

Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan

Identification and Determination of Protein Hydrolysis Index of Proteolytic Bacteria from Margomulyo Mangrove Soil, Balikpapan

Utami Sri Hastuti ^{1*}, Febriani Sarwendah Asri Nugraheni ², Putri M. Al Asna ¹

¹ Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang No.5, Malang, Indonesia

² Pascasarjana Pendidikan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang No. 5, Malang, Indonesia

*Corresponding author: tuti_bio_um@yahoo.com

Abstract: Mangrove has a function as a physical protector of the seashore and also play a role as a habitat of various types of aquatic fauna. The decaying mangrove stems contain vegetable protein and mixed with animal protein derived from dead animals in mangrove soil. Proteolytic bacteria play a role in the process of protein degradation into more simple and soluble compounds. This research aims to: 1) identify species of proteolytic bacteria in mangrove soil, 2) count the Protein Hydrolysis Index on each species of proteolytic bacteria, 3) determine the most potential proteolytic bacteria species to decompose the protein. Soil samples were taken from 10 points of mangrove area Margomulyo, Balikpapan. After that, soil samples were diluted in 10^{-1} to 10^{-10} and 0,1 mL of each level dilution is inoculated to the NA medium, incubated at 37°C for 1 x 24 hours. Each colony sorts were isolated, identified and determined the proteolytic bacteria isolates, then the Protein Hydrolysis Index on the Skim Milk Agar medium were count. The research results showed that: 1) there are 7 species of proteolytic bacteria from mangrove soil, 2) the Protein Hydrolysis Index of each species of proteolytic bacteria ranged from 1.62 to 2.94, and 3) *Vibrio parahaemolyticus* is the most potential proteolytic bacteria with the Protein Hydrolysis Index is 2,94.

Keywords: Proteolytic Bacteria, Mangrove Soil, Protein Hydrolysis Index

1. PENDAHULUAN

Mangrove mempunyai fungsi utama sebagai pelindung fisik pantai dari abrasi sehingga tanah tidak terkikis oleh air laut. Disamping itu mangrove juga berperan sebagai habitat berbagai hewan, antara lain: ikan, udang, kepiting, kerang, dsb (Karuniastuti, 2013). Hewan-hewan tersebut mencari makanan diantara tanaman mangrove. Namun ekosistem mangrove dapat mengalami kerusakan akibat penebangan mangrove. Oleh karena adanya keperluan kayu untuk bahan bangunan dan kayu bakar, maka sebagian masyarakat menebang tanaman mangrove (Setyawan dan Winarno, 2006; Bone, *et al*, 2012). Hal ini dapat mengganggu keseimbangan ekosistem, karena mangrove merupakan habitat beberapa jenis hewan air. Batang mangrove yang telah ditebang dan daun-daun yang berserakan di tanah lambat laun akan mengalami pelapukan dan pembusukan, kemudian bercampur dengan tanah. Serangga-serangga tanah menghancurkan sisa-sisa mangrove menjadi bagian-bagian yang berukuran kecil, selanjutnya bakteri-bakteri yang hidup dalam tanah melakukan bidegradasi terhadap senyawa-senyawa-senyawa kompleks dalam tanaman mangrove menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi bagi tanaman.

Beberapa spesies mikroorganisme indigen termasuk bakteri indigen hidup dalam tanah yang tercampur batang lapuk mangrove (Amir, *et al*, 1993; Thatoi, *et al*, 2012; Leena, 2013; Elias, *et al*, 2014). Bakteri-bakteri indigen yang hidup dalam tanah mangrove ada yang bersifat selulolitik dan amilolitik. Hasil penelitian telah berhasil mengidentifikasi 4 spesies bakteri selulolitik, yaitu: *Micrococcus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Planococcus citreus* dan *Bacillus cereus*; serta 4 spesies bakteri amilolitik, yaitu *Bacillus firmus*, *Nitrobacter* sp., *Bacillus mycoides* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari tanah mangrove di Pantai Waai, Pulau Ambon (Hastuti, *et al*, 2015)

Tanaman mangrove mengandung senyawa kompleks, antara lain: amilum dan selulose. Senyawa-senyawa tersebut didegradasi oleh bakteri amilolitik dan selulolitik menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih mudah terlarut dalam tanah. Selain kedua senyawa tersebut, mangrove juga mengandung protein yang dapat didegradasi oleh bakteri proteolitik. Mann (1986) mengemukakan bahwa berat kering daun mangrove mengandung dari 61% protein. Bakteri akan menguraikan serasah secara enzimatik melalui peran aktif dari enzim proteolitik. Pada area mangrove juga banyak ditemukan bangkai hewan-hewan air yang mengandung protein pula; selanjutnya protein tersebut



dapat didegradasi oleh bakteri proteolitik yang hidup dalam tanah mangrove. Apabila protein, baik yang berasal dari sisa-sisa mangrove maupun yang berasal dari bangkai hewan-hewan air telah tergradasi oleh bakteri-bakteri proteolitik, maka akan menambah nutrisi dalam tanah mangrove, sehingga dapat menyuburkan area mangrove.

Keberadaan bakteri dan mikroorganisme lain di ekosistem mangrove memiliki peran yang penting dalam menguraikan serasah daun mangrove menjadi bahan organik sebagai sumber nutrisi bagi tanaman dan organisme lain yang hidup di hutan mangrove. Hasil dari dekomposisi serasah daun mangrove berupa mineral dan unsur nutrisi yang sangat dibutuhkan oleh organisme-organisme komponen ekosistem mangrove dan untuk pertumbuhan mangrove itu sendiri (Yahya dkk, 2014).

Bakteri proteolitik telah berhasil diisolasi dari tanah kawasan hutan mangrove kabupaten Cilacap dan Kabupaten Indramayu (Triyanto dkk, 2009). Selain itu, penelitian serupa juga menemukan adanya bakteri proteolitik diantara 33 isolat bakteri yang berasal dari sedimen mangrove kabupaten Rebang dan Cilacap (Setyati dan Subagiyo, 2012). Pada wilayah hutan mangrove pesisir Pasuruan ditemukan 2 spesies bakteri *Pseudomonas* yang berperan dalam degradasi protein (Yahya dkk, 2014).

Namun, saat ini belum banyak dilakukan penelitian mengenai bakteri proteolitik yang ada tanah ekosistem mangrove khususnya di daerah Margomulyo Balikpapan Kalimantan Timur, sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk; 1) mengidentifikasi spesies bakteri proteolitik dalam tanah mangrove, 2) menghitung Indeks Hidrolisis Protein pada masing-masing spesies bakteri proteolitik, 3) menentukan spesies bakteri proteolitik yang paling potensial menguraikan protein.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah mangrove diambil dari 10 titik sampling dari 5 stasiun yang telah ditentukan secara acak. Sampel tanah mangrove diambil masing-masing sebanyak 5 gram pada setiap titik sampling dan dimasukkan ke dalam botol steril. Semua sampel tanah mangrove disimpan di dalam *ice box* bersamasama es batu dalam suhu berkisar antara 26-27°C. Sampel tanah mangrove kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang.

2.2 Persiapan Suspensi, Inokulasi, dan Isolasi Bakteri

Semua sampel tanah mangrove dihaluskan menggunakan mortar dan *pistle* dan dicampurkan sampai rata. Sampel tanah kemudian diambil sebanyak 25 gram. Sampel tanah mangrove kemudian

dilartukan dalam 225 ml aquades steril sehingga diperoleh larutan dengan tingkat pengenceran 10^{-1} .

Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 1x24 jam. Suspensi sampel kemudian diencerkan menggunakan aquadest steril hingga diperoleh larutan dengan tingkat pengenceran 10^{-10} . Suspensi pada masing-masing tingkat pengenceran diinokulasikan pada medium lempeng Nutrien Agar (NA) sebanyak 0,1 ml secara triplo dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

2.3 Isolasi Bakteri dan Skrining Kemampuan Hidrolisis Protein

Bakteri yang tumbuh pada media NA lempeng kemudian diisolasi pada NA miring dan masing masing spesies diberi kode. Pengujian kemampuan hidrolisis protein dilakukan dengan menginokulasikan isolat murni bakteri secara *zig-zag* pada medium lempeng *Skim Milk Agar* (SMA) dan diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Adanya kemampuan hidrolisis protein ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar pertumbuhan koloni bakteri.

2.4 Penghitungan Indeks Hidrolisis Proteolitik dan Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri yang positif bersifat proteolitik kemudian diinokulasikan kembali ke media SMA lempeng dengan metode kuadran dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Penghitungan indeks hidrolisis proteolitik (IHP) mengacu pada rumus berikut:

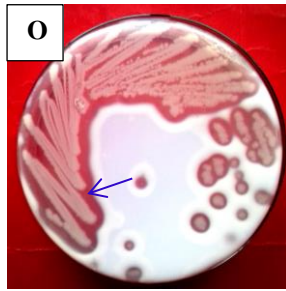
$$\text{Indeks Hidrolisis Protein} = \frac{\text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni bakteri}}$$

Isolat bakteri proteolitik kemudian dikarakterisasi secara morfologi, mikroskopis dan fisiologis serta diidentifikasi dengan menggunakan *Microbact™ Identification Kits*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Terdapat 14 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari tanah mangrove, setelah dilakukan pengujian sifat proteolitik pada medium *Skim Milk Agar* didapatkan 7 isolat bakteri proteolitik. Sifat proteolitik bakteri dapat diketahui dengan terbentuknya zona bening pada daerah sekitar koloni bakteri yang tumbuh di medium *Skim Milk Agar* (**Gambar 1**).





Gambar 1. Koloni bakteri proteolitik pada medium Skim Milk Agar. Keterangan: (D) *Vibrio parahaemolyticus*, (N) *Pseudomonas pseudomallei*, dan (O) *Listeria monocytogenes*. Zona bening menunjukkan aktivitas hidrolisis protein oleh bakteri (tanda panah ungu).

Hasil pengujian sifat proteolitik pada isolat bakteri menunjukkan 7 isolat bakteri bersifat proteolitik (**Tabel 1**). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Zona bening ini menunjukkan protein yang ada pada medium SMA telah dihidrolisis oleh bakteri proteolitik yang diinokulasikan pada medium tersebut.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kemampuan Hidrolisis Protein dari Masing-Masing Bakteri

Kode Isolat	Kemampuan Menghidrolisis Protein
A	-
B	+
C	+
D	+
E	-
F	-
G	-
I	-
J	-
L	-
N	+
O	+
P	+
Q	+

3.1 Ciri Morfologi Koloni Bakteri Proteolitik

Bakteri proteolitik yang berhasil diisolasi memiliki ciri-ciri morfologi koloni yang berbeda-beda. Ciri-ciri morfologi koloni bakteri proteolitik yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada **Tabel 2** berikut ini.

Tabel 2. Ciri Morfologi Koloni Bakteri Proteolitik

Kode Isolat	Ciri-Ciri Morfologi Koloni			
	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi
B	Putih kekuningan	Bundar tepian kerang	Berombak	Seperti tombol

C	Putih kekuningan	Berbenang-benang	Licin	Timbul
D	Putih	Berbenang-benang	Berlekuk	Datar
N	Putih kekuningan	Bundar tepian kerang	Berombak	Timbul
O	Putih susu	Seperti kerang	Berombak	Datar
P	Putih	Berbenang-benang	Tak beraturan	Datar
Q	Putih	Tak beraturan	Berombak	Timbul

3.2 Karakterisasi Sitologi Bakteri Proteolitik

Hasil deskripsi karakter sitologi isolat bakteri menunjukkan 5 isolat bakteri berbentuk *basil*, 1 isolat berbentuk *cocobasil*, dan 1 isolat berbentuk *coccus*. Hasil karakterisasi sifat sitologi bakteri juga menunjukkan 5 isolat bakteri bersifat gram positif, 2 isolat bakteri bersifat gram negatif, 4 isolat bakteri memiliki kapsula, 3 isolat tidak memiliki kapsula, 5 isolat bakteri memiliki spora, dan 2 isolat tidak memiliki spora (**Tabel 3**).

Tabel 3. Karakter Sitologi Isolat Bakteri Proteolitik

Isolat Bakteri	Ciri-Ciri Sitologi Sel Bakteri			
	Bentuk Sel	Sifat Gram	Kapsula	Spora
B	Streptobasil	+	+	+
C	Diplobasil	-	+	+
D	Diplobasil	-	+	+
N	Cocobasil	+	+	-
O	Streptobasil	+	-	-
P	Streptobasil	+	-	+
Q	Streptococcus	+	-	+

3.3 Hasil Identifikasi Bakteri Proteolitik

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri proteolitik didapatkan 4 spesies bakteri yang berbeda dan 3 isolat bakteri lainnya belum selesai diidentifikasi. Hasil identifikasi bakteri tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Spesies-Spesies Bakteri Proteolitik



Kode Isolat	Spesies Bakteri
B	<i>Bacillus badius</i>
C	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
D	<i>Vibrio parahaemoliticus</i>
N	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
O	<i>Listeria monocytogenes</i>
P	<i>Bacillus alvei</i>
Q	<i>Bacillus lentus</i>

3.4 Pengukuran Indeks Hidrolisis Protein Setiap Spesies Bakteri

Hasil pengukuran indeks hidrolisis amilum setiap spesies bakteri proteolitik dapat dilihat pada **Tabel 5**. Spesies bakteri proteolitik yang memiliki indeks hidrolisis protein tertinggi adalah *Vibrio parahaemoliticus* yaitu 2,94 dan yang memiliki indeks hidrolisis terendah adalah *Bacillus lentus* yaitu 1,62.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Indeks Hidrolisis Protein Setiap Spesies Bakteri

Kode Isolat	Nama Spesies	Indeks Hidrolisis Protein			
		1	2	3	\bar{x}
B	<i>Bacillus badius</i>	1,88	1,48	1,79	1,72
C	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1,52	2,4	1,96	1,96
D	<i>Vibrio parahaemoliticus</i>	3,48	3	2,33	2,94
N	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	2	2,54	3,08	2,54
O	<i>Listeria monocytogenes</i>	3,45	1,14	2	2,20
P	<i>Bacillus alvei</i>	2,1	1,82	1,54	1,82
Q	<i>Bacillus lentus</i>	1,83	1,53	1,5	1,62

Pada ekosistem mangrove terjadi interaksi yang kompleks antara faktor kimia, fisik dan biologi, oleh karena itu, hutan mangrove disebut sebagai *interface ecosystem*, karena menghubungkan daratan dengan daerah pesisir (Arief, 2003). Sebagai suatu ekosistem mangrove tersusun atas komponen biotik dan abiotik. Mangrove berperan sebagai produsen, sedangkan kelompok hewan sebagai konsumen dan bakteri sebagai dekomposer (Collier *et al.*, 1973).

Keberadaan bakteri di ekosistem mangrove memiliki arti yang sangat penting dalam menguraikan serasah daun-daun mangrove menjadi bahan organik yang digunakan sebagai sumber nutrisi bagi organisme yang mendiami hutan mangrove. Aktivitas bakteri mampu meningkatkan ketersediaan unsur hara melalui proses mineralisasi karbon dan asimilasi nitrogen (Blum *et al.*, 1988). Adanya aktivitas bakteri pada tanah mangrove menyebabkan produktivitas ekosistem mangrove tinggi (Lyla dan Ajmal, 2006).

Bakteri hidup dan berkembang biak pada organisme mati dengan menguraikan senyawa organik melalui proses metabolisme menjadi molekul sederhana (Madigan dan Martinko, 2005). Salah satu senyawa organik yang terdapat di dalam tanah mangrove adalah senyawa protein. Sisa tanaman

mangrove yang telah mati banyak mengandung bahan organik berupa protein (Knabner, 2002) dan bercampur dengan protein hewani yang berasal dari bangkai hewan seperti bangkai ikan, bangkai kepiting serta fauna lainnya juga ikut berkontribusi dalam adanya kandungan senyawa protein di tanah mangrove.

Bakteri proteolitik mampu memproduksi enzim protease ekstraseluler, yaitu enzim pemecah protein yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel (Abraham *et al.*, 1993). Penentuan kemampuan bakteri proteolitik dilakukan dengan menggunakan media selektif yang mengandung kasein yaitu *Skim Milk Agar* (SMA) (Fardiaz, 1993). Menurut Susanti (2002), susu skim mengandung kasein yang berfungsi sebagai substrat enzim. Hidrolisis kasein digunakan untuk memperlihatkan adanya aktivitas hidrolitik enzim protease dan peptidase.

Enzim protease dan peptidase, berperan dalam proses hidrolisis kasein menjadi peptida-peptida dan asam-asam amino yang larut. Kasein di dalam media SMA terhidrolisis ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Aktivitas proteolitik ditunjukkan dengan semakin lebarnya zona bening tersebut. Hasil perombakan polimer protein hanya ditunjukkan dengan adanya zona jernih yang menandakan protein telah dirombak menjadi senyawa peptida dan asam amino yang sifatnya terlarut dalam medium (Irena, 2010).

Penghitungan indeks hidrolisis protein dilakukan pada masing-masing isolat bakteri dari tanah mangrove. Kemampuan hidrolisis protein dari bakteri proteolitik ditandai dengan nilai indeks hidrolisis protein yang merupakan perbandingan antara diameter zona bening terhadap diameter koloni isolat bakteri pada media SMA lempeng. Hasil bagi diameter tersebut dinyatakan sebagai aktifitas relatif protease (Sastono dkk, 2008).

Protein akan didegradasi oleh bakteri proteolitik menjadi asam amino (Schlegel, 1984), kemudian didegradasi lagi menjadi CO₂, H₂O, dan Amonia (NH₃) yang di lepaskan ke lingkungan. Amonia (NH₃) diubah oleh mikroba menjadi ion ammonium (NH₄⁺) yang dapat bermanfaat bagi tanaman terutama untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Senyawa ini diserap melalui akar ke daun selama proses asimilasi yang kemudian ditransformasikan dalam bentuk asam amino (Indranada, 1994).

Hasil pengukuran Indeks Hidrolisis Protein dari ketujuh isolat bakteri proteolitik membuktikan adanya perbedaan Indeks Hidrolisis Protein yang dimiliki oleh masing-masing isolat. Spesies bakteri proteolitik yang memiliki Indeks Hidrolisis Protein tertinggi adalah *Vibrio parahaemoliticus* yaitu 2,94. Bakteri ini juga memiliki sifat amilolitik dengan Indeks Hidrolisis Amilum yang tertinggi diantara semua spesies bakteri amilolitik yang berhasil diidentifikasi dari tanah mangrove Margomulyo (Hastuti dkk, 2017). Hal ini kemungkinan dikarenakan bakteri tersebut memiliki dua macam kemampuan tersebut sesuai dengan substratnya.



Hasil pengukuran Indeks Hidrolisis Protein yang berhasil diukur termasuk dalam kategori rendah (<2,1) sampai sedang (2,1-3,1) (Ahmad *et al.*, 2013). Indeks Hidrolisis Protein bakteri proteolitik yang tergolong sedang adalah *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas pseudomalei* dan *Listeria monocytogenes* sedangkan bakteri yang memiliki Indeks Hidrolisis Protein sedang adalah *Bacillus badius*, *Pseudomonas stutzeri*, dan *Bacillus alvei* serta *Bacillus lentus*. Indeks Hidrolisis Protein dari bakteri proteolitik berbeda pada berbagai daerah. Indeks Hidrolisis Protein bakteri-bakteri proteolitik di tanah mangrove Cilacap, Jateng berkisar antara 9,33 sampai 22,23 (Triyanto dkk, 2009), dari sedimen kawasan mangrove Rembang dan Kaliuntu, Cilacap berkisar antara 6-21 (Setyati & Subagiyo, 2012). Spesies-spesies bakteri proteolitik di kedua kawasan tersebut belum diidentifikasi, jadi perbedaan nilai Indeks Hidrolisis Protein dapat dipengaruhi oleh spesies bakteri proteolitik.

Spesies bakteri proteolitik yang ditemukan berasal dari genus *Pseudomonas*, *Vibrio* dan *Bacillus*. Genus-genus bakteri tersebut memang banyak tersebar di tanah dan perairan, hal ini didukung juga bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari tanah mangrove. Genus bakteri proteolitik yang telah diidentifikasi tersebut juga ditemukan di berbagai daerah lain di dunia seperti di tanah dan air di Ethiopia (Bizuye *et al.*, 2014), mangrove Brazil (Castro *et al.*, 2014), daerah delta Sungai Nil (Nassar *et al.*, 2015), dan dari tanah di India (Singh *et al.*, 2015).

Hasil penelitian sebelumnya di tanah limbah sisa olahan sagu juga ditemukan bakteri *Bacillus alvei* yang bersifat amilolitik sehingga berperan dalam proses biodegradasi amilum di limbah sagu tersebut (Hastuti *et al.*, 2014). *Bacillus alvei* dalam penelitian ini bersifat proteolitik, maka bakteri ini selain bersifat amilolitik juga memiliki sifat proteolitik, sehingga berperan dalam proses biodegradasi amilum dan protein. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa dalam tanah mangrove di Area Mangrove Margomulyo, Balikpapan hidup 7 bakteri indigen yang bersifat proteolitik yang berperan dalam bioremediasi tanah mangrove di area tersebut

4. PENUTUP

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa: 1) terdapat 7 spesies bakteri proteolitik yang berasal dari tanah mangrove, 2) Indeks Hidrolisis Protein setiap spesies bakteri proteolitik berkisar antara 1,62 sampai 2,94, dan 3) bakteri *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri yang paling potensial menguraikan protein, dengan Indeks Hidrolisis Protein 2,94.

5. DAFTAR RUJUKAN

Amir, R., Ahmed, N., & Talat, M.E., (1993). Salt-Tolerance in Mangrove Soil Bacteria. Pakistan, *Journal of Marine Sciences*, 129-135.

- Arief, A. (2003). *Hutan Mangrove*. Yogyakarta: Kanisius.
- Abraham A, G., G, Antoni L., & Añon A, C. (1993). Proteolytic Activity of *Lactobacillus bulgaricus* Grown in Milk. *Journal of Dairy Science*. 1498-1505.
- Ahmad, B., Nigar, S., Shah, S.S.A., Bashir, S., Ali, J., Yousaf, S., & Bangash, J, A. (2013). Isolation and Identification of Cellulose Degrading Bacteria from Municipal Waste and Their Screening for Potential Antimicrobial Activity, *World Applied Sciences Journal*, 1420-1426.
- Bizuye, A., Abrham, S., Genet, A., Hiwot, G., Paulos, K., & Melese, A. (2014). Isolation, optimization and characterization of protease producing bacteria from soil and water in Gondar town, North West Ethiopia. *International Journal Bacteriology, Virology and Immunology*, 20-24.
- Blum, L, K., Mills, A, L., Zieman, J, C., Zieman, R, T. (1988). Abundance of Bacteria and Fungi in Seagrass and Mangrove Detritus. *Marine Ecology Progress Series*, 73-78.
- Bone, A, H., Towo, A., & Idrus, R., (2012). Penilaian Manfaat Ekonomi Ekosistem Mangrove Margomulyo, Kota Balikpapan. <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/fe9242af2b60e92d15e299cbc42b7c52.pdf>
- Castro, R, A., Maria, C, Q., Paulo, T, L., Bruna, D, B., Danice, M, L., Joelma, M., Anderson, F., Itamar, S, M., & Joao, L, A. (2014). Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of Brazilian mangrove ecosystem. *SpringerPlus*, 1-9.
- Collier, B. D., G. W. Cox., A. W. Johnson & Miller. (1973). *Dynamic Ecology*. New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- Elias, M, A, R., Ronald, F, C., Alejandro, A., Juan, J, A., Gustavo, R, V., Luz, E, D, B., Fernando, J, E, G., & Oscar, G, B. (2014). Identification of Culturable Microbial Functional Groups Isolated From the Rhizosphere of Four Species of Mangroves and Their Biotechnological Potential. *Applied Soil Ecology*, 1-10.
- Fardiaz, S., 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Hastuti, U, S., Febriani, S, A, N., & Putri, M, A, A. (2017). Isolasi dan Identifikasi Spesies Bakteri Amilolitik yang Berasal dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan, Kalimantan Timur. Data Belum Dipublikasikan.
- Hastuti, U,S., Pramitha, Y., & Henny, N, K. (2014). Biodiversity of Indigenous Amylolytic and Cellulolytic Bacteria in Sago Waste Product at Susupu, North Moluccas. *Journal of Life Sciences* 8, 920-924.
- Hastuti, U, S., Sangur, K., & Khasanah, H, N., (2015). Biodiversity and Enzyme Activity of Indigenous Cellulolytic and Amylolytic Bacteria in Decayed Mangrove Stem Waste Product at Waai Seashore, Ambon Island. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 252-256.
- Indranada, H.K. (1994). *Pengelolaan Kesuburan Tanah*. Jakarta: Bumi Aksara.



- Irena, A., (2010). *Isolasi Dan Optimasi Protease Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Tangkuban Perahu Bandung*. Unpublished Thesis, Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. Bogor.
- Karuniastuti. (2013). Peranan Hutan Mangrove bagi Lingkungan Hidup. *Forum Manajemen*, 1-10.
- Knabner, I.K. (2002). The Macromolecular Organic Composition of Plant and Microbial Residues as Inputs to Soil Organic Matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 139-162.
- Lee, L. H., Azman, A. S., Zainal, N., Yin, W. F., Ab Mutalib, N. S., & Chan, K. G. (2015). *Sinomonas humi* sp. Nov., An Amylolytic Actinobacterium Isolated from Mangrove Forest Soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 996-1002.
- Leena, B. M. R. S., 2013. Isolation and Characterization of Microorganisms from Mangrove Soil of CBD Belapur Creek , Navi Mumbai ,MS India. *International Journal of Environmental Sciences*, 2304-2312.
- Lyla, P, S., & Ajmal, K.S., 2006, Marine Microbial Diversity and Ecology: Importance and Future Perspectives. *Current Science*, 1325-1335.
- Madigan M.T., & Martinko J.M., (2005). *Brock Biology of Microorganisms* (11th ed).. New Jersey: Prentice Hall.
- Mann, K.H. 1986. *Ecology of Coastal Water a System Approach Studies in Ecology*. Oxford: Blackwell Scientific Publication.
- Nassar, F, R., Ahmed, A, A., Tarek, S, E, T., & Samah, H, A, H. (2015). Proteases Production by a Bacterial Isolate *Bacillus amyloliquefaciens* 35s Obtained from Soil of the Nile Delta of Egypt. *British Microbiology Research Journal*, 315-330.
- Sastono, U., Sutardi., & Verdial, O, F. (2008). Opimasi Pemecahan Emulsi Kanil Dengan Cara Pendinginan Dan Pengadukan Pada Virgin Coconut Oil (VCO): (Abstrak) *Prosiding Seminar*. Institut Pertanian Bogor .
- Schlegel Hans G., (1994). *Mikrobiologi Umum (6td edition)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Setyati, W, A., & Subagiyo, (2012). Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik dan selulolitik) yang Berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove. *Ilmu Kelautan*, 164-168.
- Setyawan, A. D., & Winarno, K., 2006. Pemanfaatan Langsung Ekosistem Mangrove di Jawa Tengah dan Penggunaan Lahan di Sekitarnya; Kerusakan dan Upaya Restorasinya. *Biodiversitas*, 282-291.
- Singh, P., Anchal, R., & Neha, C. (2015). Isolation and characterization of protease producing *Bacillus sp* from soil. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 633-639.
- Susanti, E. (2002). *Petunjuk Praktikum Biokimia*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA UM
- Thatoi, H., Behera, B. C., Dangar, T. K., dan Mishra, R. R., 2012. Microbial Biodiversity in Mangrove soils of Bhitarkanika, Odisha, India. *International Journal of Environ-mental Biology*, 50-58.
- Triyanto, Alim, I., Irfan, D, P., Jaka, W., & Afi, T. (2009). Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Infeksi Bakteri Proteolitik Dari Lumpur Kawasan Hutan Bakau. *J.Fish.Sci*, 13-18.
- Yahya, Happy, N., Yenny, R., & Soemarno. (2014). Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautan*, 34-42.