



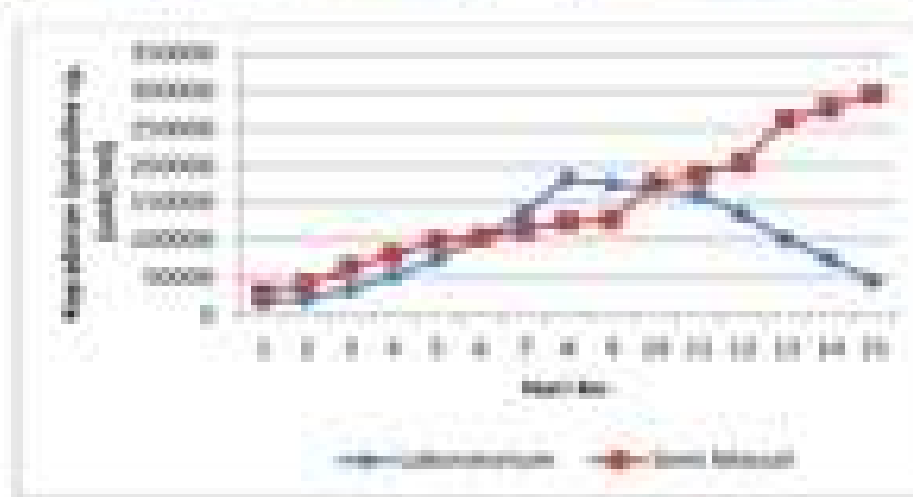
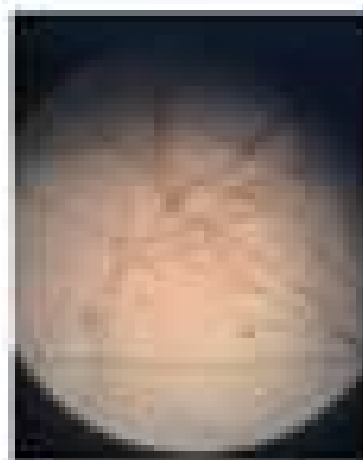
ISSN : 2655-0842

E-ISSN : 2655-0758

Volume 18 Nomor 1 April 2018

JURNAL ILMIAH PERIKANAN DAN KELAUTAN

SCIENTIFIC JOURNAL OF FISHERIES AND MARINE



Kerjasama Publikasi oleh Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Airlangga dan
Himpunan Ahli Pengelola Perairan Indonesia (HAPPI)



Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik yang Berasosiasi dengan Lamun *Enhalus acoroides* di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur

*[Isolation and Characterization Proteolytic Bacteria which is Associated with Sea Grass (*Enhalus acoroides*) in Bama Beach, Baluran National Park, Situbondo, East Java]*. (<https://e-journal.unair.ac.id/JIPK/article/view/8314>)

June 2, 2018

📄 8-14

👤 Rachmat Rizaldi, Woro Hastuti Setyantini, Sudarno Sudarno

📄 PDF (<https://e-journal.unair.ac.id/JIPK/article/view/8314/6155>)

Analisis Nilai Tambah Olahan Ikan Peperek (*Leiognathus equulus*) Menjadi Ikan Peperek Crispy Menggunakan Metode Value Engineering

*[Value Added Analysis of Peperek Fish (*Leiognathus equulus*) Being Peperek Crispy Fish Using Value Engineering Method]* (<https://e-journal.unair.ac.id/JIPK/article/view/8367>)

June 2, 2018

📄 15-25

👤 Mardiana Rosita, Khoirul Hidayat, Iffan Maflahah

📄 PDF (<https://e-journal.unair.ac.id/JIPK/article/view/8367/6156>)

Studi Pertumbuhan Populasi *Spirulina* sp. pada Skala Kultur yang Berbeda

*[Study of *Spirulina* sp. Population Growth in The Different Culture Scale]* (<https://e-journal.unair.ac.id/JIPK/article/view/8516>)

June 2, 2018

📄 26-33

👤 Nanik Retno Buwono, Raden Qonitah Nurhasanah

📄 PDF (<https://e-journal.unair.ac.id/JIPK/article/view/8516/6157>)

Pengaruh Penambahan Beeswax Sebagai Plasticizer Terhadap Karakteristik Fisik Edible Film Kitosan

[The Effect of Using Beeswax as Plasticizer Against Physical Characteristics of Chitosan Edible Film] (<https://e-journal.unair.ac.id/JIPK/article/view/8516/6157>)



JIPK

JURNAL ILMIAH PERIKANAN DAN KELAUTAN

Research Article

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik yang Berasosiasi dengan Lamun (*Enhalus acoroides*) di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur

Isolation and Characterization Proteolytic Bacteria which is Associated with Sea Grass (*Enhalus acoroides*) in Bama Beach, Baluran National Park, Situbondo, East Java.

Rachmat Rizaldi¹, Woro Hastuti Setyantini^{2*}, dan Sudarno²

¹Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya 60115

²Departemen Manajemen Kesehatan Ikan dan Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya 60115

ARTICLE INFO

Received: April 19, 2018

Accepted: April 27, 2018

*) Corresponding author:

E-mail: worohastuti79@gmail.com

Kata Kunci:

Lamun (*Enhalus acoroides*), Bakteri proteolitik, Asosiasi, Enzim protease

Keywords:

Lamun (*Enhalus acoroides*), Proteolytic bacteria, Associations, Protease enzyme

Abstrak

Lamun adalah tumbuhan sejati yang hidup di perairan pantai yang kurang dimanfaatkan dalam bidang perikanan, selain sebagai bioindikator kualitas air laut. Beberapa mikroorganisme yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* antara lain benthos, kapang, bakteri dan plankton. Bakteri proteolitik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease. Enzim perotese merupakan enzim yang paling banyak digunakan dalam kehidupan. Bakteri merupakan sumber enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis isolat bakteri proteolitik yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* di Taman Nasional Baluran, Situbondo. Penelitian ini menggunakan metode survei dengan dianalisis secara deskriptif dengan bantuan tabel dan gambar. Hasil yang peroleh menunjukkan bahwa terdapat 12 isolat bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides*. Terdapat empat isolat yang tergolong sebagai bakteri proteolitik karena mampu mendegradasi kasein dalam media TSA + 2% NaCl yang ditambah 1 % susu skim, tampak dari pembentukan zona bening. Pengamatan morfologi koloni dan sel serta pengujian biokimia dari keempat isolat (EA-1, EA-2, EA-9 dan EA-10) terdapat kesamaan karakteristik dengan empat genus bakteri berturut-turut yaitu *Staphylococcus* sp., *Plesiomonas shigeloides*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.

Abstract

Seagrass is a true living plants underutilized coastal waters in the field of fisheries, as well as bio-indicators of the quality of sea water. Some microorganisms associated with seagrass *Enhalus acoroides* among others benthos, fungi, bacteria and plankton. Proteolytic bacteria are bacteria that are capable of producing the enzyme protease. Protease enzyme is an enzyme that is most widely used in life. Bacteria are a source of enzymes that are most widely used compared to plants and animals. The purpose of this study was to determine the type of proteolytic bacterial isolates associated with seagrass *Enhalus acoroides*

in Baluran National Park, Situbondo. This study used survey method with descriptive analysis with tables and figures. The results obtained that there are 12 bacterial isolates associated with seagrass *Enhalus acoroides*. There are four isolates were classified as proteolytic bacteria because it can degrade casein in TSA media + 2 % NaCl plus 1% skim milk which is evidenced by the formation of clear zones. Observations colony morphology and cells as well as testing of Biochemistry of the four isolates (EA-1, EA-2, EA-9 and EA-10) were obtained, with similar characteristics to the four genera of bacteria in a row as follows *Staphylococcus* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.

Cite this as: Rachmat, R., Woro, H. S., & Sudarno. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik yang Berasosiasi dengan Lamun (*Enhalus acoroides*) di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 10(1):8–14. <http://doi.org/10.20473/jipk.v10i1.8314>

1. Pendahuluan

Lamun berperan penting dalam siklus ekologi pada perairan dangkal pantai tropis dan subtropis (Kurniawan dkk., 2010). Fungsi ekologi lamun diantaranya adalah sebagai tempat pemijahan, asuhan, mencari makan dan tempat perlindungan berbagai jenis biota laut (Thomascik *et al.*, 1997). Organisme laut yang hidupnya menetap diperkirakan sangat bergantung pada mekanisme pertahanan kimia untuk melawan hewan-hewan pemangsa dan perlekatan dari mikroorganisme patogenik (Watermann, 1999).

Pada ekosistem lamun, bakteri berperan sebagai pengurai primer, berfungsi dalam pelepasan dan pengikatan unsur hara dari fraksi mineral sedimen menjadi nutrisi yang diperlukan lamun. Bakteri yang berasosiasi dengan lamun ada beberapa yang menguntungkan, yaitu bakteri yang dapat memberikan kontribusi untuk pertahanan inangnya dengan sekresi antibiotik dan substansi bioaktif lainnya (Watermann, 1999). Bakteri akan mendegradasi substrat serasah lamun yang ada pada sedimen dengan menggunakan enzimnya (Udy dan Dennison, 1996). Bakteri merupakan sumber enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Sebagai sumber enzim, bakteri memiliki keunggulan karena pertumbuhannya cepat, mudah ditumbuhkan, mudah diatur produksinya dan mudah direkayasa secara genetika (Irma dkk., 2009).

Bakteri proteolitik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease. Protease tidak hanya berperan dalam proses metabolisme seluler, namun juga dapat diaplikasikan dalam bidang industri (Gupta dkk., 2002). Bakteri proteolitik yang didapatkan diharapkan bisa dijadikan sebagai kandidat bakteri probiotik. Berdasarkan hal tersebut maka pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi bakteri proteolitik yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus*

acoroides yang berada di Pantai Bama, Taman Nasional (TN) Baluran, Situbondo, Jawa Timur.

2. Materi dan Metode

2.1 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah sampel lamun *Enhalus acoroides* yang diperoleh dari Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo serta bahan lainnya seperti akuades, NaCl fisiologis 0,9 %, air laut steril, *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Skim Milk Agar* (SMA), kertas cakram (kertas Whatmann).

2.2 Metode Penelitian

Pengambilan lamun dilakukan secara acak (*random sampling*) dengan transek kuadran berukuran 1 x 1 m dengan jarak tiap kuadran transek 25 m secara vertikal (arah menuju laut) sepanjang 50m dan horizontal (searah garis pantai) sepanjang 100 m. Sampel lamun sebanyak 10 gr dicuci dengan air laut steril, kemudian digerus, selanjutnya ditambahkan NaCl fisiologis sebanyak 10 ml. Larutan stok sampel 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl fisiologis (pengenceran 10^{-1}) kemudian dikocok dengan menggunakan vortex. Pengenceran dilakukan hingga 10^{-6} .

Hasil pengenceran sampel 10^{-6} diinokulasi dalam medium TSA + 2% NaCl dengan metode tuang (*pour plate*) selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C (Massinai, 2013). Tiap koloni yang berbeda secara morfologi (warna, bentuk, elevasi dan tepi) dipisahkan dan diinokulasi dengan metode goresan (*streak plate*), sehingga diperoleh isolat murni. Karakteristik bakteri proteolitik menggunakan metode *disk diffusion* yaitu dengan cara meneteskan isolat bakteri pada kertas cakram lalu diletakkan pada media TSA + 2 % NaCl yang ditambahkan susu skim 1%. Setelah didapatkan

isolat bakteri proteolitik, bakteri yang memiliki aktivitas enzim proteolitik selanjutnya diidentifikasi dengan uji biokimia secara bertahap menurut bagan alir dikotomi berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

2.3 Parameter Penelitian

Parameter utama dalam penelitian ini adalah adanya keberadaan isolat bakteri serta mengidentifikasi jenis isolat bakteri proteolitik yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* di perairan Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur. Uji aktivitas proteolitik dan identifikasi bakteri dilakukan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas 1 Juanda, Surabaya. Parameter pendukung dalam penelitian ini adalah kualitas perairan padang lamun *Enhalus acoroides* di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran. Adanya parameter pendukung sangat berpengaruh terhadap parameter utama dalam penelitian ini.

2.4 Analisis Data

Data hasil penelitian ini berupa data morfologi sel dan koloni isolat serta hasil uji biokimia bakteri proteolitik yang diperoleh dari lamun *Enhalus acoroides* di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran. Data dianalisis secara deskriptif dengan bantuan Tabel dan Gambar.

3. Hasil dan Pembahasan

Parameter utama dalam penelitian ini adalah adanya keberadaan isolat bakteri serta mengidentifikasi jenis isolat bakteri proteolitik yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* di perairan Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur. Uji aktivitas proteolitik dan identifikasi bakteri dilakukan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas 1 Juanda, Surabaya. Parameter pendukung dalam penelitian ini adalah kualitas perairan padang lamun *Enhalus acoroides* di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran. Adanya parameter pendukung sangat berpengaruh terhadap parameter utama dalam penelitian ini.

2.4 Analisis Data

Data hasil penelitian ini berupa data morfologi sel dan koloni isolat serta hasil uji biokimia bakteri proteolitik yang diperoleh dari lamun *Enhalus acoroides* di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran. Data dianalisis secara deskriptif dengan bantuan Tabel dan Gambar.

3.1 Lamun *Enhalus acoroides*

Lamun *Enhalus acoroides* yang berada di

perairan Pantai Bama memiliki karakteristik *rhizome* berukuran 1,5 – 1,8 cm, akar berwarna putih dengan panjang antara 9 – 15 cm. Daun berbentuk seperti pita dengan pinggiran daun yang menebal dan lebar antara 8 – 20 mm serta panjang antara 10 – 60 cm. Hal tersebut sesuai dengan Waycott *et al.* (2004) yang menyatakan *Enhalus acoroides* mempunyai *rhizome* (akar rimpang) berdiameter 1,3 – 1,7 cm yang tertutup rapat dengan rambut-rambut yang kaku dan keras. Bentuk daun seperti pita dengan tepi rata dan ujung tumpul, panjangnya antara 65 – 150 cm dan lebar antara 1,2 – 2,0 cm (Dahuri, 2003).

3.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asosiasi Lamun *Enhalus acoroides*

Pada isolasi tahap awal diperoleh sebanyak 20 strain bakteri berdasarkan pada perbedaan morfologi koloni bakteri secara makroskopis. Pada tahap pemurnian bakteri dari 20 isolat bakteri, dilakukan penyeleksian berdasarkan kesamaan morfologi koloni bakteri baik dari segi warna, bentuk, elevasi dan tepian.

Hasil pemurnian diperoleh 12 isolat bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* di Pantai Bama, TN Baluran. Pengamatan morfologi sel menggunakan pewarnaan Gram dan bentuk sel dengan mikroskop perbesaran 1000x. Hasil pengamatan morfologi sel dari 12 isolat bakteri asosiasi lamun *Enhalus acoroides* diperoleh morfologi sel berbentuk bulat (*coccus*) dan batang (*bacill*) dan hasil pewarnaan Gram menunjukkan Gram negatif kecuali isolat EA-1 dan EA-9 yang Gram positif. Hal ini sesuai dengan Pelczar dan Chan (1986), yang menyatakan bahwa bakteri laut 95% adalah Gram negatif, sebagian bersifat motil, 70% mengandung pigmen dan mempunyai toleransi yang besar terhadap suhu. Isolat bakteri yang diperoleh adalah Gram negatif, karena bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibanding bakteri Gram positif. Menurut Fardiaz (1989), bakteri Gram negatif mampu bertahan di kondisi lingkungan yang ekstrim.

Isolat bakteri yang ditemukan lebih banyak berbentuk bulat (*coccus*) dibandingkan dengan batang (*bacill*). Pelczar dan Chan (1986), kebanyakan bakteri berbentuk bulat (*coccus*) hidup saling melekat satu sama lain membentuk kumpulan yang kuat karena adanya bahan yang dihasilkan seperti lendir. Bakteri batang (*bacill*) yang ditemukan kemungkinan karena bakteri tersebut memiliki flagel yang digunakan untuk bergerak untuk mendapatkan tempat pelekatan. Menurut Aryulina (2005) menyatakan flagellum memungkinkan bakteri bergerak menuju kondisi lingkungan yang menguntungkan atau menghindari dari lingkungan yang merugikan bagi kehidupannya.

Tabel 1. Morfologi koloni dan sel bakteri lamun *Enhalus acoroides* yang berasal dari perairan Pantai Bama, TN Baluran.

Kode Isolat	Morfologi Koloni			Morfologi Sel		
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Bentuk	Gram
EA-1	Tak beraturan	Utuh	Cembung	Putih Susu	Coccus	Positif
EA-2	Filament	Bergerigi	Membukit	Putih bening	Bacill	Negatif
EA-3	Bulat	Utuh	Datar	Krem	Coccus	Negatif
EA-4	Bulat	Berombak	cembung	Krem	Coccus	Negatif
EA-5	Bulat	Utuh	Datar	Oranye	Coccus	Negatif
EA-6	Bulat	Bergerigi	Cembung	Coklat	Bacill	Negatif
EA-7	Bulat	Utuh	Cembung	Abu-abu	Coccus	Negatif
EA-8	Bulat	Utuh	Datar	Krem	Coccus	Negatif
EA-9	Tak beraturan	Utuh	Datar	Putih	Bacill	Positif
EA-10	Bulat	Bergerigi	Datar	Krem	Bacill	Negatif
EA-11	Tak beraturan	Utuh	Cembung	Oranye pudar	Coccus	Negatif
EA-12	Akar	Berbelah	Datar	Oranye	Coccus	Negatif

3.3 Uji Aktivitas Proteolitik

Isolat bakteri asosiasi yang menghasilkan enzim protease adalah isolat dengan kode EA-1, EA-2, EA-9 dan EA-10. Dari pengamatan secara makroskopis dari ke-empat isolat Bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik tersebut menunjukkan perbedaan dari segi tepi, bentuk, elevasi, dan warna. Hal ini diduga karena setiap isolat berbeda jenis sehingga aktivitas proteolitik yang ditunjukkan juga berbeda yaitu dari diameter zona bening yang terlihat. Pengukuran zona bening pada isolat bakteri proteolitik menunjukkan perbedaan dari tiap isolat. Aktivitas paling rendah ditunjukkan pada isolat EA-2 dengan diameter zona bening 7,5 mm. Zona bening yang paling besar ditunjukkan oleh isolat EA-1 dengan diameter zona bening 18 mm.

3.4 Uji Biokimia

Ciri utama suatu bakteri yang perlu diketahui dalam mengkarakterisasi bakteri adalah melalui beberapa uji morfologi dan uji biokimia (Sudarsono, 2008). Pengujian yang dilakukan meliputi uji oksidase, uji katalase, uji O/F, uji *triple sugar iron agar* (TSIA), uji lysin iron agar (LIA), uji motility, indole, ornithine (MIO), uji metil red (MR), uji Voges – Proskauer (VP), uji Simmons citrate dan uji gula-gula (glukosa, laktosa, sukrosa, arabinosa, manitol, inositol, maltosa, trehalose, dulcitol dan xylose). Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia yang dibandingkan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt et al., 1994) dan buku *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria* (Faddin and Jean, 1980)

Tabel 2. Hasil uji biokimia dari isolat bakteri proteolitik

No.	Uji Biokimia	Kode isolat bakteri			
		EA-1	EA-2	EA-9	EA-10
1.	Gram	+	-	+	-
2.	Oksidase	-	+	-	+
3.	Katalase	+	+	+	+
4.	O/F	F	F	F	O
5.	TSIA, Gas, H ₂ S	K,A,H ₂ S	K,A, G, H ₂	K,A,H ₂ S	A,A
6.	(S/B)	+		+	+
7.	Motilitas	-	+	+	+
8.	Gelatin	+	-	+	-
9.	Indole	-	+	-	-
10.	Ornithine	+	+	+	+
11.	MR	-	+	+	-
12.	VP	-	-	+	-
13.	Arginin	+	+	+	-
14.	Simmon Citrate	V+	+	V+	V+
15.	Uji Glukosa	+	+	+	-
	gula- Laktosa	+	+	-	V-
	gula Sukrosa	+	+	+	+
	Arabinase	+	+	V-	V-
	Manitol	+	+	-	+
	Inositol	+	+	-	V+
	Maltosa	+	+	V+	+
	Trehalose	+	+	+	+
	Dulcitol	-	+	-	V-
	Xylose	+	+	V+	V-
Hasil identifikasi					
		<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.

diperoleh kesesuaian karakteristik pada beberapa genus bakteri. Kode isolat EA-1 memiliki kesamaan karakteristik dengan *Staphylococcus* sp., EA-2 dengan *Plesiomonas shigelloides*, EA-9 dengan *Bacillus* sp. dan EA-10 dengan *Pseudomonas* sp.. Isolat bakteri *Staphylococcus* sp. memiliki zona bening sebesar 18 mm. Hal ini didukung dengan pernyataan Fatoni dkk. (2007) bahwa *Staphylococcus* sp. termasuk *Plesiomonas shigelloides* merupakan bakteri air dan sedimen tanah yang memiliki kemampuan proteolitik serta termasuk bakteri patogen yang merugikan bagi organisme laut (Pereira *et al.*, 2008).

Bakteri *Bacillus* sp. memiliki zona bening sebesar 8 mm. Menurut Yuni ati (2015), bakteri *Bacillus* sp. merupakan bakteri proteolitik karena mampu menghasilkan enzim protease terlihat dari zona bening yang terbentuk pada media susu skim. Sankaralingan *et al.*, (2012) menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonas* sp. dapat menghasilkan enzim protease pada berbagai media yang mengandung sumber protein seperti agar-agar, karginan dan polyacrylamide. Zona bening paling besar yang terbentuk dari aktivitas proteolitik ditunjukkan oleh bakteri *Staphylococcus* sp. yaitu 18 mm dan yang

paling kecil adalah bakteri *Plesiomonas shigelloides* sebesar 7,5 mm. Beberapa bakteri patogen dapat memproduksi enzim protease yang digunakan untuk merusak struktur jaringan inang (Baehaki dkk., 2005). Dua isolat bakteri (EA-9 atau *Bacillus* sp. dan EA-10 atau *Pseudomonas* sp.) yang diperoleh dari penelitian ini dapat digolongkan sebagai calon kandidat bakteri probiotik. Menurut Feliatra (2004), beberapa jenis bakteri kandidat probiotik antara lain *Lactococcus* sp., *Carnoacterium* sp., *Bacillus* sp., *Eubacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Lactobacillus* sp., *Micrococcus* sp. dan *Biftidobacterium* sp.

4. Kesimpulan

Hasil isolasi bakteri dari sampel lamun *Enhalus acoroides* diambil dari perairan Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur diperoleh 12 isolat bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides*. Dari keduabelas isolat tersebut diperoleh empat jenis isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik yaitu *Staphylococcus* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.

Daftar Pustaka

Aryulina, D. (2005). Biologi I. Jakarta: Erlangga. 134 hal.

Baehaki, A., Nurhayati, T., & Suhartono, M. T. (2005). Karakteristik Protease Dari Bakteri Patogen *Staphylococcus epidermidis*. Buletin Teknologi Hasil Perikanan. *Teknologi Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor*, 8(2) : 25-34.

Dahuri, R. (2003). Keanekaragaman Hayati Laut Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia. Jakarta: Penerbitan Gramedia Pustaka Utama. Hal 165-169.

Faddin, M., & Jean, F. (1980). Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. (2nd ed.). Baltimore, USA: Lipincott Williams and Wilkins Company. 438 pp.

Fardiaz, S. (1989). Mikrobiologi Pangan. Bogor: PAU Pangan dan Gizi, IPB. 125 hal.

Fatoni, A., Zufahair, & Lestari, P. (2007). Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. Program Studi Kimia, Jurusan MIPA, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Jenderal Soedirman. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(2):1-6

Feliatra, Efendi, I., & Suryadi, E. (2004). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*)

dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Indonesia*, 6(2): 75-80.

Gupta, R., Beg, Q. K., & Lorenz, P. (2002). Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial application. *Appl Microbiol Biotechnol*. 59:15-32.

Holt, J. G., Krig, N. R., Sneath, P., Staley, J., & Williams, S. (1994). Bergeys Manual Of Determinative Bacteriology (9th ed.). Philadelphia USA: Lipincott Williams and Wilkins Company. 546 pp.

Irma, M. P., Hendriani, R., & Kusuma, S. A. F. (2009). Pencarian Bakteri Tanah Penghasil Enzim Protease Dari Gunung Gede Cianjur. Fakultas Farmasi. Bandung: Universitas Padjadjaran. 13 hal.

Kurniawan, M. L., Akbar, M. S., & Saptorini, D. (2010). Analisis Kecenderungan Persebaran Meiofauna Pada Lamun Yang Dipengaruhi Oleh Variabel Lingkungan (studi Kasus di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo). *Jurnal Ilmu Dasar*. Departemen Statistika. Surabaya: Institut Teknologi 10 November Surabaya. 10 hal.

Massinai, S., Haris, A., Lisdayanti, E., & Gosary, B. A. (2013). Lamun Pulau Bonebatang, Kepulauan Spermonde Dan Bakteri Asosiasinya. Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan. Makasar: Universitas Hasanuddin. 40 hal

Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1986). Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid I. (Terjemahan: Ratna Siri Hadioetomo). Jakarta: UI Press. 154 hal.

Pereira, S. C., Amorim, S. D., Santos, A. F. M., & Rodrigues, D. P. (2008). *Plesiomonas Shigelloides* And Aeromonadaceae Family Pathogens Isolated From Marine Mammals Of Southern And Southeastern Brazilian Coast. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Imbé, RS, Brasil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39:749-755.

Sankaralingan, S., Shankar, T., Sendeshkannan, K., Ramasubburayan, R., & Prakash, S. (2012). Production of Protease From *Pseudomonas* Sp. by Immobilization Approach on Different Matrices. Center for Marine Science and Technology, M.S. University, Tamilnadu, India. *European Journal of Applied Sciences*, 4 (4): 146-156.

Sudarsono, A. (2008). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (*Lepidocibium flavobronneum*).

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan.
Bogor: IPB. Hal 1-12.

- Tomascik, T., Mah A. J., Nontji A., & Moosa, M. K. (1997). The Ecology of the Indonesian Seas. Part Two. *The Ecology of Indonesia Series*. 8: 235-243.
- Udy, J. W., & Dennison, W. C. (1996). Estimating nutrient availability in seagrass sediment. In: *Seagrass Biology. Proceeding of an International Workshop, Rottneest Island, Western Australia, 25 – 29 January*: 163-172.
- Watermann, B. (1999). Alternative antifoulant techniques present and future. *Limno Mar*: 1-6.
- Waycott, M., McMahon, K., Mellors, J., Calladine, A., & Kleine, D. (2004). *A Guide to Tropical Seagrasses of the Indo-West Pacific. Townsville- Queensland-Australia: James Cook University*. 65 pp.
- Yuniati, R., Nugroho, T. T., & Puspita, F. (2015). Uji Aktivitas Enzim Protease Dari Isolat Bakteri *Bacillus* sp. Galur Lokal Riau. *JOM FMIPA*, 1(2):1-7.