

EKSPLORASI BAKTERI TERMOFILIK PASCA ERUPSI MERAPI SEBAGAI PENGHASIL ENZIM EKSTRASELULER

Anna Rakhmawati dan Evy Yulianti

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta
Jalan Colombo No. 1 Yogyakarta, 55281
Email: wannawijaya@yahoo.com

Abstrak

Penelitian mengenai bakteri termofilik pasca erupsi Merapi masih sangat terbatas padahal masih banyak potensi yang dapat diteliti, salah satunya mengenai enzim ekstraseluler yang dihasilkannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk isolasi, karakterisasi dan memperoleh isolat bakteri termofilik yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler. Isolasi bakteri termofilik dilakukan dengan menggunakan 2 (dua) metode yaitu *dilution* dan *enrichment* dengan media *Nutrient Broth* kemudian diinkubasi pada 55°C, dilanjutkan dengan seleksi pada suhu 70°C. Karakterisasi yang dilakukan, yaitu karakterisasi morfologi koloni. Setelah itu dilakukan skrining aktivitas enzim amilase, protease, dan selulase. Hasil penelitian menunjukkan bakteri termofilik pasca erupsi Merapi yang diisolasi dari sampel air dan pasir Kali Gendol Atas dengan suhu inkubasi 55°C diperoleh 480 isolat, setelah diseleksi pada suhu 70°C diperoleh 253 isolat. Karakter fenotipik isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi menunjukkan keanekaragaman morfologi koloni meliputi warna, bentuk, ukuran, tepi, dan elevasi koloni. Isolat bakteri termofilik yang menghasilkan enzim ekstraseluler amilase sebanyak 9 isolat, enzim protease sebanyak 4 isolat, dan 1 isolat penghasil enzim selulase pada suhu inkubasi 70°C

Kata kunci: bakteri, termofilik, enzim ekstraseluler

Abstract

Research on thermophilic bacteria from Mount Merapi post-eruption is still very limited. There is a lot of thermophilic bacteria potential that can be studied, such as extracellular enzymes producer. The purpose of this study was to isolate, characterize and obtain thermophilic bacterial capable of producing extracellular enzymes. Isolation of thermophilic bacteria have done by using two (2) methods: dilution and enrichment with Nutrient Broth then incubated at 55°C then the selection at 70°C. Characterization was conducted on colony morphology. After that, screening enzyme activity include amylase, protease, and cellulase. The results showed thermophilic bacteria isolated from water and sand Kali Gendol Atas Mount Merapi post-eruption with incubation at 55°C were obtained 480 isolates, while the selection at 70°C were obtained 253 isolates. Phenotypic characters of thermophilic bacterial isolates shows colony morphology diversity include color, shape, size, edge, and elevation of the colony. Thermophilic bacterial isolates produce extracellular enzymes amylase by 9 isolates, protease enzymes by 4 isolates, and 1 isolate producing cellulase enzyme at 70°C incubation temperature.

Keywords: bacteria, thermophilic, and extracellular enzyme

PENDAHULUAN

Aplikasi enzim di industri semakin menuntut enzim yang bersifat tahan lingkungan. Suhu merupakan faktor utama yang paling merusak enzim, maka usaha pertama yang akan dilakukan adalah mencari mikroba penghasil enzim-enzim termofilik dari berbagai sumber alam. Hal ini berkaitan dengan keuntungan yang akan diperoleh bila proses produksi dilakukan pada suhu tinggi, di antaranya adalah mengurangi kontaminasi, meningkatkan kecepatan transfer massa dan menurunkan viskositas larutan.

Kebutuhan dunia akan enzim-enzim alternatif yang mampu melakukan aktivitasnya pada kondisi ekstrim, salah satunya adalah enzim termostabil yang mampu bekerja pada suhu tinggi. Biokatalis jenis ini mampu memberi sumbangan besar baik untuk pengembangan ilmu dasar maupun bidang industri. Rahayu S. (1999) menyatakan pendekatan dengan mencari sumber enzim baru dari mikroorganisme termofilik yang diisolasi dari lingkungan spesifik merupakan langkah paling memungkinkan dilakukan, karena Indonesia memiliki banyak daerah dengan suhu tinggi, seperti daerah sumber air panas ataupun daerah di sekitar kawah pasca erupsi yang potensial dan unik. Aplikasi enzim termostabil lebih disukai di bidang industri mengingat keuntungan yang diperoleh jika proses produksi dilakukan

pada suhu tinggi. Enzim termostabil dihasilkan oleh bakteri termofilik karena lingkungan hidupnya yang ekstrem seperti daerah sumber air panas, daerah kawah gunung berapi, dan daerah ekstrem lain.

Salah satu sumber potensial enzim termostabil adalah bakteri termofilik yang berasal dari daerah sekitar Merapi yang terkena erupsi pada tahun 2010. Penelitian yang sudah dilakukan yaitu mengenai isolasi bakteri termofilik pasca erupsi Merapi tahun 2010 yang diaplikasikan untuk bidang pertanian, yaitu penelitian yang dilakukan oleh peneliti dari LIPI. Kegiatan penelitian oleh LIPI dititikberatkan pada mikroorganisme pelarut fosfat, penambat nitrogen, penghasil hormon tubuh, peningkatan resistensi terhadap penyakit, dan mikroba penghancur senyawa rekalsitran (Sugiana, 2011). Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan sumber daerah dengan suhu tinggi, namun eksplorasi terhadap bakteri termofilik masih sangat terbatas. Keterbatasan ini pada umumnya disebabkan karena kesulitan untuk mengkultivasi bakteri-bakteri dari lingkungan ekstrem di laboratorium. Informasi mengenai spesies-spesies bakteri yang menghuni suatu lingkungan hidup merupakan informasi penting bagi ilmu biodiversitas dan lebih lanjut akan lebih memudahkan proses isolasi bakteri karena menggunakan media yang sesuai bagi spesies yang dituju. Hasil

tersebut diharapkan mampu memberikan sumbangan informasi yang cukup luas dalam bidang biodiversitas mikroba Indonesia serta membuka peluang bagi eksplorasi enzim-enzim termostabil berikutnya. Selain itu melalui kegiatan penelitian kolaboratif juga diharapkan mampu meningkatnya percepatan riset nasional yang tinggi untuk memacu kegiatan penelitian ilmu-ilmu dasar dan lebih lanjut kepada arah produksi enzim berskala industri.

Penelitian ini bertujuan untuk: 1) Mengeksplorasi keanekaragaman bakteri termofilik pasca erupsi Merapi; 2) Mengetahui karakter fenotip isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi; dan 3) Memperoleh isolat bakteri termofilik yang menghasilkan enzim ekstraseluler amilase, protease, dan selulase.

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel (air dan pasir) dari daerah Gunung Merapi (Kali Gendol Atas) diambil dengan menggunakan teknik *purposive random sampling*. Sampel ini disimpan di dalam termos untuk menjaga suhu tetap konstan. Suhu sampel adalah antara 50° - 60°C dengan pH 4-7.

Isolasi bakteri termofilik dilakukan baik dengan metode *dilution plate* dan metode *enrichment* (Holt and Krieg, 1994: 197-200). Isolat murni yang diperoleh

kemudian dilakukan karakterisasi koloni meliputi warna; bentuk; ukuran; tepi; elevasi. Isolat ditumbuhkan pada *Nutrient Agar (NA)* plates dan diinkubasi selama 1-3 hari pada 70°C. Pertumbuhan diamati secara periodik.

Skrining aktivitas enzim ekstraseluler dilakukan secara kualitatif, meliputi skrining untuk aktivitas protease menggunakan media skim milk 0,1%; aktivitas amilase menggunakan media *Starch Agar (SA)* 0,5%; dan aktivitas selulase dengan media Mandels-CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) 0,5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri

Penelitian diawali dengan kegiatan survey lokasi di sekitar kawasan Gunung Merapi. Hasil survey tanggal 18 Mei 2011 menunjukkan daerah yang masih bersuhu tinggi (kisaran lebih dari 50°C) yaitu Kali Gendol Atas, sedangkan suhu daerah lain pasca erupsi Merapi sudah normal kembali (kisaran 20-30°C). Kemudian dilakukan tahap pengambilan sampel yang telah dilaksanakan pada hari Sabtu, 21 Mei 2011 pada jam 10.00-12.00 WIB. Sampel diperoleh dari Kali Gendol Atas kawasan Gunung Merapi berupa 9 sampel pasir dan 3 sampel air. Pengambilan sampel dibedakan daerah atas, tengah, dan bawah berdasarkan letak dari sumber mata air Kali Gendol Atas.

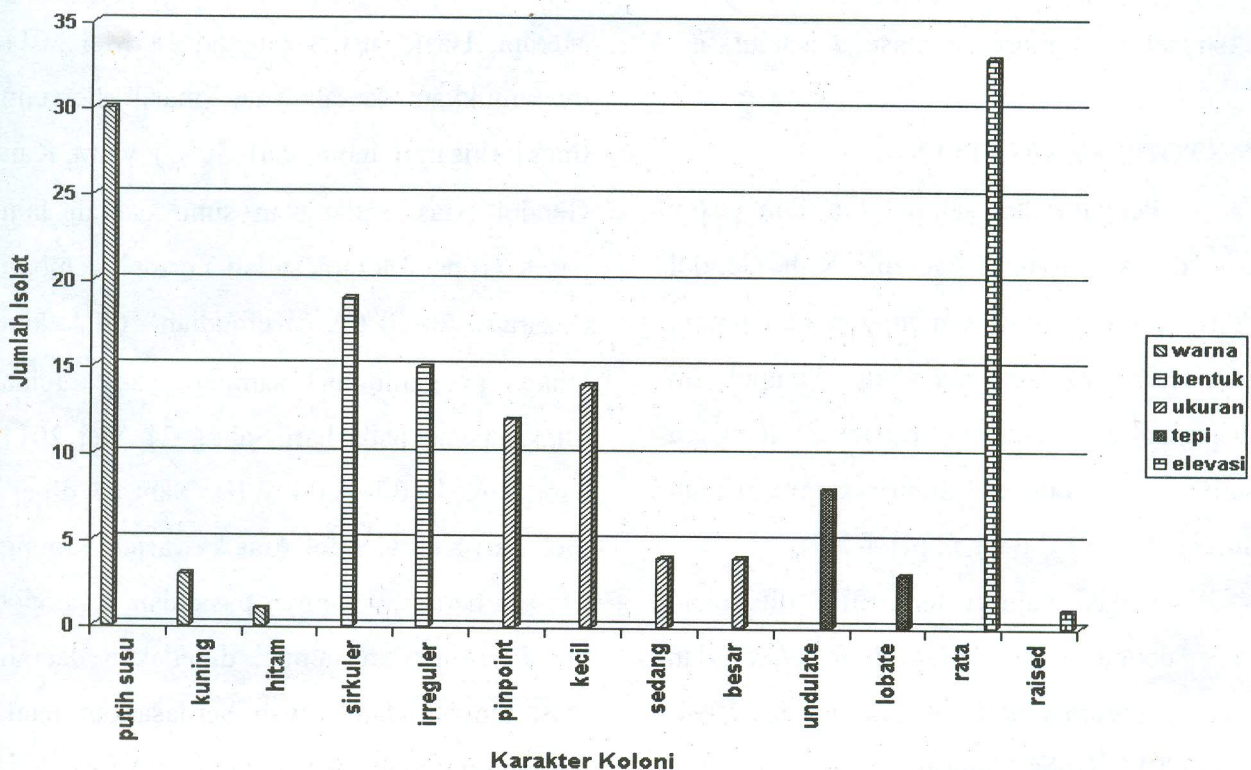
Pada saat pengambilan sampel dilakukan pengukuran data abiotik meliputi pH dan suhu. Pasir memiliki pH 4,2-5,4, lebih rendah dibandingkan pH air (6,2-7,2), sedangkan sampel air 42-47 °C lebih tinggi dibandingkan pasir (54-60)°C.

Isolasi bakteri dari sampel dilakukan dengan 2 (dua) metode yaitu *dilution* dan *enrichment*. Inkubasi dilakukan pada suhu 55°C. Pengamatan pertumbuhan bakteri setelah 48, 72, dan 96 jam. Hasil reisolasi koloni yang tumbuh pada media *NA plate* suhu inkubasi 55°C diperoleh 98 isolat, setelah diseleksi pada suhu 70°C diperoleh 34 isolat. Isolat yang telah dimurnikan kemudian diberi kode isolat D dengan isolasi

metode *dilution* sedangkan dengan isolasi metode *enrichment* diberi kode E.

Metode lain isolasi yaitu dengan metode *enrichment* diperoleh 382 isolat dari sampel air dan pasir yang mampu tumbuh pada suhu inkubasi 55°C. Setelah diseleksi diperoleh 219 isolat yang mampu tumbuh dengan suhu inkubasi 70°C. Isolat yang diperoleh dengan metode *enrichment* jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan metode *dilution*.

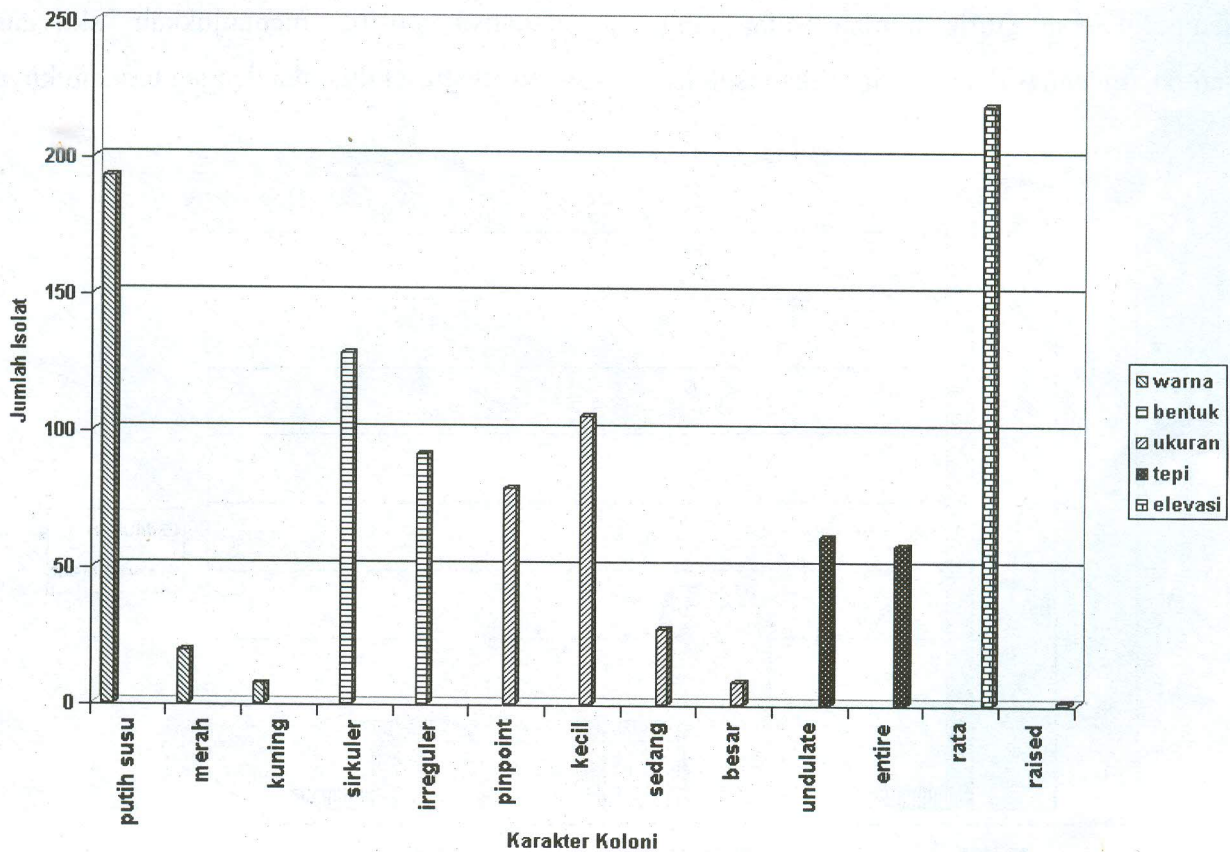
Karakterisasi fenotipik yang dilakukan yaitu pengamatan karakter morfologi koloni meliputi warna, bentuk, ukuran, tepi, dan elevasi koloni. Gambar 1 memperlihatkan keanekaragaman karakter koloni bakteri



Gambar 1. Grafik Karakter Koloni Isolat Hasil Isolasi dengan Metode Dilution

termofil yang mampu tumbuh pada inkubasi 70°C selama 72 jam. Warna koloni didominasi oleh warna putih susu (30 isolat), sedangkan warna kuning (3 isolat), dan warna hitam (1 isolat). Bentuk koloni ditemukan ada 2 yaitu sirkuler (19 isolat) dan irreguler (15 isolat). Ukuran koloni bervariasi dari *pinpoint* (12 isolat), kecil (14 isolat), sedang (4 isolat), dan besar (4 isolat). Tepi koloni didominasi *entire* (23 isolat), sedangkan *undulate* (8 isolat) dan *lobate* (3 isolat). Elevasi rata (*flat*) mendominasi sebanyak isolat 33 isolat sedangkan *raised* hanya 1 isolat.

Gambar 2 memperlihatkan keanekaragaman karakter koloni bakteri termofil hasil isolasi dengan metode *enrichment* yang mampu tumbuh pada inkubasi suhu 70°C selama 72 jam. Warna koloni didominasi oleh warna putih susu (193 isolat) sedangkan warna merah (19 isolat) dan warna kuning (7 isolat). Bentuk koloni sirkuler (128 isolat) lebih banyak dari irreguler (91 isolat). Ukuran koloni bervariasi dari *pinpoint* (79 isolat), kecil (105 isolat), sedang (27 isolat), dan besar (8 isolat). Tepi koloni didominasi *entire* (158 isolat), sedangkan *undulate* (61 isolat). Elevasi rata (*flat*) mendominasi



Gambar 2. Grafik Karakter Koloni Isolat Hasil Isolasi dengan Metode *Enrichment*

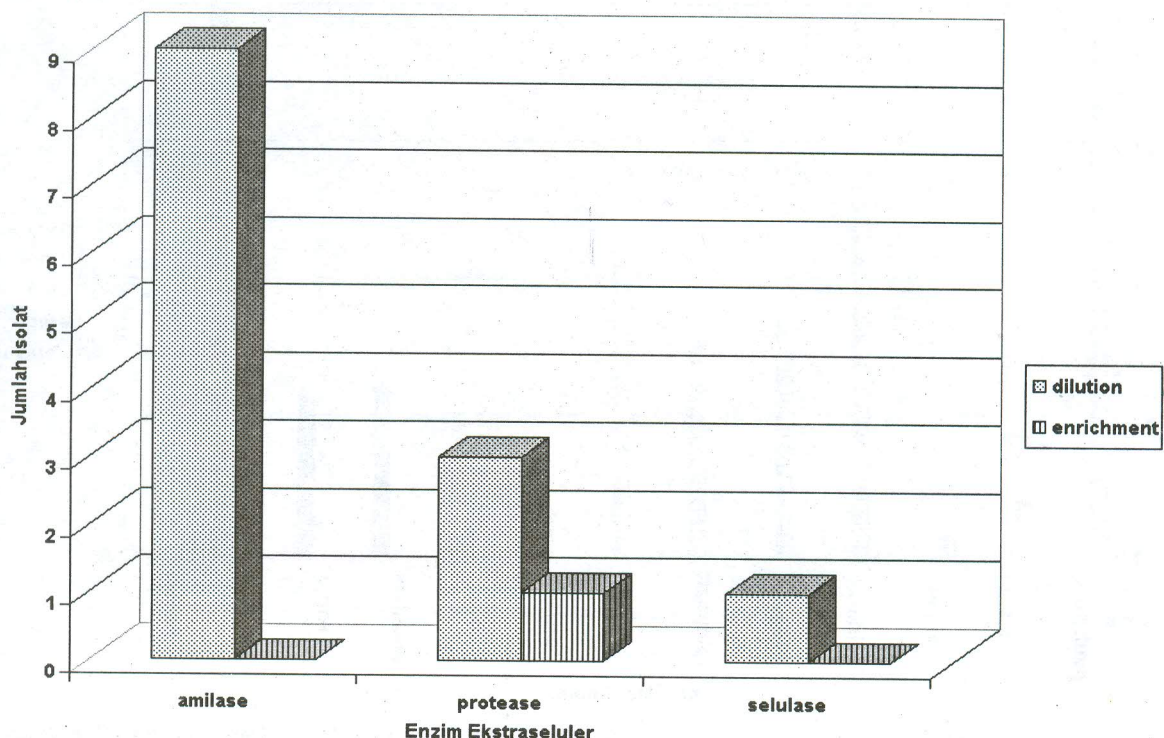
sebanyak isolat 219 isolat sedangkan *raised* hanya 1 isolat.

Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler

Kemampuan memproduksi enzim ekstraseluler dilakukan uji terhadap 253 isolat yang mampu tumbuh pada suhu 70°C. Enzim ekstraseluler yang diuji yaitu enzim amilase, protease, dan selulase. Pengujian aktivitas enzim amilase dilakukan dengan media *Starch Agar*, enzim protease dengan media *skim milk*, dan enzim selulase menggunakan media *Mandels-CMC*. Hasil pengujian menunjukkan tidak semua isolat memproduksi ke-3 enzim tersebut. Gambar 3 memperlihatkan grafik jumlah isolat yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler

amilase, protease, dan selulase. Isolat yang berpotensi memproduksi enzim amilase sebanyak 9 isolat yaitu isolat D2, D91, D92, D93, D113, D132, D134, D138, dan D140. Isolat yang memproduksi enzim protease sebanyak 4 isolat yaitu D90, D91, D93, dan E371. Sedangkan satu isolat yaitu D2 memperlihatkan kemampuan memproduksi enzim selulase. Isolat yang menunjukkan aktivitas enzim ekstraseluler didominasi dari hasil isolasi dengan metode *dilution* (kode isolat D) sebanyak 10 isolat sedangkan dari metode *enrichment* (kode isolat E) hanya 1 isolat.

Isolat-isolat yang diperoleh tidak semuanya positif menunjukkan aktivitas enzim ekstrasel ditandai dengan terbentuknya



Gambar 3. Grafik Jumlah Isolat yang Menunjukkan Aktivitas Enzim Ekstraseluler

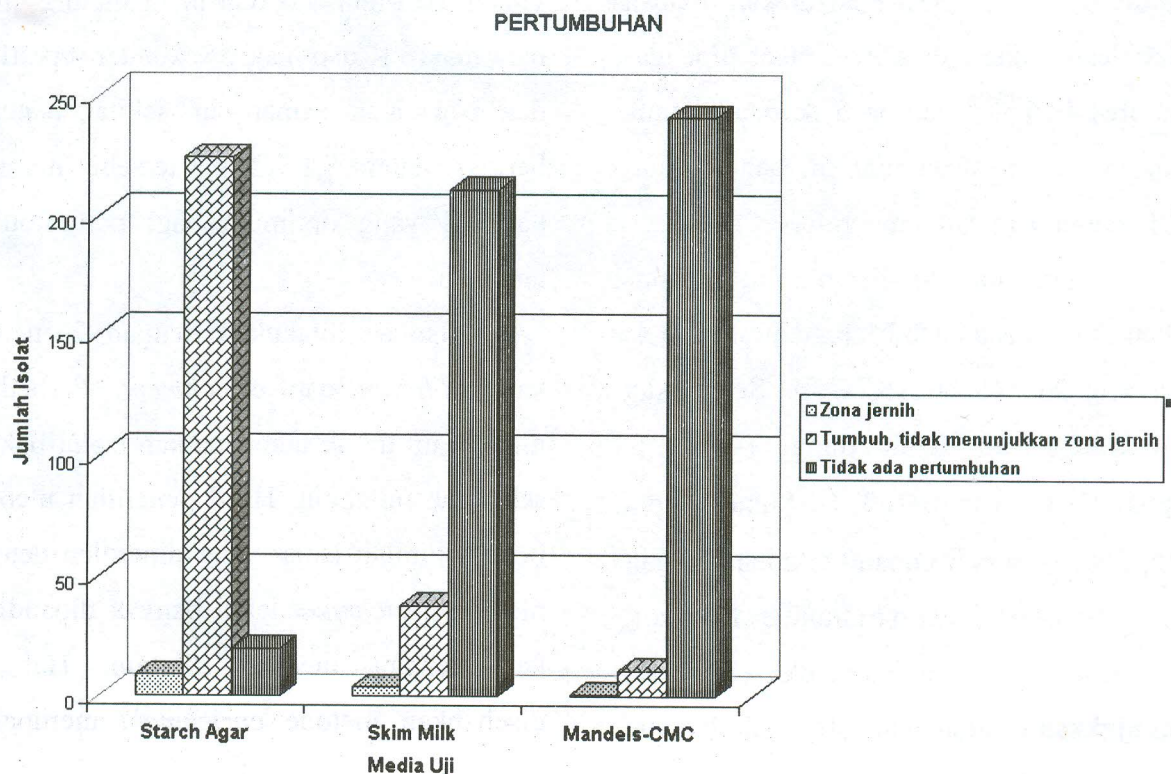
zona jernih pada medium uji *Starch Agar*, *skim milk*, dan *mandels-CMC*. Tetapi beberapa isolat menunjukkan pertumbuhan pada medium uji.

Gambar 4 memperlihatkan isolat yang mampu tumbuh dan menunjukkan aktivitas enzimatik terbanyak pada media uji *Starch Agar*, kemudian media *skim milk* dan yang tumbuh paling sedikit pada media uji *Mandels-CMC*. Hal ini mengindikasikan isolat yang menghasilkan enzim amilase lebih banyak dibandingkan enzim protease dan selulase. Uji aktivitas enzim ekstraseluler amilase, protease, dan selulase ditandai dengan adanya nisbah zona jernih/koloni yang ditunjukkan Gambar 5. Isolat sebanyak

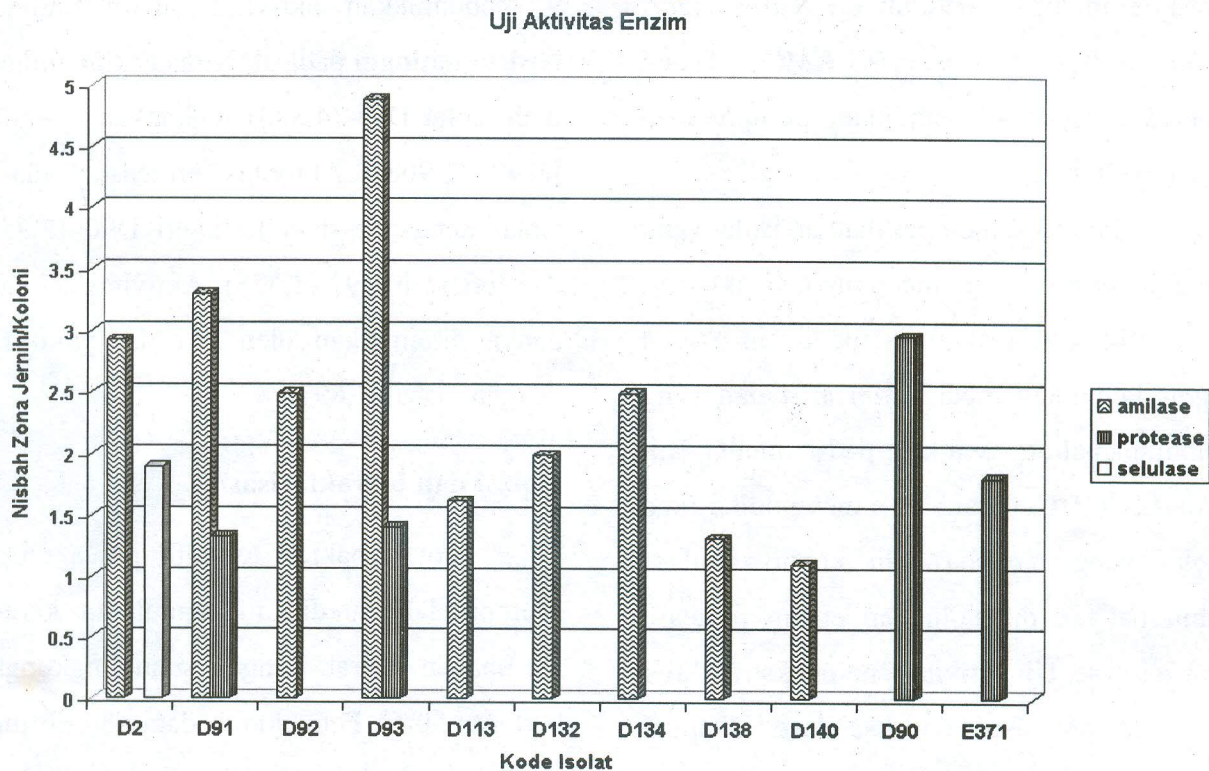
9 menunjukkan aktivitas enzim amilase. Nisbah tertinggi pada aktivitas enzim amilase oleh isolat D93 (4,883) sedangkan terendah D140 (1,908). Aktivitas protease pada 3 isolat dengan nisbah tertinggi D90 (2,952) dan terendah D91 (1,328). Aktivitas selulase hanya ditunjukkan oleh 1 isolat yaitu D2 dengan nisbah 1,897.

Isolasi dan Karakterisasi

Isolasi bakteri termofil pasca erupsi Merapi dilakukan di Kali Gendol Atas karena merupakan daerah dengan suhu lingkungan berkisar 50°C. Pengukuran data abiotik juga dilakukan untuk mengetahui karakter habitat awal bakteri tersebut. Gorch-Lira dan



Gambar 4. Grafik Pertumbuhan Isolat pada Media Uji



Gambar 5. Grafik Nisbah Zona Jernih/Koloni

Coutinho (2007: 135) menyatakan bahwa keberadaan bakteri di alam sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor fisik dan khemis termasuk ketersediaan nutrien, bahan organik, kelembaban, dan temperatur.

Pengukuran kondisi abiotik menunjukkan pH pasir lebih rendah (4,2-5,4) dibandingkan pH air (6,2-7,2). Sedangkan suhu sampel air lebih tinggi (42-47)^oC dibandingkan pasir (54-60)^oC. Suhu sampel memperlihatkan penurunan berkaitan dengan semakin jauh letaknya dari sumber mata air. Hasil penelitian Suriadikarta dkk (2011: 1) menunjukkan hasil analisis pH tanah dan abu

volkan rata-rata > 5 dan mengandung unsur hara makro K dan makro sekunder seperti Ca dan Mg. Kemasaman air sekitar bencana berkisar antara 5,1-7,3; pH tersebut merupakan pH yang optimum bagi pertumbuhan tanaman.

Isolasi dilakukan dengan 2 metode yaitu *dilution* dan *enrichment*. Perbedaan metode ini untuk mendapatkan isolat bakteri sebanyak mungkin. Hasil penelitian menunjukkan jumlah isolat yang diperoleh dengan metode *enrichment* lebih banyak dibandingkan dengan metode *dilution*. Hal ini disebabkan metode *enrichment* merupakan

metode pengkayaan yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang dikehendaki. Media untuk isolasi yaitu *Nutrien Broth* yang dibuat menggunakan air dari Kali Gendol Atas kemudian dishaker dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 55°C. Pembuatan media untuk *enrichment* menggunakan air langsung dari Kali Gendol Atas dengan tujuan memperkaya kandungan senyawa yang terdapat di dalamnya. Hasil penelitian Suriadikarta (2011: 1) menunjukkan terjadi penurunan keragaman dan populasi mikroba tanah terutama pada tanah lapisan atas, sedangkan keragaman dan populasi mikroba pada tanah lapisan bawah tidak terpengaruh.

Tahap selanjutnya yaitu *skrining* isolat bakteri pada suhu inkubasi untuk mendapatkan isolat bakteri termofil yang mampu tumbuh pada suhu 70°C. Jumlah isolat yang mampu tumbuh pada suhu 70°C lebih sedikit dibandingkan dengan suhu 55°C. Hal ini disebabkan tidak semua bakteri mampu beradaptasi dan hidup pada suhu lebih tinggi dari keadaan normalnya. Kisaran suhu pada habitat awalnya yaitu 42-60°C. Kemampuan tumbuh pada suhu lebih tinggi perlu didukung faktor morfologis dan fisiologis isolat bakteri. Gorlach-Lira & Coutinho (2007: 140) menyatakan populasi lokal bakteri diseleksi oleh kapasitas fisik

seperti suhu dan kekeringan dengan adanya karakteristik morfologi dan fisiologis seperti produksi enzim tertentu yang merupakan salah satu faktor penting di lingkungan ketika ketersediaan nutrisi terbatas.

Pengambilan sampel dilakukan pada air dan pasir dengan kedalaman ± 20 cm yang masih memungkinkan terjadinya aerasi. Hal ini mempengaruhi keberadaan bakteri yang berhasil diisolasi. Semua isolat bakteri tumbuh pada permukaan media *NA plate* yang merupakan indikasi awal bakteri bersifat aerob.

Tahap selanjutnya yang dilakukan adalah karakterisasi isolat bakteri. Karakterisasi merupakan tahap awal untuk identifikasi. Karakter fenotipik isolat bakteri yang mudah diamati adalah morfologi koloni. Hasil pengamatan morfologi koloni pada media *NA plate* menunjukkan perbedaan bentuk, warna, ukuran, tepi, dan elevasi koloni isolat bakteri. Perbedaan *cultural characteristic* ini merupakan salah satu indikator awal keanekaragaman bakteri termofil yang berhasil diisolasi. Walaupun untuk penentuan sampai tingkat spesies masih perlu dilakukan tahap uji fisiologis dan molekuler.

Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler

Jumlah isolat bakteri termofil yang menunjukkan uji aktivitas enzim ekstraselu-

ler positif baik untuk amilase, protease, maupun selulase masih sedikit. Salah satu faktor yang berpengaruh adalah suhu yang mencapai 70°C. Produksi dan aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh suhu. Lealem dan Gashe (1994) dalam Ashraf *et al* (2005: 65) melaporkan suhu 50°C merupakan suhu terbaik untuk produksi amilase termotabil, sedangkan suhu 65°C merupakan suhu maksimum aktivitas enzim amilase kasar. Pada suhu 70°C, amilase akan kehilangan 50% aktivitasnya. Girinda (1993) dalam Meryandini (2009: 34) menyatakan ketika suhu bertambah sampai suhu optimum, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi, dan rotasi baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi. Ketika suhu lebih tinggi dari suhu optimum, protein berubah konformasi sehingga gugus reaktif terhambat. Perubahan konformasi ini dapat menyebabkan enzim terdenaturasi. Substrat juga dapat berubah konformasinya pada suhu yang tidak sesuai, sehingga substrat tidak dapat masuk ke dalam sisi aktif enzim.

Beberapa isolat mampu menghasilkan enzim ekstraseluler ketika ditumbuhkan pada media uji *Starch Agar*, *Skim Milk*, dan

Mandels-CMC. Hal ini dikarenakan enzim amilase, protease, dan selulase merupakan *inducible enzim* yang akan diproduksi ketika terdapat amilum (*starch*), protein (kasein dalam *skim milk*), dan selulosa (*CMC/Carboxy Methyl Cellulosa*) dalam substrat. Alamri (2010: 544) menyatakan induksi α -amilase membutuhkan substrat yang memiliki ikatan α -1,4 glukosida termasuk *starch* dan maltosa.

Uji aktivitas enzim selulase hanya mendapatkan 1 isolat yang positif menghasilkan zona jernih. Kazue *et al* (2006) dalam Ibrahim & El-Diwany (2007: 477) isolat bakteri dari sumber air panas yang mampu memproduksi selulase jumlahnya sedikit. Hal ini berkaitan dengan kandungan bahan organik dalam sampel dan pentingnya tahap *enrichment* untuk isolasi enzim penghidrolisis polisakarida.

Faktor lain yang mempengaruhi kecepatan biodegradasi selulosa dipengaruhi oleh faktor lingkungan yaitu: jumlah nitrogen tersedia, suhu, aerasi, pH, sumber karbohidrat lain, dan kandungan lignin pada residu (Kabirun, 1990: 2)

Kemampuan tumbuh pada media *Mandels-CMC* merupakan indikasi awal bahwa isolat bakteri tersebut dapat menggunakan selulosa. Akan tetapi belum sampai

terbentuk zona jernih karena proses degradasi belum sampai tahap glukosa. Enzim selulase merupakan sistem enzim yang terdiri dari beberapa enzim berbeda.

KESIMPULAN

Bakteri termofilik pasca erupsi Merapi yang berhasil diisolasi dari sampel air dan pasir Kali Gendol Atas dengan suhu inkubasi 55°C sebanyak 480 isolat, dan setelah diseleksi pada suhu 70°C diperoleh 253 isolat. Karakter fenotipik isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi menunjukkan keanekaragaman morfologi meliputi warna, bentuk, ukuran, tepi, dan elevasi koloni. Isolat bakteri termofilik yang menghasilkan enzim ekstraseluler amilase sebanyak 9 isolat, enzim protease sebanyak 4 isolat, dan 1 isolat penghasil enzim selulase pada suhu inkubasi 70°C.

Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai kemampuan isolat bakteri termofil dalam menghasilkan enzim-enzim lain. Optimalisasi produksi enzim dan pengaruh faktor-faktor lain dalam produksi enzim amilase, protease, dan selulase. Karakterisasi fenotipik dan genotipik bakteri yang berhasil diisolasi sehingga dapat diketahui nama spesies dan hubungan kekerabatannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamri, S.A. (2010). Isolation, phylogeny and characterization of new α -amylase producing thermophilic bacillus sp. From the Jazan Region, Saudi Arabia. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry* Volume 6 Number 4 (2010) pp. 537–547.
- Ashraf, H., K. Rana, H. Zainab, and I. Ulhaq. (2005). Production of alpha amilase by a thermophilic strain bacillus licheniformis. *Journal of Food Technology* 3(1): 64-67
- Gorlach-Lira, K. and Coutinho, H.D.M. (2007). Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi-arid soil of northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* (2007) 38:135-141
- Holt, J.G. and Krieg, N.R. (1994). *Enrichment and isolation in methods for general and molecular bacteriology*. edited by P. Gerhardt (ASM Publications).
- Ibrahim A.S.S and Al Dewany. (2007). Isolation and identification of new cellulases producing thermophilic bacteria from an egyptian hot spring and some properties of the crude enzyme. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(4): 473-478.
- Sugiana, I.M. (2011). Mikroba untuk pemulihan pertanian Merapi. *Kompas*. 11 Februari 2011.
- Kabirun. (1990). *Biodegradasi limbah berse-lulosa: kursus singkat ekologi mikrobial*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM.

Meryandini, A., Wahyu W., Besty M., Titi C.S., Nisa, R., dan Hasrul, S. (2009). Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains*. VOL. 13, NO. 1: 33-38.

Rahayu, S. (1999). Eksplorasi bakteri termofilik penghasil enzim kitinase asal Indonesia. *Prosiding Seminar Hasil-hasil*

Penelitian Bidang Ilmu Hayat. Bogor: IPB. p. 349 – 356.

Suriadikarta, D.A., Abdullah Abbas Id., Sutono, Erfandi, D., Santoso, E., dan Kasno A. (2011). *Identifikasi sifat kimia abu volkan, tanah dan air di lokasi dampak letusan Gunung Merapi*. Balai Penelitian Tanah, Bogor.