



Penapisan Enzim Hidrolase pada Bakteri *Streptomyces* sp. strain I18

Screening hidrolase enzymatic on *Streptomyces* sp. strain I18

Ulin Ni'mah Setiawati^{1*}, Mesy Miranda AR¹, Mutia Dinda Lestari¹, Nismah Nukmal¹, Endah Setyaningrum¹, Titik Nur Aeny², Achmad Arifiyanto¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

²Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung, Indonesia.

Email: ulinsetiawati@gmail.com

*Penulis Korespondensi

Abstract

Hydrolase enzymes have an important role in industrial processes such as a biocatalyst. Bacteria as a producer of hydrolase enzymes can be exploited their potential in industrial processes. This research was aimed to determine the potential of the hydrolase enzyme on *Streptomyces* sp. strain I18 collected in the Laboratory of Microbiology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences. University of Lampung. Testing the activity of enzyme was performed quantitatively by measuring clear zone formed around the isolate indicating positive enzymatic activity. Clear zone is a positive indicator of enzymatic activity in these microorganisms. In this reaserch, it was found that *Streptomyces* sp. strain I18 has high potential to degrade starch with an amylase enzyme and the enzymatic index value is 2.94. In addition, it also has the potential to produce protease, chitinase, mannanase, cellulase and lipase enzymes with their enzymatic index values sequentially is 1.89, 0.25, 0.36, 1.00 and 2.26, respectively. In conclusion, hydrolase enzymes produced by *Streptomyces* sp. strain I18 has the potential to be used as agent in numerous fields, such as industry, biomedicine, biocontrol agents and biosurfactants.

Keywords : enzymatics test, hydrolase enzymes, *Streptomyces* sp. strain I18.

Abstrak

Enzim hidrolase memiliki peranan penting dalam proses industri salah satunya sebagai biokatalisator. Bakteri sebagai produsen enzim hidrolase dapat dimanfaatkan potensinya dalam proses industri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi enzim hidrolase dari *Streptomyces* sp. strain I18 koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Pengujian dilakukan secara kualitatif dengan mengukur zona bening yang terbentuk disekitar isolat. Diameter zona bening diukur dan dibagi dengan diameter koloni isolat yang tumbuh untuk mendapatkan nilai indeks enzimatis. Zona jernih merupakan indikator adanya aktivitas enzimatis pada mikroorganisme tersebut. Pada penelitian ini didapatkan bahwa *Streptomyces* sp. strain I18 memiliki potensi yang tinggi dalam mendegradasi pati dengan enzim amilase yang dihasilkannya dengan nilai indeks enzimatis yang diperoleh sebesar 2,94. Selain itu juga memiliki potensi menghasilkan enzim protease, kitinase, mananase, selulase dan lipase dengan nilai indeks enzimatisnya secara berurutan, yaitu 1,89, 0,25, 0,36, 1,00, dan 2,26. Kesimpulannya, enzim hidrolase yang dihasilkan oleh *Streptomyces* sp. strain I18 memiliki potensi untuk digunakan sebagai kandidat biokatalisator di berbagai bidang, seperti industri, biomedis, dan agen biokontrol.

Kata kunci : enzim hidrolase, *Streptomyces* sp. strain I18, uji enzimatis.

Diterima: 1 Desember 2021, disetujui: 24 Mei 2022

Pendahuluan

Actinomycetes merupakan kelompok bakteri Gram positif, aerob, dan memiliki pertumbuhan miselium udara. Mikroorganisme ini bermanfaat dalam menguraikan senyawa polimer kompleks, menghasilkan berbagai jenis enzim ekstraseluler, dan meningkatkan produksi metabolit dan nutrisi yang dibutuhkan untuk kesuburan tanaman (Bhatti *et al.*, 2017). Mikroorganisme ini termasuk dalam filum Actinobacteria yang saat ini telah diketahui lebih dari 30 famili dan 160 genus. *Actinomycetes* menghasilkan sekitar 70% sumber antibiotik dan bioaktif lainnya, yaitu enzim, regulator imunologi, reagen antioksidasi, dan masih banyak lainnya (Dilip *et al.*, 2013). Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* memiliki nilai komersial yang tinggi. Salah satunya yaitu enzim yang dimiliki mikroorganisme ini dapat digunakan dalam industri bioteknologi dan bidang biomedis (Nawani *et al.*, 2013).

Kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim banyak dimanfaatkan pada sektor industri karena fungsinya sebagai katalisator (Mukhtar *et al.*, 2017). Enzim sendiri dibagi menjadi beberapa kelompok, salah satunya yaitu enzim hidrolase yang berperan dalam mengkatalisis reaksi pemecahan molekul kompleks menjadi lebih sederhana dengan air (Alcántara *et al.*, 2011). Enzim hidrolase banyak dibutuhkan, diantaranya yaitu protease yang banyak digunakan dalam industri deterjen dan kitinase yang merupakan hidrolase glikosil yang berperan dalam degradasi kitin (Prakash *et al.*, 2013).

Enzim yang merupakan biokatalisator dihasilkan oleh tanaman, hewan, dan mikroorganismenya. Akan tetapi, sebagian besar enzim yang dihasilkan oleh mikroorganismenya mempunyai kelebihan, yaitu cepat dalam pertumbuhannya dengan kebutuhan nutrisi yang tidak banyak (Prakash *et al.*, 2013). *Streptomyces* sp. strain I18 merupakan jenis mikroorganismenya yang diisolasi dari rizosfer nanas di Lampung. Isolat ini merupakan salah satu koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang belum diketahui potensi enzimatisnya. Berdasarkan penelitian sebelumnya, *Streptomyces* sp. strain I18 berpotensi sebagai agen biokontrol *Dickeya zaeae* patogen pada buah nanas yang

menyebabkan kebusukan (Aeny *et al.*, 2018). Maka dari itu, penelitian dilakukan untuk mengetahui potensial enzimatisnya yang dapat dijadikan sebagai kandidat biokatalisator dalam bidang industri, biomedis, dan agen biokontrol.

Metode Penelitian

1. Kultur Mikroorganismenya

Mikroorganismenya yang digunakan pada penelitian ini adalah *Streptomyces* sp. strain I18. Isolat tersebut dikultur pada media *International Streptomyces Project 4 (ISP 4)* dengan komposisi *soluble starch* 10 g, K_2HPO_4 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, NaCl 1 g, $(NH_4)_2SO_4$ 2 g, $CaCO_3$ 2 g, dan Agar 20 g dalam 1 L aquades.

2. Pengecatan Gram

Pada pengecatan Gram digunakan metode yang telah dilakukan oleh Putri *et al.*, (2021). Pengecatan Gram dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat bakteri setelah inkubasi 72 jam dan digoreskan pada *object glass*. Lalu ditambahkan *crystal violet* selama satu menit dan dibilas dengan air. Selanjutnya, ditambahkan larutan mordant selama satu menit kemudian dibilas dengan air. Lalu ditambahkan dengan larutan peluntur atau alkohol selama 30 detik dan dikeringanginkan. Setelah itu, ditambahkan safranin selama satu menit kemudian dibilas dengan air. Terakhir, dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x dan penambahan minyak imersi agar terlihat dengan jelas.

3. Uji Enzimatis

Uji ini digunakan untuk melihat kemampuan isolat dalam menggunakan substrat pada media karena adanya enzim yang dimiliki oleh isolat tersebut. Uji enzimatis ini meliputi amilase, selulase, protease, mananase, kitinase, dan lipase. Isolat yang digunakan pada uji enzimatis berumur 72 jam untuk masing-masing enzim.

a. Uji Amilase

Media yang digunakan dalam uji ini adalah *Nutrient Agar (NA)* dan *starch* atau amilum 1%. Isolat I18

diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 25°C. Selanjutnya, diberi perlakuan yaitu ditetesi *Lugol Iodine* pada media. Aktivitas amilolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening disekitar isolat.

b. Uji Selulase

Uji selulase menggunakan metode Soeka *et al.*, (2019) dan dilakukan modifikasi. Media yang digunakan dalam uji ini adalah NA dan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 2%. Lalu, isolat I18 diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 25°C. Selanjutnya, diberi perlakuan, yaitu ditetesi *Congo Red* 0,1% dan dibilas dengan NaCl. Aktivitas selulolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening disekitar isolat.

c. Uji Protease

Uji protease menggunakan metode Shaik *et al.* (2017) yang telah dimodifikasi. Media yang digunakan dalam uji ini adalah NA dan *Skim milk* 1%. Lalu, isolat I18 diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 25°C. Aktivitas proteolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening di sekitar isolat.

d. Uji Lipase

Pengujian ini digunakan metode yang telah dilakukan oleh Ervina *et al.* (2020) dan dimodifikasi. Media yang digunakan dalam uji ini adalah NA dengan menggunakan minyak zaitun 1%, ditambahkan Tween 80 0,6% dan *Methyl Red* 0,04%. Lalu, isolat I18 diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 25°C. Aktivitas lipolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening disekitar isolat.

e. Uji Manannase

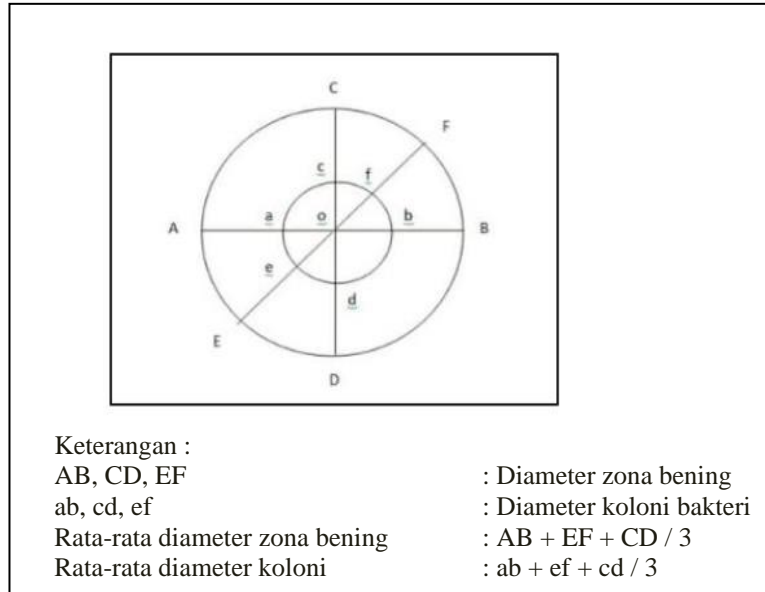
Media yang digunakan dalam uji ini terbagi menjadi dua, yaitu media lapisan atas dengan komposisi MgSO₄7H₂O 0,03 g, KH₂PO₄ 0,245 g, (NH₄)₂SO₄ 0,25 g, NaCl 0,2 g, *locus bean gum* (LGB) 0,35 g, dan Agar 1,5 g dalam 100 mL dan komposisi media lapisan bawah, yaitu *yeast extract* 0,35 g, *tryptone* 0,35 g, MgSO₄7H₂O 0,03 g, KH₂PO₄ 0,245 g, (NH₄)₂SO₄ 0,25 g, NaCl 0,2 g, dan Agar 1,5 g dalam 100 mL. Setelah itu, isolat I18 diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 25°C. Aktivitas mananolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening di sekitar isolat (Sumardi, 2005).

f. Uji Kitinase

Media yang digunakan dalam uji ini yaitu NA yang ditambah 1% koloidal. Setelah itu, isolat I18 diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 25°C. Koloidal dibuat dengan cara 5 gram bubuk kitin dilarutkan dalam 80 mL HCl pekat selama 30 menit dan didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya, disaring dengan *glass wool* dan hasil filtrat yang diperoleh dilarutkan dengan 40 mL akuades hingga homogen. Lalu, disentrifugasi untuk memisahkan natan dan supernatan dengan kecepatan 7500 rpm selama 15 menit. Hasil natan berupa kitin koloid dapat digunakan untuk uji kitinase. Setelah itu, hasil inkubasi uji kitinase diberi perlakuan, yaitu ditetesi *Congo Red* 0,1% dan dibilas dengan NaCl 1M. Aktivitas kitinolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening disekitar isolat (Rosa *et al.*, 2020).

Perhitungan indeks enzimatis dihitung dengan rumus menurut Rosa *et al.* (2020) sebagai berikut :

$$\text{Indeks enzimatis} = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

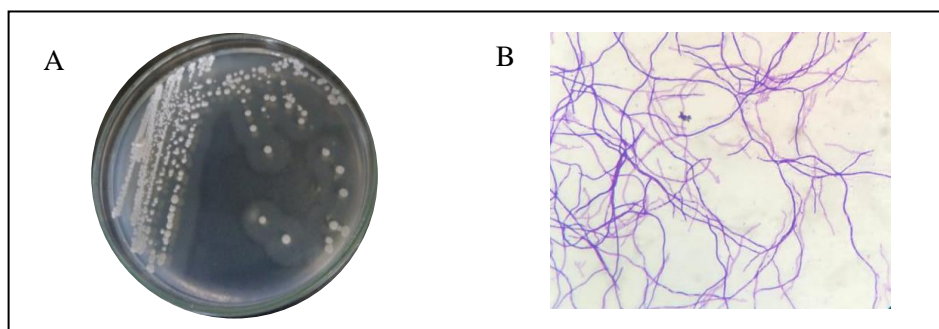


Gambar 1 Pengukuran Diameter Zona Bening

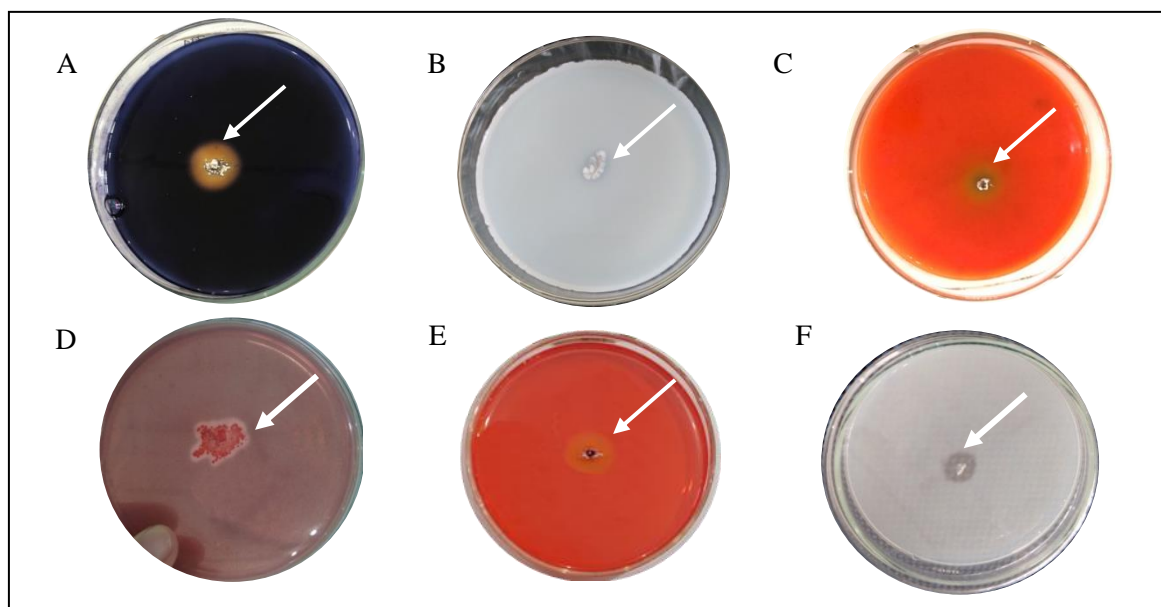
Hasil dan Pembahasan

Hasil dari pengamatan morfologi secara makroskopis menunjukkan bahwa isolat ini berbentuk bulat, tepian teratur, elevasi permukaan timbul dan menghasilkan warna putih seperti kapur pada aerial miselium sedangkan pada substrat miselium menghasilkan warna putih kekuningan (Gambar 2A). Hasil dari pengecatan Gram,

bakteri ini bewarna ungu dan bercabang (*branching*) (Gambar 2B), sesuai dengan literatur bahwa *Streptomyces* memiliki bentuk seperti hifa atau filamen dan merupakan Gram positif (Kawuri, 2016). Hasil dari pengujian aktivitas enzimatis *Streptomyces* sp. strain I18 disajikan pada Tabel 1. Isolat *Streptomyces* sp. strain I18 memiliki aktivitas enzimatis, yaitu amilase, kitinase, lipase, mananase, selulase dan protease (Gambar 4)



Gambar 2 Bentuk morfologi koloni I18: A) Bentuk morfologi secara makroskopis pada media ISP4 setelah 72 jam inkubasi; B) Pengecatan Gram isolat I18 yang diamati dengan mikroskop pada perbesaran 1000x



Gambar 3. Aktivitas hidrolitik: A) Amilase; B) Kitinase; C) Lipase; D) Mananase; E) Selulase; dan F) Protease dari isolat I18

Tabel 1 Hasil Perhitungan Indeks Enzimatis Isolat *Streptomyces* sp. strain I18

Enzim	\bar{x} zona bening \pm St.dev (mm)	\bar{x} diameter koloni \pm St.dev (mm)	Indeks Enzimatis
Amilase	2,25 \pm 0,20	0,57 \pm 0,21	2,94
Kitinase	1,20 \pm 0,26	0,96 \pm 0,17	0,25
Lipase	1,63 \pm 0,10	0,50 \pm 0,20	2,26
Mananase	1,80 \pm 0,17	1,30 \pm 0,20	0,38
Selulase	1,60 \pm 0,20	0,80 \pm 0,17	1,00
Protease	1,33 \pm 0,30	0,46 \pm 0,15	1,89

Berdasarkan hasil yang didapat, isolat *Streptomyces* sp. strain I18 memiliki potensi menghasilkan 6 enzim ekstraseluler. Isolat *Streptomyces* sp. strain I18 memiliki aktivitas tertinggi untuk enzim amilase dibandingkan dengan enzim lainnya, ditandai dengan terbentuknya zona bening paling luas, yaitu 2,25 mm dan indeks enzimatisnya 2,94. Penelitian ini didukung oleh Soeka (2010) yang telah melakukan pengujian aktivitas enzim amilase menggunakan *Streptomyces* dan menghasilkan zona bening sebesar 3 mm pada uji kualitatifnya. *Streptomyces* merupakan bakteri amilolitik karena dapat menghidrolisis pati menjadi gula sederhana (glukosa) menggunakan amilase yang dihasilkannya. *Streptomyces* mudah dalam menghidrolisis berbagai macam karbon untuk pertumbuhannya (Soeka, 2010). Di dalam industri biofuel, amilase dimanfaatkan juga untuk reaksi hidrolisis (Mihajlovski et al., 2021).

Potensi enzimatis terbesar yang dihasilkan oleh isolat I18 selanjutnya setelah amilase adalah enzim lipase dengan 1,63 mm zona bening yang terbentuk dan indeks enzimatis sebesar 2,26. Zona bening yang terbentuk menandakan adanya aktivitas hidrolisis ikatan ester pada trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak. Pada pengujian ini, Tween 80 digunakan sebagai substrat yang akan dihidrolisis oleh bakteri menjadi asam monooleat yang berikatan dengan kalsium, kemudian terbentuk warna kekeruhan disekitar isolat (Ervina et al., 2020). Penelitian ini didukung oleh Arifiyanto et al., (2020) bahwa isolat *Streptomyces* merupakan bakteri lipolitik karena dapat memecahkan ikatan gliserol dan asam lemak pada medium tributyrin untuk proses pertumbuhan pada bakteri tersebut.

Streptomyces sp. strain I18 menghasilkan zona bening sebesar 1,33 mm dan nilai indeks enzimatisnya 1,89 pada uji enzim

protease. Isolat ini mampu menghidrolisis kasein yang terdapat pada media *skim milk* yang digunakan untuk pertumbuhannya. Pengujian ini didukung oleh penelitian mengenai isolasi bakteri *Streptomyces parvulus* yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim protease ditandai dengan terbentuknya zona bening sebesar 27 mm dengan diameter koloni 6 mm (Shaik *et al.*, 2017). Pada aplikasinya di industri pangan, protease banyak digunakan dalam pembuatan keju dan bir untuk penentuan kandungan kalorinya (Prakash *et al.*, 2013).

Isolat *Streptomyces* sp. strain I18 ini dapat menghasilkan enzim selulase ditandai dengan terbentuknya zona bening sebesar 1,60 mm dan memiliki nilai indeks enzimatis 1. Zona bening yang terbentuk menandakan adanya aktivitas hidrolisis selulosa menjadi glukosa atau monosakarida dan ikatan 1,4- β glikosida pada selulose berikatan dengan *congo red* sehingga menghasilkan warna merah pada media yang menandakan area selulosa yang tidak terhidrolisis oleh bakteri (Rori *et al.*, 2020). Dalam penelitiannya, Soeka *et al.*, (2019) menyebutkan bahwa *Streptomyces macrosporeus* dapat menghasilkan enzim selulase yang diujikan dengan penambahan ion logam untuk melihat pengaruhnya sebagai aktivator atau inhibitor. Potensi dari selulase telah banyak dimanfaatkan dalam industri tekstil, *pulp*, dan kertas sebagai biokatalis (Soeka *et al.*, 2019).

Potensi isolat I18 juga menghasilkan enzim mananase, tetapi tidak sebesar keempat enzim sebelumnya, karena hanya menghasilkan zona bening sebesar 1,80 mm dan indeks enzimatisnya hanya sebesar 0,38. Hal tersebut dikarenakan besarnya diameter koloni isolat I18 yang tumbuh yaitu sebesar 1,30 mm. Pada pengujian ini digunakan substrat *locust bean gum* yang merupakan sumber manan (galaktomanan) yang akan dihidrolisis menjadi molekul sederhana seperti manno-oligosakarida dan mannanosa oleh bakteri (Sumardi, 2005). Informasi ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Mohapatra (2021) yang menyatakan bahwa isolate *Streptomyces* Alg-S25 menghasilkan enzim β -mananase yang memiliki potensi sebagai bioenergi, serta bermanfaat pada industri tekstil, industri *pulp*, dan kertas.

Potensi enzimatis yang paling rendah adalah kitinase. Hal ini terlihat dari zona bening yang terbentuk sebesar 1,20 mm dan nilai

indeks enzimatisnya hanya 0,25. Zona bening yang terbentuk menandakan bahwa adanya enzim kitinase yang mendegradasi ikatan polimer asetil-D-glukosamina menjadi ikatan polimer kitin yang lebih pendek. Potensi kitinase yang dihasilkan oleh tiap isolat berbeda-beda karena adanya perbedaan kemampuan dalam beradaptasi yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan, yaitu pH, suhu, dan sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Kemampuan tersebut berasal dari gen yang dimiliki oleh tiap bakteri. Hal ini didukung oleh penelitian Soeka (2016) dengan menggunakan limbah kulit udang dalam pengujian enzim kitinase menggunakan isolat *Streptomyces macrosporeus* dengan indeks enzimatis sebesar 2,77 mm. Selain itu, pada penelitian Shen *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa kitinase yang diproduksi oleh *Streptomyces hygroscopicus* dapat dijadikan sebagai agen biokontrol terhadap jamur fitopatogen *Fusarium oxysporum*. Kitinase yang dihasilkan dapat mendegradasi kitin, β -1,3-Glucan, selulase, dan protein yang merupakan komponen penting penyusun dinding sel fitopatogenik sehingga dapat menghambat pertumbuhan jamur.

Pada uji enzimatis ini digunakan isolat bakteri berumur 72 jam setelah inkubasi, karena pada saat ini terjadi fase logartima/ fase eksponensial pada bakteri. Fase ini merupakan fase pertumbuhan pesat (jumlah dan ukuran) pada bakteri, sehingga membutuhkan banyak nutrisi untuk pertumbuhannya dan dapat memicu bakteri untuk memproduksi enzim dengan cara menghidrolisis substrat yang digunakan pada media uji (Sonia & Joni, 2015). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yurnaliza *et al.*, (2008) yang menggunakan *Streptomyces* pada uji enzim kitinase dan menghasilkan aktivitas enzimatis terbesar yaitu 0,44 U/mg dengan berat kering 1,75 mg/mL pada kultur 48-72 jam.

Simpulan

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, dapat disimpulkan bahwa isolat *Streptomyces* sp. strain I18 terbukti menghasilkan sejumlah enzim ekstraseluler, yaitu amilase dengan indeks enzimatis sebesar 2,94, protease sebesar 1,89, kitinase sebesar 0,25, mananase sebesar 0,36, selulase sebesar 1,00, dan lipase sebesar

2,26. Potensi enzmatik ini dapat dijadikan sebagai kandidat biokatalisator dalam bidang industri, agen biokontrol, dan bidang biomedis.

Daftar Pustaka

- Aeny, T. N., Prasetyo, J., Suharjo, R., Dirmawati, S. R., Efri., & Niswati, A. (2018). Short communication: Isolation and identification of actinomycetes potential as the antagonist of *Dickeya zae* pineapple soft rot in Lampung, Indonesia. *Biodiversitas* 19(6): 2052–2058.
- Alcántara, A. R., Hernaiz, M. J., & Sinisterra, J. V. (2011). Biocatalyzed production of fine chemicals. *Comprehensive Biotechnology* 2(3): 309-331.
- Arifiyanto, A., Surtiningsih, T., Ni'matuzahroh, Fatimah, Agustina, D., & Alami, N. H. (2020). Antimicrobial activity of biosurfactants produced by actinomycetes isolated from rhizosphere of Sidoarjo mud region. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 24: 101513.
- Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis* 111:458–467.
- Dilip, C. V. S., M. S., & Chavan, D. V. (2013). a Review on Actinomycetes and Their Biotechnological Application. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*4(5): 1730.
- Ervina, E., Cristina Nugroho, E., Sumardi., dan Emantis, R. (2020). Lipolytic-screening of *Bacillus* genera as Biocontrol candidate In Coffee Plantation. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati* 7(1): 31–34.
- Kawuri, R. (2016). Isolasi & identifikasi *Streptomyces* sp. pada rhizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) di Desa Pendem Jembrana Bali. *Journal of Biological Sciences* 148(2): 140–148.
- Mihajlovski, K., Buntić, A., Milić, M., Rajilić-Stojanović, M., & Dimitrijević-Branković, S. (2021). From Agricultural Waste to Biofuel: Enzymatic Potential of a Bacterial Isolate *Streptomyces fulvissimus* CKS7 for Bioethanol Production. *Waste and Biomass Valorization*12(1): 165–174.
- Mohapatra, B. R. (2021). Characterization of β -mannanase extracted from a novel *Streptomyces* species Alg-S25 immobilized on chitosan nanoparticles. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 35(1): 150–161.
- Mukhtar, S., Zaheer, A., Aiysha, D., Abdulla Malik, K., & Mehnaz, S. (2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *Journal of Proteomics & Bioinformatics* 10(12): 316–319.
- Nawani, N., Aigle, B., Mandal, A., Bodas, M., Ghorbel, S., & Prakash, D. (2013). Actinomycetes: Role in biotechnology and medicine. *BioMed Research International* 2013: 687190.
- Prakash, D., Nawani, N., Prakash, M., Bodas, M., Mandal, A., Khetmalas, M., & Kapadnis, B. (2013). Actinomycetes: A repertory of green catalysts with a potential revenue resource. *BioMed Research International*, 2013.
- Putri, M. H., Handayani, K., Setiawan, W. A., Damayanti, B., Ratih, C. L., & Arifiyanto, A. (2021). Screening of extracellular enzymes on *serratia marcescens* strain mbc1. *Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya* 3(1): 23.
- Rori, C. A., Kandou, F. E. F., & Tangapo, A. M. (2020). Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos* 11(2): 48.
- Rosa, E., Ekowati, C. N., Handayani, T. T., Ikhsanudin, A., Apriliani, F., & Arifiyanto, A. (2020). Characterization of entomopathogenic fungi as a natural biological control of american cockroaches (*Periplaneta americana*). *Biodiversitas* 21(11): 5276–5282.
- Shaik, M., Girija Sankar, G., Iswarya, M., & Rajitha, P. (2017). Isolation and characterization of bioactive metabolites producing marine *Streptomyces parvulus* strain sankarensis-A10. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 15(1): 87–94.
- Shen, T., Wang, C., Yang, H., Deng, Z., Wang, S., Shen, B., & Shen, Q. (2016). Identification, solid-state fermentation and biocontrol effects of *Streptomyces hygrosopicus* B04 on strawberry root rot. *Applied Soil*

- Ecology* 103: 36–43.
- Soeka, Y. S. (2010). Optimasi dan Karakterisasi α -amilase dari Isolat Aktinomisetes yang Berasal dari Kalimantan Timur. *Berita Biologi* 10(3): 361–367.
- Soeka, Y. S., Suharna, N., & Evi T. (2019). Characterization of Cellulase Enzyme Produced by Two Selected Strains of *Streptomyces macrosporeus* Isolated from Soil in Indonesia. *Makara Journal of Science* 23(2): 65–71.
- Sumardi. (2005). Optimasi Produksi Enzim β - Mananase Ekstraseluler dari Bakteri *Geobacillus stearothermophilus* L-07. *Jurnal Sains Teknologi* 11(2): 66–71.
- Soeka, Y. S & Evi T. (2016). Pemanfaatan Limbah Kulit Udang untuk Menghasilkan Enzim Kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A454. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia* 18(6): 91–101.
- Sonia, N. M. O. & Joni K. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 Asal Padang Pasir Tengger-Bromo. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri* 3(4): 11–19.
- Yurnaliza, Margino. S., & Sembiring, L. (2008). Kondisi Optimum untuk Produksi Kitinase dari *Streptomyces* Rkt5 dan Karakterisasi pH dan Suhu Enzim. *Biota* 13(3): 169–174.