

## **AKTIVITAS ENZIM HIDROLASE PADA PENAPISAN ISOLAT ACTINOMYCETES KANDIDAT PROBIOTIK UDANG**

### **HYDROLASE ENZYMES ACTIVITY ON SHRIMP PROBIOTIC CANDIDATE ACTINOMYCETES SCREENING**

**Sumardi<sup>1)</sup>, Vanya Qatrunada<sup>2)</sup>, Christina Nugroho Ekowati<sup>3)</sup>, Salman Farisi<sup>4)</sup>, Achmad Arifiyanto<sup>5)</sup>**

<sup>1), 2), 3), 4), 5)</sup>Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung,  
sumardi\_bio@yahoo.co.id

diterima : 30 November 2020; dipublikasi : 31 Maret 2021

DOI: 10.32528/bioma.v6i1.3548

#### **ABSTRAK**

*Actinomyces* merupakan salah satu mikroorganisme yang menghasilkan enzim hidrolase seperti selulase, amilase, protease, dan manannase. Produsen enzim hidrolase dapat dijadikan kandidat probiotik diantaranya udang. Penelitian ini dilakukan untuk menapis kandidat probiotik dari bakteri *Actinomyces* yang toleran salinitas dan mempunyai aktivitas enzim hidrolase. Aktivitas enzim hidrolase diuji secara kualitatif menggunakan variasi pH 4, 7, dan 9.8. Hasil pengujian menunjukkan nilai indeks enzimatis selulase terbesar berasal dari isolat AF2 pada media dengan pH 9 yaitu 3,5. Isolat bakteri RH1 pada pH 7 memiliki aktivitas enzim amilase dengan nilai indeks enzimatis terbesar yaitu 3.66. Nilai indeks enzim protease (pH 7 sebesar 0.66) dan mannanase (sebesar 0.85 pada pH 4) terbesar diraih oleh isolat AF2. Pada pengujian pengaruh salinitas isolat uji mampu tumbuh pada variasi konsentrasi NaCl 0, 3, dan 6 %. Isolat AF2 dan AN berpotensi sebagai kandidat probiotik karena toleran salinitas 6% dan memiliki kemampuan enzim hidrolase.

**Kata Kunci :** *Actinomyces*, Selulase, Amilase, Protease, Manannase, Salinitas.

#### **ABSTRACT**

*Actinomyces* were a microorganism that produced hydrolase enzymes such as cellulases, amylases, proteases, and mannases. Hydrolase enzyme producers can be used as probiotic candidates, including shrimp farming. This research was conducted to screen probiotic candidates from salinity tolerant *Actinomyces* bacteria and hydrolase enzyme activity. The hydrolase enzyme activity was tested qualitatively using variations in pH 4, 7, and 9.8. The test results obtained the largest cellulase enzymatic index value by AF2 isolates at pH 9, namely 3.5. RH1 bacterial isolate at pH 7 had amylase enzyme activity with the largest enzymatic index value of 3.66. The highest value of protease enzyme index (pH 7 at 0.66) and mannanase (0.85 at pH 4) was achieved by AF2 isolates. In testing the effect of salinity, the test isolates were able to grow at various concentrations of NaCl 0, 3, and 6%. AF2 and AN isolates were potential candidates for probiotics because they were tolerant of 6% salinity and had the ability of hydrolase enzymes.

**Keywords :** *Actinomyces*, Cellulolytic, Amylolytic, Proteolytic, Mananalytic, Salinity

## PENDAHULUAN

Salah satu cara mengatasi peningkatan permintaan produksi udang perlu dilakukan penerapan teknologi budidaya intensif dengan pemberian probiotik. Pakan mengandung probiotik membantu pencernaan di usus besar pada udang, serta dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga mampu mendorong produktivitas udang (Chau et al., 2011). Salah satu mikroorganisme yang dapat dijadikan probiotik yaitu *Actinomycetes* (Norouzi et al., 2018).

*Actinomycetes* merupakan bakteri Gram positif, aerob dan memiliki bentuk sel berfilamen yang banyak dijumpai di tanah. Menurut (Saini et al., 2015) *Actinomycetes* mampu menghasilkan eksoenzim yaitu enzim hidrolase dapat berperan dalam membantu pencernaan pada udang (Mazón-Suástegui et al., 2020), sehingga dapat dijadikan sebagai probiotik dalam budidaya akuakultur. *Actinomycetes* juga mampu menghasilkan senyawa antimikroba dan dapat memproduksi enzim hidrolase yang bermanfaat dalam menghambat infeksi bakteri patogen pada budidaya udang (Berna et al., 2015). Salah satu spesies *Actinomycetes* yang berpotensi dijadikan sebagai probiotik yaitu *Streptomyces* sp. Spesies ini diketahui mampu menghambat infeksi bakteri patogen (Arifiyanto et al., 2020) dan memiliki kemampuan sebagai antivirus (Lakshmi et al., 2013).

Menurut Chau (2011) *Streptomyces* sp. A1 berpotensi sebagai probiotik dalam budidaya udang karena memiliki beberapa keuntungan yaitu (1) sebagai agen yang memproduksi antibakteri dan antivirus, (2) pendegradasi kompleks seperti pati, protein, lignoselulosa, hemiselulosa, pektin, keratin dan kitin yang berperan dalam mineralisasi dan siklus nutrisi di tambak, serta pencernaan pakan udang pada usus besar di inangnya, (3) kebanyakan tidak bersifat patogen, (4) dan memiliki spora yang mampu bertahan hidup dalam kondisi ekstrem.

Syarat mikroorganisme dapat dijadikan probiotik yaitu mampu bertahan pada kondisi asam dan basa, memiliki protektif pada inangnya (Binda et al., 2020) dan mampu bertahan pada kondisi lingkungan ekstrem. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh kandidat isolat probiotik dari bakteri *Actinomycetes* melalui penapisan produktivitas enzim selulase, amilase, protease dan manannase yang tahan terhadap salinitas pada pH asam dan basa.

## METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Isolat *Actinomycetes* yang digunakan merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Lampung. Isolat AN merupakan isolat yang berasal dari tanah tambak daerah Pesawaran Bandar Lampung, isolat AF2 merupakan isolat yang berasal dari rhizofeora yang berada di daerah Sidoarjo Jawa Timur dan isolat RH1 merupakan isolat dari tanah mangrove BBPBL daerah Pesawaran Bandar Lampung.

### Pembuatan Media

Bakteri ditumbuhkan menggunakan media *Sea Water Complete* (SWC) agar. Komposisi media SWC terdiri atas: 5 g *bacto peptone* (Sigma- Aldrich), 1 g *Yeast extract* (Oxoid™), 3 g D(+)-*Glucose anhydrous* (Merck Millipore). Media dilarutkan pada campuran air laut dan akuades dengan perbandingan 3:1. Setelah homogen media disterilkan dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm.

### Uji Pengaruh Salinitas

Kemampuan bakteri dalam menoleransi kadar garam diuji menggunakan metode Kears et al., (2019). Isolat murni ditumbuhkan pada media SWC Agar dengan penambahan NaCl dengan konsentrasi 0%, 3%, dan 6%. Respon pertumbuhan koloni bakteri terhadap salinitas diamati setelah 4 x 24 jam. Uji ketahanan bakteri terhadap pemberian variasi salinitas dihitung dengan pemberian skor (Arisandi et al., 2017). Bakteri dianggap tumbuh sedikit apabila mencapai < 30 % koloni bakteri menutupi media. Pertumbuhan bakteri dianggap baik jika > 30 % koloni bakteri menutupi media.

### Uji Aktivitas Enzim Selulase.

Aktivitas enzim selulase diuji secara kualitatif pada media agar (Agustina et al., 2019). Media SWC Agar ditambahkan CMC 1 % dengan pengaturan pH 4.7 dan 9.8. Isolat murni berumur 4 hari diinokulasi dengan metode titik pada media SWC Agar. Kultur diinkubasi pada suhu 30 °C selama 3 - 5 hari. Determinasi kualitatif aktivitas enzim selulase diperoleh dengan meneteskan 1 tetes *congo red* 0.1 % pada koloni bakteri. Fiksasi dilakukan hingga 15 menit dan dibilas menggunakan larutan NaCl 2 M. Zona bening diamati dan dihitung nilai indeks enzimatisnya.

### Uji Aktivitas Enzim Amilase

Aktivitas enzim amilase diuji secara kualitatif pada media agar (Rosa et al., 2020). Media SWC Agar ditambahkan pati 1 % dengan pengaturan pH 4.7 dan 9.8. Isolat murni berumur 4 hari diinokulasi dengan metode titik pada media SWC Agar. Kultur diinkubasi pada suhu 30 °C selama 3 - 5 hari. Setelah masa inkubasi, disiram dengan larutan lugol selama 15 menit dan dibilas menggunakan larutan NaCl 2 M. Zona bening diamati dan dihitung nilai indeks enzimatisnya.

### Uji Aktivitas Enzim Protease

Aktivitas enzim amilase diuji secara kualitatif pada media agar (Sumardi et al., 2018). Media SWC Agar ditambahkan susu skim 1 % dengan pengaturan pH 4.7 dan 9.8. Isolat murni berumur 4 hari diinokulasi dengan metode titik pada media SWC Agar. Kultur diinkubasi pada suhu 30 °C selama 3 - 5 hari. Zona bening diamati dan dihitung nilai indeks enzimatisnya.

### Uji Aktivitas Enzim Manannase

Aktivitas enzim amilase diuji secara kualitatif pada media agar (Sumardi et al., 2020). Media SWC Agar ditambahkan *Locus Bean Gum* (LBG) 0.5 % dengan pengaturan pH 4.7 dan 9.8. Isolat murni berumur 4 hari diinokulasi dengan metode titik pada media SWC Agar. Kultur diinkubasi pada suhu 30 °C selama 3 - 5 hari. Setelah masa inkubasi, kultur disiram dengan *congo red* 0.1 % dan difiksasi selama 15 menit. Zona bening diamati dan dihitung nilai indeks enzimatisnya.

### Perhitungan Luas Koloni

Luas setiap koloni dan luas zona jernih yang terlihat dihitung menggunakan metode gravimetri menurut Irwan dan Wicaksono (2017), dengan cara sebagai berikut:

1. Menggunakan pola-pola koloni (replika koloni) yang digambar pada plastik mika bening.
2. Replika koloni tersebut ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik
3. Membuat potongan kertas 1 cm x 1 cm lalu ditimbang.
4. Menghitung luas koloni dengan menggunakan rumus:

$$\text{Luas Koloni} = \frac{\text{Bobot replika koloni}}{\text{Bobot kertas } 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}} \times 1 \text{ cm}^2$$

### Perhitungan Indeks Enzimatik

Pada penentuan indeks enzimatik dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Rosa et al., 2020) dengan 3 kali replikasi.

$$IE = \frac{\text{Luas zona Jernih} - \text{Luas koloni}}{\text{Luas Koloni}}$$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji pengaruh salinitas AN, AF2 dapat tumbuh dengan baik pada semua konsentrasi NaCl 3 dan 6 %, sedangkan isolat RH1 tumbuh sedikit pada setiap konsentrasi NaCl, dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 1.** Respon isolat *Actinomycetes* terhadap pengaruh kadar garam

NO	Isolat <i>Actinomycetes</i>	Salinitas		
		0 %	3 %	6 %
1	AN	++	++	++
2	RH1	+	+	+
3	AF2	++	++	++

Keterangan: + : Bakteri Tumbuh Sedikit, < 30 % koloni bakteri menutupi media  
++ : Bakteri Tumbuh Baik, > 30 % koloni bakteri menutupi media

Budidaya udang pada tambak menggunakan air payau. Sementara itu (Fatoni et al., 2018) menerangkan bahwa sebuah perairan dikatakan payau, jika memiliki nilai salinitas antara 0.05 – 3.00 %. Menurut Syukri & Ilham, (2016) kadar salinitas untuk pemeliharaan udang yaitu 10-30 ppt atau berkisar 0 - 3%. Hasil uji ketahanan salinitas pada isolat *Actinomycetes* AN dan AF2 diketahui mampu tumbuh baik pada kadar garam 0 - 6 %, kecuali RH1. Hal ini berarti isolat bakteri AN dan AF2 tidak akan terdampak pengaruh salinitas, jika digunakan sebagai kandidat probiotik udang pada air payau.

Ballav et al., (2015) melaporkan bahwa *Actinomycetes* merupakan bakteri Gram positif dengan relung habitat yang luas, tidak terkecuali habitat hipersalin (35 psu atau 35 ppt). Bahkan Djebaili et al., (2020) memperoleh > 10 isolat *Actinomycetes* dari tanah salin

yang berpotensi sebagai penghasil fitohormon. Studi lebih lanjut oleh Sadeghi et al., (2014) memperjelas bahwa *Actinomyces* mempunyai gen bernama *Lon* gene. Gen ini terekspresikan seiring meningkatnya kadar garam diikuti oleh kinerja protein spesifik salinitas. Protein *ectoine* and *ATP-dependent proteases* diduga turut membantu kelompok *Actinomyces* bertahan dalam cekaman osmolit.

### Aktivitas enzim selulase, amilase, protease dan mannanase

Tabel 2. Aktivitas enzim hidrolase

Isolat <i>Actinomyces</i>	Aktivitas enzim hidrolase pada cekaman pH											
	Selulase			Amilase			Protease			Mannanase		
	4	7	9.8	4	7	9.8	4	7	9.8	4	7	9.8
AN	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
RH1	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
AF2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-

Keterangan:

+ : menghasilkan enzim (ada zona jernih)

- : tidak menghasilkan enzim (tidak ada zona jernih)

Berdasarkan hasil uji aktivitas enzim selulase yang disajikan pada Tabel 2, hanya isolat AF2 yang memiliki aktivitas selulase. Mengutip pendapat Jaradat et al., (2008) isolat *Actinomyces* optimum menghasilkan enzim selulase pada rentang pH 4-7, salah satu contohnya *Streptomyces* sp. Dari tabel 1 isolat AF2 memiliki kelebihan menghasilkan enzim selulase pada rentang pH 4 - 9.8.

Isolat AN dan RH1 memiliki aktivitas enzim mannanase pada pH 4 (Tabel 2). Sedangkan isolat AF2 memiliki aktivitas mannanase pada pH 4 dan 7. Merujuk dari hasil penelitian Sumardi, (2007) pH optimum aktivitas mananolitik pada fungi *Fussarium oxsproum* ialah pH 4. Sementara Rodrigues Sacramento et al., (2004) memperoleh aktivitas mananolitik stabil pada kisaran pH 5 – 8 menggunakan isolat *Streptomyces* sp. Sasongko et al., (2015) menerangkan bahwa hydrolysis substrat oleh  $\beta$ -mannanase yang dihasilkan oleh kapang dan bakteri sama sama menghasilkan mannohexose.

Selain kapang, *Actinomyces* merupakan penghasil enzim lignoselulolitik yang terdiri atas xylanase, selulase, laccase, dan mannanase. Mereka dapat menghasilkan keseluruhan enzim tersebut atau hanya beberapa di antaranya (Saini et al., 2015). Pada penelitian ini (tabel 2), ketiga isolat *Actinomyces* menghasilkan mannanase tapi hanya isolat AF2 yang menghasilkan selulase.

Semua isolat memiliki aktivitas enzim amilase pada pH 4 (Tabel 2). Merujuk dari hasil penelitian (Gebreselema, 2015), isolat *Actinomyces* memiliki pH optimum pada pH 4 dalam menghasilkan enzim amilase. Pada isolat RH1 dan AF2 mampu menghasilkan enzim amilase pada rentang pH 4 - 7, dan isolat RH1 mampu menghasilkan enzim amilase pada pH 9.8.

Hasil uji aktivitas enzim protease pada Tabel 2, isolat AF2 yang memiliki aktivitas enzim pada pH 7 dan 9.8, sedangkan isolat AN dan RH1 tidak memiliki aktivitas enzim. Merujuk dari hasil penelitian (Vonothini et al., 2008) isolat *Actinomyces* mampu tumbuh dengan baik pada pH 7, berdasarkan tabel 2 isolat AF2 memiliki kemampuan aktivitas enzim pada rentang pH 7 - 9.8.

### Indeks Enzimatik

**Tabel 3.** Indeks enzimatik hidrolitik  
**Luas koloni, luas zona jernih dan Indeks Enzimatik**

Isolat	pH	selulolitik	amilolitik	proteolitik	mannanolitik
AN	4	-	0.33	-	0.7
	7	-	-	-	-
	9.8	-	-	-	-
RH1	4	-	3.54	-	0.43
	7	-	3.66	-	-
	9.8	-	3	-	-
AF2	4	1.23	1.33	-	0.86
	7	0.52	0.44	0.66	0.66
	9.8	3.5	-	0.076	-

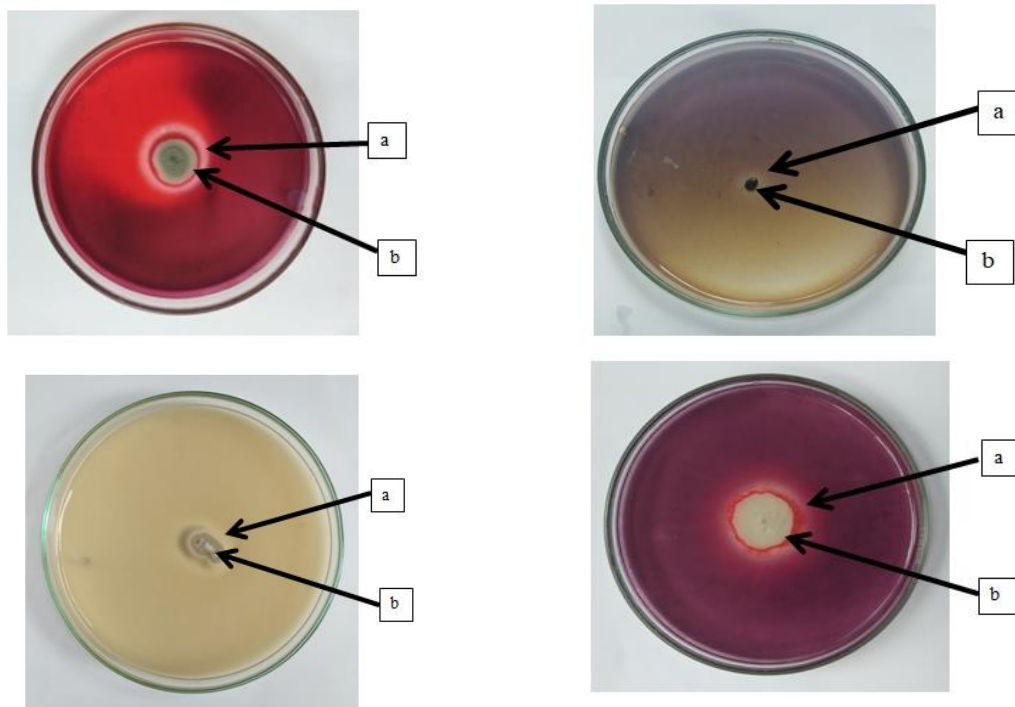
Dari hasil indeks enzim yang ada pada Tabel 3 diketahui bahwa indeks enzim terbesar ada pada isolat RH1 amilolitik dan AF2 selulolitik. Isolat AF2 mampu menghasilkan enzim selulolitik, amilolitik, proteolitik dan mannanolitik pada hampir semua kondisi pH, kecuali kondisi asam pada proteolitik dan kondisi basa pada amilolitik. Isolat AN dominan pada aktivitas enzim mannanolitik.

Peranan enzim hidrolase sangat krusial dalam pakan probiotik. Kelompok ekstraseluler enzim seperti rotease, selulase, amilase, xilanase dan mannanase, dapat merangsang pelepasan asam empedu. Hal ini berkontribusi pada emulsifikasi polisakarida non-pati, membuat nutrisi lebih tersedia bagi hewan budidaya. Campuran probiotik dan enzim terbukti mampu memicu kenaikan bobot akhir hewan budidaya lebih tinggi dan rasio konversi pakan yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Protease berperan meningkatkan hidrolisis protein pakan, sehingga meningkatkan pemanfaatan nitrogen dan asam amino (Abdel-Ghany et al., 2020).

Mannan merupakan polimer penghambat asupan nutrisi. Mannan dapat muncul terutama oleh seresh maupun hasil lisis dinding sel ragi. Ini artinya banyak produk fermentasi dari ragi mengandung mannan. Keberadaan  $\beta$ -mannanase membantu untuk menguraikan keberadaan mannan (Blibech et al., 2019). *Mannan oligosaccharides* (MOS) merupakan produk degradasi mannan. Perannya banyak dipakai sebagai pengganti antibiotik. Alasan tersebut karena strukturnya mampu melekat pada fimbriae patogen (mengurangi pergerakan bakteri patogen), meningkatkan sel goblet yang menghasilkan musin bakterisidal serta menciptakan lingkungan yang mendukung untuk pertumbuhan bakteri baik untuk berkompetisi (Chacher et al., 2017).

Gambar 1 menunjukkan adanya aktivitas selulase pada isolat AF2 dengan terbentuknya zona jernih pada sekitar koloni.





**Gambar 1.** Uji kualitatif selulolitik isolat AF2 pH 7, amilolitik isolat RH1 pH 4, proteolitik Isolat AF2 pH 9.8, dan mananolitik Isolat AN (dari kiri searah jarum jam), keterangan: (a) zona Jernih ; (b) koloni Bakteri

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil analisis isolat AN dan AF2 mampu tumbuh dengan baik pada konsentrasi salinitas 6 %. Isolat ini berpotensi sebagai kandidat probiotik pada udang. Isolat AN mampu mendegradasi amilum dan manan. Isolat RH1 berpotensi mendegradasi amilum dan isolat AF2 menghasilkan enzim mampu mendegradasi selulosa, amilum, protein dan manan.

Saran penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukannya eksplorasi lebih lanjut untuk bakteri *Actinomycetes* penghasil enzim hidrolase sebagai probiotik, serta uji lanjut untuk mengetahui efektivitas isolat *Actinomycetes* sebagai kandidat probiotik

## DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Ghany, H. M., Salem, M. E. S., Abouelkhier, S. S., & Helal, A. M. (2020). Effect of a cocktail of enzymes and probiotics on the growth and the bacterial enumeration in

gut and effluents of red tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*). *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 289–294.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.07.001>

Agustina, D., Surtiningsih, T., Manuhara, Y. S. W., Arifiyanto, A., & Malewa, M. (2019). Study of Cellulase Activity Produced by *Penicillium* sp., *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* on *Imperata cylindrica* (L.) Beauv. Enrichment Media. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/253/1/012016>

Arifiyanto, A., Surtiningsih, T., Ni'matuzahroh, Fatimah, Agustina, D., & Alami, N. (2020). Antimicrobial activity of biosurfactants produced by actinomycetes isolated from rhizosphere of Sidoarjo mud region. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101513>

Arisandi, A., Wardani, M. K., Badami, K., & Araninda, G. D. (2017). Dampak Perbedaan Salinitas Terhadap Viabilitas Bakteri *Vibrio fluvialis*. *Ilmu Pertanian*, 9(2), 91–97.

Ballav, S., Kerkar, S., Thomas, S., & Augustine, N. (2015). Halophilic and Halotolerant Actinomycete from A Marine Saltern Of Goa, India Producing Anti-Bacterial Metabolites. *Journal of Bioscience and Bioengineering.*, 119(3), 323–330.

Berna, M. G., Campa-Córdova, ángel I., Saucedo, P. E., González, M. C., Marrero, R. M., & Mazón-Suástegui, J. M. (2015). Isolation and in vitro selection of actinomycetes strains as potential probiotics for aquaculture. *Veterinary World*, 8(2), 170–176.  
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.170-176>

Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11(July), 1–9.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01662>

Blibech, M., Mouelhi, S., Farhat-Khemakhem, A., Boukhris, I., Ayeb, A. El, & Chouayekh,

- H. (2019). Selection of *Bacillus subtilis* US191 as a mannanase-producing probiotic candidate. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 66(5), 858–869. <https://doi.org/10.1002/bab.1798>
- Chacher, M. F. A., Kamran, Z., Ahsan, U., Ahmad, S., Koutoulis, K. C., Qutab Ud Din, H. G., & Cengiz, O. (2017). Use of mannan oligosaccharide in broiler diets: An overview of underlying mechanisms. *World's Poultry Science Journal*, 73(4), 831–844. <https://doi.org/10.1017/S0043933917000757>
- Chau, N. T. T., Hieu, N. X., Thuan, L. T. N., Matsumoto, M., & Miyajima, I. (2011). Identification and characterization of actinomycetes antagonistic to pathogenic *Vibrio* spp. Isolated from shrimp culture pond sediments in Thua Thien Hue-Viet Nam. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 56(1), 15–22.
- Djebaili, R., Pellegrini, M., Smati, M., Del Gallo, M., & Kitouni, M. (2020). Actinomycete strains isolated from saline soils: Plant-growth-promoting traits and inoculation effects on *Solanum lycopersicum*. *Sustainability (Switzerland)*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/su12114617>
- Fatoni, M., Muryani, C., & Nugraha, S. (2018). Studi Agihan Salinitas Air Tanah Dangkal Di Kecamatan Puring Kabupaten Kebumen Tahun 2016. *Jurnal GeoEco*, 4(1), 77–87.
- Gebreselema, G. (2015). Isolation and optimization of amylase producing bacteria and actinomycetes from soil samples of Maraki and Tewedros campus, University of Gondar, North West Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*, 9(31), 1877–1882. <https://doi.org/10.5897/ajmr2014.7027>
- Irwan, A. W. · F. Y. W., & Perbandingan. (2017). Perbandingan pengukuran luas daun kedelai dengan metode gravimetri , regresi dan scanner Comparations of soybean ' s leaf area measurement using gravimetry , regression , and scanning. *Jurnal Kultivasi Vol. 16 (3)*, 16(3), 425–429.
- Jaradat, Z., Dawagreh, A., Ababneh, Q., & Saadoun, I. (2008). Influence of Culture Sumardi, et al., Aktivitas Enzim . . .

- Conditions on Cellulase Production by *Streptomyces* Sp. (Strain J2). *Jordan Journal of Biological Sciences*, 1(4), 141–146.
- Kearl, J., McNary, C., Lowman, J. S., Mei, C., Aanderud, Z. T., Smith, S. T., West, J., Colton, E., Hamson, M., & Nielsen, B. L. (2019). Salt-tolerant halophyte rhizosphere bacteria stimulate growth of alfalfa in salty soil. *Frontiers in Microbiology*, 10(AUG). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01849>
- Lakshmi, B., Buddolla, V., & Gopal, D. V. R. S. (2013). Probiotics as Antiviral Agents in Shrimp Aquaculture. *Journal of Pathogens*. <https://doi.org/10.1155/2013/424123>
- Mazón-Suástegui, J. M., Salas-Leiva, J. S., Medina-Marrero, R., Medina-García, R., & García-Bernal, M. (2020). Effect of *Streptomyces* probiotics on the gut microbiota of *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *MicrobiologyOpen*, 9(2), 1–11. <https://doi.org/10.1002/mbo3.967>
- Norouzi, H., Danesh, A., Mohseni, M., & Rabbani Khorasgani, M. (2018). Marine Actinomycetes with Probiotic Potential and Bioactivity against Multidrug-resistant Bacteria. *Int J Mol Cell Med*, 7(1), 44–52. <https://doi.org/10.22088/IJMCM.BUMS.7.1.44>
- Rodrigues Sacramento, D., Rodrigues Coelho, R. R., Wigg, M. D., Luna Linhares, L. F. D. T., Matos Dos Santos, M. G., Soares Semêdo, L. T. D. A., & Ribeiro Da Silva, A. J. (2004). Antimicrobial and antiviral activities of an actinomycete (*Streptomyces* sp.) isolated from a Brazilian tropical forest soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(3), 225–229. <https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000023824.20673.2f>
- Rosa, E., Ekowati, C. N., Handayani, T., Ikhsanudin, A., Apriliani, F., & Arifiyanto, A. (2020). Characterization of entomopathogenic fungi as a natural biological control of American cockroaches (*Periplaneta americana*). 21(11). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211131>
- Sadeghi, A., Soltani, B. M., Jouzani, G. S., Karimi, E., Nekouei, M. K., & Sadeghizadeh, Sumardi, et al., Aktivitas Enzim . . .

- M. (2014). Taxonomic study of a salt tolerant *Streptomyces* sp. strain C-2012 and the effect of salt and ectoine on lon expression level. *Microbiological Research*, 169(2–3), 232–238. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.010>
- Saini, A., Aggarwal, N. K., Sharma, A., & Yadav, A. (2015). Actinomycetes: A Source of Lignocellulolytic Enzymes. *Enzyme Research*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/279381>
- Sasongko, A., Yopi, Y., Rahmani, N., Lisdiyanti, P., & Saepudin, E. (2015). Enzymatic Hydrolysis of Mannan from Konjac (*Amorphophallus* sp.) Using Mannanase from *Streptomyces lipmanii* to Produce Manno-oligosaccharides. *Makara Journal of Science*, 19(3). <https://doi.org/10.7454/mss.v19i3.4850>
- Sumardi. (2007). Isolasi Dan Karakterisasi Mananase Ekstrasaluler dari *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Sains Mipa*, 12(1), 43–48.
- Sumardi, Agustrina, R., Ekowati, C. N., & Pasaribu, Y. S. (2018). Characterization of protease from *Bacillus* sp. on medium containing FeCl<sub>3</sub> exposed to magnetic field 0.2 mt. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130(1), 0–12. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/130/1/012046>
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C. N., Arifiyanto, A., & Rahmawati, D. E. (2020). Halotolerant *Bacillus* sp. For mannan degradation isolated from mangrove ecosystem at Hanura Beach Lampung. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(2), 1237–1244. <https://doi.org/10.22207/JPAM.14.2.18>
- Syukri, M., & Ilham, M. (2016). Pengaruh salinitas terhadap sintasan dan pertumbuhan larva udang windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Galung Tropika*, 5(2), 86–96. <http://www.jurnalpertanianumpar.com/index.php/jgt/article/view/166/136>
- Vonothini, G., Murugan, M., Sivakumar, K., & Sudha, S. (2008). Optimization of protease production by an actinomycete strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. *African Journal of Biotechnology*, 7(18), 3225–3230.
- Sumardi, et al., Aktivitas Enzim . . .

<https://doi.org/10.5897/AJB08.567>