	8.5

Simpulan

Hasil identifikasi terhadap 45 isolat bakteri heterotrofik diperoleh 11 isolat yang mampu menghasilkan enzim amilolitik, terdiri dari 7 isolat termasuk kelompok basil dan 4 isolat termasuk kelompok kokus dengan karakteristik morfologi dan fisiologi yang berbeda. Hasil uji aktivitas enzim amilolitik terhadap 11 isolat tersebut, diperoleh isolat dengan kode OP5 mempunyai nilai aktivitas tertinggi yaitu sebesar 50 mm dan terendah yaitu isolat IP1 sebesar 4 mm. Dengan demikian 11 isolat tersebut berpotensi sebagai pengurang bahan pencemar. Hasil pengukuran parameter penunjang diperoleh nilai $DO \geq 5$, yang berarti bahwa perairan Situ Cibuntu termasuk dalam kategori tercemar sedang. Rekomendasi yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah menguji 11 isolat tersebut untuk menentukan isolat yang kandungan enzim amilolitiknya paling efektif dalam mengurangi tingkat pencemaran pada perairan tawar.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2013, melalui DIPA Nomor: 10873/UN31.2/PG/2013 tanggal 14 Mei 2013.

Daftar Pustaka

- Achmad, R. 2004. *Kimia Lingkungan*. Andi Yogyakarta, Yogyakarta.
- Ari Setyati, W dan Subagiyo. (2012). Isolasi dan seleksi bakteri penghasil enzim ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik, dan selulolitik) yang berasal dari sedimen kawasan mangrove. *Jurnal Ilmu kelautan*. Vol 17 (3), Sept: 164-168.
- Batch, H.J., Hartman, A. Schloter, M. and Munch, J.C. 2001. PCR Primers and Functional Probes for Amplification and Detection of Bacterial Genes for Extracellular Amilases and peptidases in Single Strain and in Soil. *Journal of Microbiological Methods*. 44:173-184.
- Betawati, N.P., *et al.* 2008. Biodiversitas Cyanobacteria dari Beberapa Situ/Danau Di Kawasan Jakarta-Depok-Bogor, Indonesia. *Jurnal: Makara, Sains*. Vol 12 No 1 hal: 44-54.
- Boyd, C. E. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Birmingham CO, Birmingham, Alabama.
- Dwi Rukmi Putri, W, Haryadi, Wisesa Marseno D, dan Nur Cahyanto, M. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat amilolitik selama fermentasi growol, makanan tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 13 (1), April: 52-60.
- Effendi, Hefni. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Yogyakarta: Kanisius.

- Ginting, J. 2009. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Enzim Amylase Kasar Termofilik Dari Sumber Air Panas Semangat Gunung Kabupaten Karo, Sumatera Utara . [Tesis]. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Holt, J.G, Krieg, N.R, Sneath, P.H.A, Staley, J.T., & William, S.T. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. Ed ke-9. USA: Williams & Wilkins.
- Mills, A. L and R.A. Wassel. 1980. Aspect of Diversity Measurement for Microbiol Community, App. Env. Microb. Vol (3) : 578 -586
- Parwanayoni, S. 2008. *Pergantian Populasi Bakteri Heterotrofik, Alga, dan Protozoa di Lagoon BTDC Penanganan Limbah Nusa Dua Bali*. Jurnal BumiLestari. (8) 180-185 hal.
- Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi (Terjemahan: Ratna Siri Hadioetomo, TedjaImas, S. Sutarmi Tjitrosomo, Sri Lestari). Universitas Indonesia-Press, Jakarta.
- Raharjo, Sapto, Ardiansyah, dan Chahyadi, C. 2008. Isolasi dan Karakterisasi α -amilase isolat bakteri amilolitik asidofilik dari Taman Nasional Rawa Aopa Watumaohai. Jurnal Indonesia Chimica Acta. Vol 1 No. 1, Des: 15-23.
- Reddy, N.S., Nimmagadda, A., dan Rao, K.R.S.S. 2003, An Overview of The Microbial α -Amylase Family, African J. of Biotechnology. Vol 2 (12) : 645-648.
- Reddy et al. (2008) menunjukkan beberapa strain *Lactobacillus* spp. menghasilkan amilase ekstraseluler dan memfermentasi pati secara langsung menjadi asam laktat. Reddy G, Altaf MD, Naveena BJ, Venkateshwar M, and Kumar EV. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation, a review. *Biotechnology Advances* 26: 22–34
- Sigeo, D.C. 2005. *Freshwater Microbiology, Biodiversity, and Dinamic Interaction of Microorganism in the Aquatic Environment*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Suarsini, E. 2006. Bioremediasi Limbah Cair Rumah Tangga menggunakan Konsorsia Bakteri Indigen yang berpotensi Pereduksi Polutan. Disertasi Program Studi Pendidikan Biologi. Universitas Negeri Malang. 211 hal.
- Sutiknowati, L.I dan Ruyitno. 2008. *Studi Bakteriologis dan Peruntukannya terhadap Budidaya pada Perairan Teluk Klabat, Kepulauan Propinsi Bangka Belitung*. Oseanologi dan Limnologi Di Indonesia, 34: 101-105. LIPI, Bogor.
- Tresnawati, Tika, Fadhillah A.M, dan Widayani, Asih. 2014. <http://directory.umm.ac.id/penelitian/PKMI>. Download: 08 Oktober.
- Waluyo, L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. UMM press. Malang.
- Warlina, 2004. Sumber, Dampak, dan Penanggulangan dari Pencemaran Air. Institut Pertanian Bogor, Bogor.