IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL LIPASE ASAL SEMENDO DENGAN PENDEKATAN BIOLOGI MOLEKULER BERBASIS GEN 16S-rRNA

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Studi Biologi

Oleh :

MEITA ANGGRAINI
08101004026

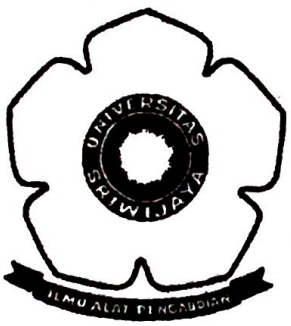
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDERALAYA
JULI 2014

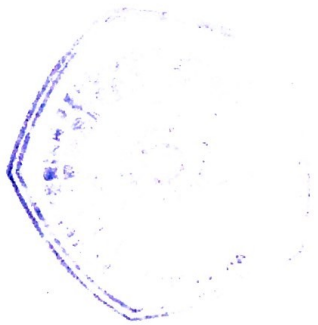
R: 26797/27858
S
597.307
Mei
i
2014 c.142739

IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL LIPASE ASAL SEMENDO DENGAN PENDEKATAN BIOLOGI MOLEKULER BERBASIS GEN 16S-rRNA

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Studi Biologi





Oleh :

MEITA ANGGRAINI
08101004026

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDERALAYA
JULI 2014

LEMBAR PENGESAHAN

IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL LIPASE ASAL SEMENDO DENGAN PENDEKATAN BIOLOGI MOLEKULER BERBASIS GEN 16S-rRNA

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Biologi

Oleh :

MEITA ANGGRAINI
08101004026

Inderalaya, Juli 2014

Pembimbing II

Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si
NIP. 197011152000122004

Pembimbing I

Dra. Muharni, M.Si
NIP. 196306031992032001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. rer. nat Indra Yustian, M.Si
NIP. 197307261997021001

HALAMAN PERSEMBAHAN

It always seems impossible until it is done, just believe that ALLAH will make a way when there seems to be no way.

Tidak ada usaha yang gagal, Kegagalan adalah pengalaman untuk mencapai kemenangan.

Barang siapa yang keluar untuk mencari ilmu maka ia berada di jalan Allah sampai ia kembali —(HR Tirmidzi)

Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu. Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu'
—(QS Al-Baqarah: 45)

Karena sesungguhnya bersama setiap kesulitan ada kemudahan
—(QS Al-Insyirah: 5)

Kupersembahkan untuk

ALLAH SWT
Kedua Orang Tuaku (Bapak Zulkarnain & Ibu Hurairuh)
Kakak dan Adikku (Fenny Etrawati, S.KM, M.KM & Yudekta Elyani)
Almamaterku

HALAMAN PERSEMBAHAN

It always seems impossible until it is done, just believe that ALLAH will make a way when there seems to be no way.

Tidak ada usaha yang gagal, Kegagalan adalah pengalaman untuk mencapai kemenangan.

Barang siapa yang keluar untuk mencari ilmu maka ia berada di jalan Allah sampai ia kembali —(HR Tirmidzi)

Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu. Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu'
—(QS Al-Baqarah: 45)

Karena sesungguhnya bersama setiap kesulitan ada kemudahan
—(QS Al-Insyirah: 5)

Kupersembahkan untuk

ALLAH SWT
Kedua Orang Tuaku (Bapak Zulkarnain & Ibu Hurairuh)
Kakak dan Adikku (Fenny Etrawati, S.KM, M.KM & Yudekta Elyani)
Almamaterku

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kehadirat Allah SWT karena atas berkat Rahmat dan Hidayat-Nya penulis mampu menyelesaikan skripsi ini. Skripsi yang berjudul "Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Lipase Asal Semendo dengan Pendekatan Biologi Molekuler Berbasis Gen 16S-rRNA" ini dapat diselesaikan. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Ucapan terima kasih dari relung hati yang terdalam penulis ucapkan kepada kedua orang tuaku, Bapak Zulkarnain dan Ibu Hurairuh yang selalu mendoakan, memberikan cinta dan kasih sayang, semangat dan juga nasehat yang tak ada habisnya. Ucapan terima kasih kepada Dra. Muharni, M.Si dan Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah berkenan membimbing, mengarahkan, meluangkan waktu, fikiran, dan tenaga dengan ikhlas dan penuh kesabaran selama penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis tujukan kepada :

1. Drs. Muhammad Irfan, M.T selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Indra Yustian, M.Si, selaku Ketua Jurusan dan Dra. Nina Tanzerina, M.Si selaku Sekretaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Prof. Dr. Hj. Hilda Zulkifli, M.Si. DEA selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan saran, nasihat, dan arahannya selama masa perkuliahan.

4. Dr. Munawar, M.Si dan Dr. Harry Widjajanti, M.Si selaku dosen pembahas yang telah banyak memberikan masukan dan koreksi dalam penyelesaian tugas akhir ini.
5. Seluruh Staf Dosen dan Karyawan di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah banyak memberikan ilmu dan pengetahuan yang sangat bermanfaat.
6. Serta semua pihak yang telah membantu penulis selama menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwasanya skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Maka dari itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan demi perbaikan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua yang membaca, khususnya mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya.

Inderalaya, Juli 2014

Penulis

IDENTIFICATION OF LIPASE PRODUCING THERMOPHILIC BACTERIA FROM SEMENDO USING MOLECULAR BIOLOGY-BASED APPROACH 16S-rRNA GENE

By :

Meita Anggraini
08101004026

ABSTRACT

Identification of Lipase Producing Thermophilic Bacteria from Semendo using Molecular Biology-Based Approach 16S-rRNA gene has been conducted from January to March 2014, in the Laboratory of Microbiology and Genetics & Biotechnology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Sriwijaya. This research aims to determine the type and the genetic relationship of lipase producing thermophilic bacteria from hot springs Semendo using 16S-rRNA coding genes. Selection result of the 6 isolates thermophilic bacteria from Semendo, obtain 4 isolates showed the presence of lipase activity. Based on phylogenetic analysis result, these isolates had a similarity of 99% with the genus *Anoxybacillus* sp. (AA1 and AA3, AB2), and 98% to the genus *Bacillus* sp. (LB1).

Keywords: Identification, thermophilic bacteria, lipase, 16S-rRNA.

IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL LIPASE ASAL SEMENDO DENGAN PENDEKATAN BIOLOGI MOLEKULER BERBASIS GEN 16S-rRNA

Oleh :

Meita Anggraini
08101004026

ABSTRAK

Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Lipase Asal Semendo Dengan Pendekatan Biologi Molekuler Berbasis Gen 16S-rRNA telah dilakukan pada periode Januari hingga Maret 2014, di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium genetika & Bioteknologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis serta kekerabatan bakteri termofilik penghasil enzim lipase dari sumber air panas Semendo dengan menggunakan gen penyandi 16S-rRNA. Hasil seleksi dari 6 isolat bakteri termofilik asal Semendo di dapatkan 4 isolat yang menunjukkan adanya aktivitas lipase. Berdasarkan analisis filogenetik isolat bakteri tersebut memiliki kemiripan sebesar 99% dengan Genus *Anoxybacillus* sp. (AA1 dan AA3, AB2), dan 98 % dengan Genus *Bacillus* sp. (LB1).

Kata kunci: Identifikasi, bakteri termofilik, lipase, 16S-rRNA

UPT PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NO. DAFTAR 142739
TANGGAL :

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
LEMBAR PENGESAHAN ii
HALAMAN PERSEMBAHASAN iii
KATA PENGANTAR iv
ABSTRACT vi
ABSTRAK vii
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR LAMPIRAN xii

BAB I. PENDAHULUAN
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 3
1.3. Tujuan Penelitian 3
1.4. Manfaat Penelitian 4

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA
2.1. Bakteri termofilik 5
2.2. Lipid 7
2.3. Enzim Lipase Termostabil 7
2.4. Peranan Enzim Lipase dalam Bidang Industri 10
2.4.1. Lipase dalam Industri Makanan 10
2.4.2. Lipase dalam Industri Kertas 11
2.4.3. Lipase dalam Industri Detergen 11
2.4.4. Lipase dalam Industri Kulit 11
2.5. Reaksi Polimerasi Berantai (*Polymerase Chain Reaction*) 12
2.6. Elektroforesis 12
2.7. Identifikasi Gen 16S-rRNA 13
2.8. Analisis Filogenetik 14

BAB III. METODE PENELITIAN
3.1. Waktu dan Tempat 16
3.2. Alat dan Bahan 16

3.3. Cara Kerja 17
3.3.1 Pembuatan Media 17
3.3.2. Peremajaan Kultur Bakteri 18
3.3.3. Seleksi Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Lipase..... 18
3.3.4. Karakterisasi Morfologi 19
3.3.4.1. Pengamatan Makroskopis..... 19
3.3.4.2. Pengamatan Mikroskopis..... 19
3.3.5. Isolasi DNA Kromosom dari Bakteri Termofilik..... 20
3.3.6. Amplifikasi Fragmen 16S-rRNA dengan Metode PCR..... 20
3.3.7. Elektroforesis..... 21
3.3.8. Analisis Urutan Nukleotida dengan Sekuensing 21
3.3.9. Analisis Filogenetik..... 22
3.3.10.Penyajian Data..... 22

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1. Seleksi Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Lipase 23
4.2. Karakteristik Isolat Bakteri termofilik Penghasil Liase 25
4.3. Hasil Isolasi DNA..... 28
4.4. Amplifikasi Fragmen Gen 16S-rRNA 29
4.5. Analisis Filogenetik 31

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN
5.1. Kesimpulan 37
5.2. Saran 37

DAFTAR PUSTAKA 38
LAMPIRAN 42

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1. Hasil Seleksi Isolat Asal Semendo Penghasil Lipase 23

Tabel 4.2. Hasil Pengamatan makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Lipase..... 26

Tabel 4.3. Hasil Identifikasi Gen 16S-rRNA 32

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1. Kisaran Suhu Pertumbuhan Mikroba 6

Gambar 2.2. Reaksi Katalitik Lipase 9

Gambar 4.1. Aktivitas Lipolitik Isolat Bakteri Termofilik 24

Gambar 4.2 Indeks Lipolitik Bakteri Termofilik Penghasil Lipase 25

Gambar 4.3. Hasil Pengamatan Makroskopis Bakteri Termofilik Asal Semendo 27

Gambar 4.4. Hasil Pengamatan Mikroskopis Bakteri Termofilik Penghasil Lipase 28

Gambar 4.5. Elektroforegram DNA Kromosom Bakteri 29

Gambar 4.6. Elektroforegram Amplifikasi Gen 16S-rRNA.....30

Gambar 4.7. Filogenetik Isolat AA1, AA3 dan AB2 33

Gambar 4.8. Filogenetik Isolat LB1 34

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Komposisi Media 42

Lampiran 2. Gambar Bentuk Elevasi, Tepi dan Struktur Dalam Koloni Bakteri ... 44

Lampiran 3. Urutan Nukleotida Isolat Bakteri termofilik..... 45

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri termofilik merupakan kelompok bakteri yang tahan terhadap suhu tinggi, bakteri ini mampu tumbuh pada suhu 45 °C – 65 °C. Bakteri termofilik dapat dibedakan dari makhluk hidup yang lain karena secara kimia membran selnya berbeda. Selain itu, protein yang terdapat pada sel mikroorganisme termofilik memiliki ikatan hidrofobik dan ikatan ionik yang sangat kuat. Komposisi membran sel pada bakteri termofilik tersusun oleh asam lemak jenuh sehingga dapat bersifat stabil pada suhu tinggi (Pratita dan Putra 2012: 1).

Bakteri termofilik memiliki beberapa keistimewaan diantaranya enzim dan protein yang dihasilkan bersifat termostabil dan mampu berfungsi optimal pada suhu tinggi. Dengan sifat tahan panas dari bakteri termofilik sangat bermanfaat pada proses bioteknologi terutama dalam mengurangi resiko kontaminasi, meningkatkan kecepatan reaksi, dan menyediakan enzim termostabil (Linawati 2005: 1).

Dewasa ini industri enzim telah berkembang pesat dan menempati posisi penting dalam bidang industri. Kesadaran masyarakat terhadap masalah lingkungan yang semakin tinggi serta adanya tekanan dari para ahli dan pecinta lingkungan menjadikan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif untuk menggantikan berbagai proses kimiawi dalam bidang industri. Pada beberapa dekade terakhir, aplikasi enzim di bidang bioteknologi semakin menuntut adanya enzim-enzim yang tahan terhadap lingkungan terutama temperatur. Hal tersebut berkaitan dengan kebutuhan industri karena penggunaan enzim

termostabil dalam proses produksi pada suhu tinggi rnemberikan berbagai keuntungan (Rahayu *et al.*, 1999: 349).

Enzim yang dapat dihasilkan dari bakteri termofilik salah satunya adalah lipase. Enzim lipase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis rantai panjang trigliserida. Enzim ini memiliki potensi untuk digunakan dalam memproduksi asam lemak, yang merupakan prekursor berbagai industri. Aplikasi enzim lipase pada industri terutama adalah pada industri detergen, selain itu lipase juga banyak digunakan pada industri pangan (pengolahan susu, pembuatan keju dan mentega), farmasi, biosensor, bioremediasi dan juga kosmetik (Hasan *et al.,* 2005: 235)

Enzim lipase termostabil merupakan enzim yang sangat potensial untuk mengatasi kendala teknis industri, namun masih ditemukannya kendala lain dalam hal perolehan hasil (*yield*) enzim lipase termostabil dari mikroorganisme termofilik yang sangat rendah. Untuk mengatasi kendala itu beberapa pendekatan ditempuh sebagai berikut: pertama pencarian sumber baru enzim lipase termostabil dari mikroorganisme termofilik yang tumbuh dari habitat yang unik. Kedua, suhu fermentasi yang sesuai untuk menghasilkan lipase termostabil. Dan ketiga, rekayasa genetika untuk menghasilkan enzim lipase termostabil dengan ekspresi tinggi (Tika *et al.,* 2007: 109).

Pendekatan dengan mencari sumber-sumber enzim baru dari mikroorganisme termofilik yang diisolasi dari lingkungan unik merupakan langkah yang paling memungkinkan dilakukan untuk mendapatkan isolat-isolat lokal karena Indonesia memiliki banyak sumber air panas yang potensial dan unik (Tika *et al.*, 2007: 109-110). Penelitian mengenai pencarian bakteri termofilik dari sumber mata air panas yang ada di Sumatera Selatan belum banyak dilakukan. Pada penelitian sebelumnya yang telah

dilakukan oleh Febriyanti (2013) sudah didapatkan 6 isolat bakteri termofilik asal Semendo, namun isolat-isolat tersebut belum diketahui potensinya sebagai penghasil enzim lipase untuk itu pada penelitian ini perlu diketahui karakteristik dari keenam isolat tersebut.

Penentuan jenis bakteri dapat dilakukan baik secara fenotipik maupun genotipik (Biologi Molekuler). Pada tahun-tahun terakhir penggunaan teknologi Biologi Molekuler berdasarkan analisis urutan nukleotida gen 16S-rRNA telah digunakan untuk mengidentifikasi dan menganalisis filogeni bakteri. Teknologi biomolekul lebih efektif dan efisien daripada teknologi konvensional. Gen 16S-rRNA merupakan gen karakteristik yang dapat membedakan jenis-jenis bakteri, gen ini *conserve*, dan berada dalam jumlah yang banyak di dalam sel (Suprapti 2005: 2).

1.2. Rumusan Masalah

Semakin meningkatnya kebutuhan akan enzim lipase termostabil di bidang industri maka perlu dilakukan penelitian untuk menseleksi isolat-isolat bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Semendo, Sumatera Selatan. Isolat-isolat tersebut sudah diisolasi dari penelitian sebelumnya namun belum diketahui jenis serta potensinya sebagai penghasil enzim lipase.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis serta kekerabatan bakteri termofilik penghasil enzim lipase dari sumber air panas Semendo dengan menggunakan gen penyandi 16S-rRNA.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang jenis-jenis serta kekerabatan bakteri termofilik yang mampu menghasilkan enzim lipase dari sumber air panas Semendo, Kabupaten Muara Enim Provinsi Sumatera Selatan.

DAFTAR PUSTAKA

Adan, A. 2009. Isolation and Identification Of A Lipase Producing Psychrotrophic Bacteria From Soil: Cloning and Partial Characterization of Its Lipase. *Thesis.* Izmir Institute of Technology. 53 pages.

Albert, G.M., John, W.F., & Michael, P.S. 2002. *Microbial Physiology.* 4rd. John Wiley & Sons, Inc., Publication: Canada.

Aravindan, R, Anbumathi, P & Viruthagiri, T.V. 2006. Lipase Applications in Food Industry. *Indian Journal of Biotechnology.* 6: 141-158.

Aris, M. 2011. Identifikasi Patogenitas Bakteri dan Pemanfaatan Gen 16S-rRNA untuk Deteksi Penyakit Ice-Ice pada Budidaya Rumput Laut. *Skripsi.* Institut Pertanian Bogor.

Brock, T.D. 2004. *Nutrition and Growth of Bacteria. Textbook of Bacteriology.* Kenneth Todar University of Wisconsin. Madison Departement of Bacteriology.

Brock, T.D, & Madigan, T.M. 1991. *Biology of Microorganism.* Sixth Edition. Pretice hall. International, Inc.

Campbell, N.A., Jane, R. B & Mitchwell, L.G. 2002. *Biologi Edisi Kelima Jilid I.* Erlangga. Jakarta. Xxi+433 hlm.

Chis, L., Hriscu. M., Bica. T., Tosa. M., Nagy. G., Rona. G., Vertessy, B.G, & Irimie. 2013. Molecular Cloning and Characterization of Thermostable Esterase/Liase Produced by A Novel *Anoxybacillus flavithermus* Strain. *Journal. Gen. Appl. Microbiol.*, Vol. 59. 119-134.

Clarridge, J.E. 2004. Impact of 16S-rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bateria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Journal. Clinical Microbiology Reviews.* Vol. 17, No, 4.p 849-862.

Cappucino, J.G. & Sherman, N. 2008. *Microbiology a Laboratory Manual.* 8th Edition. The Benjamin Publish. New York. USA. 462 pages.

Desiliyarni, T. 1999. Analisis keragaman genetic Bakteri Termofilik dari Kawah Candradimuka, Pegunungan Dieng dengan teknik PCR-RFLP Gen 16s-rRNA. *Tesis.* Program Pascasarjana IPB. Bogor. 32 hlm.

Fatchiyah, E.L., Arumingtyas, S., Widyarti & Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis.* Erlangga. Jakarta. 191 hlm.

Fawzya, Y.N. 2002. Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Isolat bakteri Assal Ikan Hiu Atas (*Carcharhinus limbatus*). *Skripsi*. Program Pascasarjana. ITB. 52 hlm.

Frank, J.A., Reich, C.I, Sharma, S., Weisbaum, J.S., Wilson, B.A & Olsen, G.J. 2008. Critical Evaluation of Two Primers Commonly Used for Amplification of Bacterial 16S-rRNA Genes. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. Vol 74, No. 8. P. 2461-2470.

Febrianti, Citra. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Xilanase dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya. Inderalaya.

Hasan, F., Shah, A.A., & Hameed, A. 2005. Industrial Applications of Microbial Lipases. *Journal of Enzyme and MicrobialTechnology*. Vol 39. 235-251.

Inan, K., Canakci, S. & Belduz, A.O. 2010. Isolation and Characterization of Xilanolytic New Strains of *Anoxybacillus* from Some Hot Springs in Turkey. *Turk J Biol*. Vol 35. 529-542.

Indrajaya. 2003. Identifikasi Mikroorganisme Termofilik Isolat Kawah Wayang (Pengalengan) dengan Metode Ribotiping. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Institut Teknologi Bandung.

Jutono. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (Untuk Perguruan Tinggi)*. Fakultas Pertanian. UGM. Yogyakarta. 232 hlm.

Kurnia, D.R.D. 2010. Studi Aktivitas Enzim Lipase dari Aspergillus niger sebagai Biokatalis pada Proses Gliserolisis untuk Menghasilkan Monoasilgliserol. *Tesis*. Program Magister Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Semarang.

Lehninger, A.L. 1995. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. M.Thenawijaya (penerjemah). *Principles of Biochemistry*. 1982. Erlangga. Jakarta. 368 hlm.

Linawati, M.D. 2005. Identifikasi Fragmen Gen 16S rRNA pada Bakteri Termofilik Hasil Isolasi dari Sumber Air Panas Baturaden. *Skripsi*. Universitas Diponegoro. Semarang. 44 hlm.

Manurung, D.M. 2009. Komposisi Kimia, Asam Lemak dan Kolesterol Udang Ronggeng (*Harpiosquilla raphidea)*akibat Perebusan. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB: Bogor. 100 hlm.

Mirabella, F.M. 2011. Pendekatan Pohon dalam Filogenetik. *Makalah*. Program Studi Teknik Informatika. ITB. 7 hlm.

O'Leary. W. 1977. *Practical Handbook of Microbiology*. CRC Press LLC. United States of America. 683 pages.

Pangastuti, A. 2006. Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16S-rRNA dan gen Penyandi Protein. *Jurnal Biodiversitas*, Vol 7 No 3. 292-296.

Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S.. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Hadioetomo, R.S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo & S.L. Angka, 1986 (penerjemah). UI-Press. Jakarta. Viii+443 hlm.

Pertiwi, E. 1998. Mempelajari Spesifitas Esterifikasi Enzim Lipase Candida Antarika dalam Lingkungan Mikroakueus. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor. 50 hlm.

Pikuta, E., Cleland, D & Tang, J. 2003. Aerobic Growth of *Anoxybacillus pushchinoensis* $K1^T$: Emended Descriptions of *A. pushchinoensis* and The Genus *Anoxybacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol 53, 1561–1562.

Pratita, M.Y.E, & Putra, S.R. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik POMITS*. Vol. 1, No. 1. 1-5.

Prescott, L.M. 2005. *Microbiology 5th Edition*. USA: The McGrawth-Hill Companies. New York: 126-139.

Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. PT Bumi Aksara. Jakarta.

Qudsiyya, R.K. 2003. Mempelajari Spesifisitas Alkohol, Spesifisitas Posisi, dan Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Lipase Ekstraselulear dari Kapang *Mucor javanicus* M26 II/2. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor. 60 hlm.

Rahayu. S., Fredy, T., Maggy, T.S., Hwang, J.K & Pyun. Y.R. 1999. Eksplorasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Kitinase Asal Indonesia. *Jurnal Prosiding Seminar Hasil – Hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayat*. 349-356.

Saw, J.H., Mountain, B.W., Feng, L & Omelchenko, M.V. 2008. Encapsulated in Silica: Genome, Proteome and Physiology of The Thermophilic Bacterium *Anoxybacillus* WKI. *Journal Genome Biology*. Vol. 9, R 161. 16 pages.

Setyati, W.A, & Subagiyo. 2012. Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (Proteolitik, Amililitik, Lipolitik dan Selulolitik) yang Berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol. 17 (3) 164-168.

Sharma, R., Chisti, Y & Banerjee, U.C. 2001. Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipases. *Biotechnology Advances* 19: 627-662.

Slepecky, R,A & Hemphill, H.E. 2006. The Genus *Bacillus*-Nonmedical. *Journal Prokaryotes*. Vol. 4. 530-562.

Soeka, Y.S., Rahayu, S.R., Setianingrum, N & Naiola, E. 2011. Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam Memproduksi Enzim Protease yang bersifat Alkalin dan Termofilik. *Artikel*. Media Litbang Kesehatan Vol 21 No: 2

Sumarsih, S. 2003. Diktat Kuliah: *Mikrobiologi Dasar*. Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian UPN Veteran. Yogyakarta.

Suprapti, H.Y. 2005. Identifikasi Fragmen Gen 16S rRNA Bakteri Termofilik Hasil Isolasi dari Sumber Air Panas Gedong Songo. *Skripsi*. Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Diponegoro. 43 hlm.

Susanto, A.H., Amurwanto, A., Wahyono, D.J., & Azis, S. 2006. Amplifikasi Fragmen Pelacak Gen Lipase Bakteri Termofilik Yang Diisolasi Dari Kompos. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 9-13.

Tika, N., Redhana, W & Ristiati, N.. 2007. Isolasi Enzim Lipase termostabil dari Bakteri Termofilik Isolat Air Panas Banyuwedang Kecamatan Gerogak, Buleleng Bali. *Akta Kimindo* Vol. 2 No. 2 April 2007: 109 – 112.