



Isolasi Bakteri Hidrolitik Penghasil Enzim Amilase dari Limbah Industri Tapioka

Isolation of Hydrolytic Bacteria Producing Amylase Enzymes from Tapioca Industrial Waste

Maulida Alfianti Rahayu*, Ayu Rahmawati Sulistyningtyas dan Sri Darmawati

Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

Corresponding author: maulidaalfr15@gmail.com*, ayurs@unimus.ac.id, ciciekdarma@unimus.ac.id

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

Abstrak

Produksi tepung tapioka yang besar berdampak terhadap peningkatan jumlah limbah cair tapioka yang menyebabkan pencemaran pada lingkungan sekitarnya jika langsung dibuang ke perairan. Limbah terdiri dari senyawa organik yang mudah terurai sehingga dapat direduksi atau didegradasi dengan proses biologi secara aerob menggunakan mikroorganisme. Bakteri yang hidup pada limbah diduga dapat menghasilkan enzim amilase yang dapat menguraikan limbah cair tapioka. Enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut diharapkan dapat menghidrolisis limbah amilum menjadi glukosa. Tujuan penelitian ini antara lain adalah untuk mengetahui potensi enzim amilase bakteri indigenous dari limbah cair industri tapioka untuk mendegradasi senyawa organik, mengisolasi bakteri hidrolitik penghasil enzim amilase dari limbah cair industri tapioka dan menguji aktivitas hidrolitik menggunakan media selektif *Starch Agar* (SA). Hasil uji aktivitas hidrolitik menunjukkan 3 isolat terpilih M1, M2, M3 mampu tumbuh dalam media selektif. Namun hanya satu isolat yang dapat menghasilkan zona bening ketika diuji kualitatif dengan ditetesi larutan iodine, isolat yang memiliki aktivitas amilolitik tersebut yaitu isolat kode M3 dengan diameter zona bening 25 mm. Kesimpulannya, isolat terpilih M3 berpotensi sebagai agen bioremediasi karena mampu menghasilkan enzim amilase.

Kata kunci: Amilase, Bakteri, Bioremediasi, Limbah, Tapioka

Abstract

Production of tapioca flour has an impact on increasing the amount of wastewater which causes pollution in the surrounding environment if it is directly discharged into the waters. Wastewater consists of organic compounds that are easily decomposed so that they can be reduced or degraded by biological processes using aerobics using microorganisms. Bacteria which live in waste are thought to be able to produce amylase enzymes which can decompose tapioca wastewater. Amylase enzyme produced by these bacteria was expect to hydrolyze amylose waste into glucose. The purpose of this study was to determine the potential of indigenous bacterial amylase from tapioca industrial wastewater to degrade organic compounds, isolate hydrolytic bacteria producing amylase enzymes from tapioca wastewater and test hydrolytic activity using Starch Agar (SA) selective media. The results of the hydrolytic activity test showed that 3 selected isolates M1, M2 and M3 were able to grow in selective media. However, only one isolate could produce clear zones when tested qualitatively by dropping iodine solution, isolates which had amylolytic activity were M3 isolates with 25 mm clear zone diameter. In Conclusion, In conclusion, M3 isolate has potential as a bioremediation agent because it is able to produce the amylase enzyme.

Keywords: Amylase, Bacteria, Bioremediation, Waste, Tapioca

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara produsen ubi kayu nomor 2 terbesar di dunia pada tahun 2012 (FAO, 2013). Industri tepung tapioka merupakan industri yang memiliki peluang dan prospek pengembangan yang baik untuk memenuhi permintaan pasar. Kapasitas produksi yang besar tersebut berdampak terhadap peningkatan jumlah limbah cair tapioka. Satu ton



tapioka menghasilkan 4-12 m³ limbah cair dengan pH 4,5-5,0, COD berkisar dari 10.000-15.000 mg/L, dan sianida 19-28mg/L (Oktarina, 2014). Limbah industri tapioka akan menyebabkan pencemaran pada lingkungan sekitarnya jika langsung dibuang ke perairan. Limbah industri tapioka mengandung amilum yang bila terlarut dalam air akan menyebabkan turunnya oksigen terlarut dan bau busuk yang berasal dari proses degradasi bahan organik yang kurang sempurna (Cesaria dkk., 2015).

Penanganan limbah cair industri tapioka mudah ditangani secara biologi, karena sebagian besar terdiri dari senyawa organik yang mudah terurai. Oleh sebab itu, limbah cair tepung tapioka ini dapat direduksi atau didegradasi dengan proses biologi secara aerob menggunakan mikroorganisme. Mikroorganisme dapat mendegradasi limbah cair sehingga cenderung lebih aman bagi lingkungan (Susilo dkk., 2015; Sulityaningtyas dkk., 2018). Mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim protease, selulase, dan lipase yang berperan sebagai katalisator yang mampu memecah dan merombak (hidrolitik) molekul kompleks menjadi molekul sederhana (Said, 2002). Mikroorganisme memerlukan bahan organik seperti karbohidrat, protein, lemak dan mineral lainnya untuk mempertahankan hidupnya. Bahan-bahan tersebut banyak tersedia dalam limbah tapioka. Keuntungan menggunakan mikroorganisme sebagai sumber penghasil enzim hidrolitik yaitu mudah didapatkan dan cukup efektif untuk pengolahan limbah biologis pada limbah cair (Jose dkk., 2000).

Enzim amilase (*α -amylase*) merupakan endoenzim yang memotong ikatan alfa-1,4 amilosa dan amilopektin dengan cepat pada larutan pati kental yang telah mengalami gelatinisasi. Proses ini juga dikenal dengan nama proses likuifikasi pati. Produk akhir yang dihasilkan dari aktivitasnya adalah glukosa (Mertahardianti & Juliastuti, 2008). Bakteri yang hidup pada limbah diduga dapat menghasilkan enzim amilase yang dapat menguraikan limbah cair tapioka menjadi sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut diharapkan dapat menghidrolisis limbah amilosa menjadi glukosa. Glukosa merupakan monosakarida sehingga mikroorganisme lebih mudah menyerap nutrisi dalam proses metabolisme. Tujuan penelitian ini antara lain adalah untuk mengetahui potensi enzim amilase bakteri indigenous dari limbah cair industri tapioka untuk mendegradasi senyawa organik, mengisolasi bakteri hidrolitik penghasil enzim amilase dari limbah cair industri tapioka dan menguji aktivitas hidrolitik menggunakan media selektif *Starch Agar* (SA).

METODE

A. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan antara lain ose tanam bulat, ose tanam jarum, cawan petri steril, tabung reaksi, tabung erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, pembakar spiritus, spatel drygalski, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, vorteks, autoklaf, oven, inkubator, mikropipet, batang pengaduk, *plastic wrap*, kapas, kain kasa steril, aluminium foil, mikrotip, mikroskop.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Starch Agar* (SA), NaCl, cat gram, aquadest, alkohol.

B. Prosedur Penelitian

1. Koleksi sampel

Sampel penelitian ini adalah limbah cair industri tapioka diperoleh dari pembuangan pertama limbah tapioka di Desa Sidomukti, Kecamatan Margoyoso, Kabupaten Pati. Limbah cair digunakan masih segar berwarna putih kekuningan

2. Preparasi sampel

Sampel limbah diambil langsung dari buangan pertama limbah cair tapioka selanjutnya



ditempatkan pada wadah tertutup.

3. Isolasi Mikroorganisme

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat dengan cara sebanyak 5 tabung reaksi steril masing-masing diisi NaCl fisiologis sebanyak 9 ml, lalu tabung reaksi diberi label pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} . Sampel di pipet sebanyak 1 ml lalu dimasukkan kedalam tabung pengenceran 10^{-1} dan dihomogenkan. Lalu dari tabung pengenceran 10^{-1} diambil sampel sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke tabung pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilakukan secara bertingkat hingga 10^{-5} . Sampel hasil pengenceran selanjutnya dikultur pada media *Nutrient Broth* (NB) diinkubasi 24 jam pada temperatur 37°C .

4. Purifikasi mikroorganisme

Hasil pemurnian kultur tahap pertama, selanjutnya dilakukan subkultur tahap kedua di medium *Nutrient Agar* (NA) dengan cara diambil 1ml dilanjutkan metode sebar (*spread plate*) secara aseptis diatas media padat *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 3 kali atau hingga diperoleh koloni murni yang konsisten dan tidak bercampur dengan koloni bakteri lain. Inokulum kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

5. Seleksi Mikroorganisme

a. Pengamatan morfologi

Identifikasi ini meliputi bentuk, elevasi, margin, ukuran, konsisten, warna, sifat. Lalu dilakukan pengamatan mikroskopis, meliputi morfologi sel dan warna. Bakteri Gram-positif akan berwarna biru keunguan, sedangkan bakteri Gram-negatif akan berwarna merah (Waluyo, 2005).

b. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui morfologi sel dengan cara 1 ose biakan sampel ditetaskan pada kaca objek, lalu difiksasi diatas api, ditetesi pewarnaan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya ditetesi alkohol 96% dan dibiarkan selama 10-20 detik, dicuci dengan air mengalir dan ditambahkan safranin dibiarkan selama 20-30 detik, kemudian dicuci lagi dengan menggunakan kertas serap dan ditambahkan minyak imersi, lalu diamati dibawah mikroskop. Bila pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah, maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif (Fitri dkk, 2011).

6. Uji Laktosa Fermenter dan Non- Laktosa menggunakan Media *MacConkey* (MC)

MacConkey Agar digunakan untuk isolasi bakteri gram negatif dan diferensiasi fermentasi laktosa dari bakteri gram negatif tidak memfermentasi laktosa. Sifat selektif dari media ini dikaitkan dengan kristal violet dan garam empedu yang merupakan penghambat untuk sebagian besar bakteri gram positif. Merah netral adalah indikator pH yang berwarna merah pada pH dibawah 6,8 dan tidak berwarna pada Ph lebih besar dari 6,8 (Aryal, 2018). Pengujian dilakukan dengan cara 1 ose biakan sampel diinokulasi pada media *MacConkey*(MC) dengan cara digores, selanjutnya diinkubasi 37°C selama 24 jam.

7. Uji Aktivitas Hidrolitik Menggunakan Media Selektif *Starch Agar* (SA)

Potensi enzim amilase dilakukan dengan cara koloni bakteri yang murni diinokulasi pada medium *Starch Agar*. Isolat bakteri disuspensikan dalam larutan *NaCl* fisiologis sampai kekeruhannya sama dengan kekeruhan Larutan Mac Farland 0,5 standart yang setara dengan 108 CFU. Dari tiap suspensi bakteri diambil 5 μl suspensi dengan menggunakan mikropipet, lalu ditetaskan dengan tepat pada bagian tengah cawan petri yang sudah berisi media *Starch Agar* yang disterilkan kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C . Lalu, ditetaskan beberapa tetes *Gram's iodine* sebagai indikator adanya glukosa yang dihasilkan

dari proses hidrolisis substrat oleh enzim amilase dari bakteri. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada bagian yang ditumbuhi bakteri. Hal ini menandakan bahwa isolat bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis pati yang terkandung dalam media tersebut

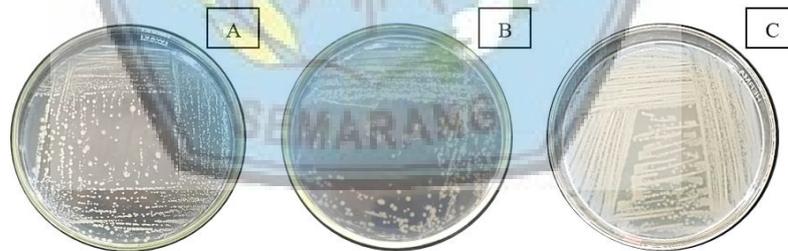
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel limbah industri tapioka memiliki karakteristik berwarna putih kekuningan, bau khas tepung, keruh dan tekstur cair bercampur sedikit ampas. Hasil isolasi bakteri yang telah dilakukan pada limbah cair industri tapioka didapatkan 3 isolat unik yang selanjutnya dilakukan tahap pemurnian agar diperoleh biakan murni yang diinginkan tanpa ada kontaminan dari mikroba lain (Ed-har *et al.*, 2017). Isolat yang terpilih memiliki karakteristik yang berbeda-beda, maka dilakukan pengamatan secara makroskopis, hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1. dan Gambar 1.

Tabel 1. Karakter Morfologi Koloni Bakteri Isolat Terpilih

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni						
		Bentuk	Warna	Ukuran	Tepi	Elevasi	Konsistensi	Sifat
1.	M2	Bulat	Kuning	0,4	Entire	Convex	Smooth	Gram negatif
2.	M3	Bulat	Kekuningan	0,3	Undulate	Convex	Rough	Gram negatif
3.	M4	Bulat	Putih cream	0,4	Entire	Raised	Smooth	Gram positif

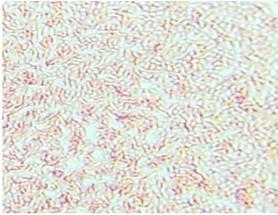
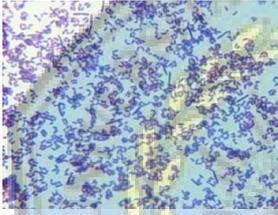
Gambar 1:
Hasil Purifikasi Mikroorganisme Limbah Cair Industri Tapioka
A. Isolat M2 B. Isolat M3 C. Isolat M4



Berdasarkan purifikasi yang telah dilakukan, didapatkan karakter morfologi koloni yang memiliki karakter yang berbeda-beda, pada isolat M2, M3 dan M4 koloni memiliki bentuk bulat, warna koloni M2 berwarna kuning, koloni M3 berwarna kekuningan dan koloni M4 berwarna putih cream, ukuran yang dimiliki koloni M2 dan M4 berukuran 0,4 cm, sedangkan koloni M3 lebih kecil yaitu 0,3 cm, tepi pada koloni M2 dan M4 utuh (*entire*) sedangkan koloni M3 berombak (*undulate*), elevasi koloni M2 dan M3 berbentuk melengkung (*convex*), namun koloni M4 berbentuk timbul datar (*raised*), konsistensi koloni M2 dan M4 halus (*smooth*), sedangkan M3 kasar (*rough*), sifat koloni M2 dan M4 memiliki sifat gram positif, sedangkan sifat koloni M3 memiliki sifat gram negatif, sehingga perlu dilakukan pengamatan secara morfologi sel pada masing-masing isolat. Pengamatan Gram pada setiap koloni bakteri hasil purifikasi bertujuan untuk mengetahui bentuk dan keseragaman sel (Darmawati dkk., 2014; Darmawati dkk., 2015). Hasil pengamatan morfologi sel secara

mikroskopis berdasarkan pengecatan Gram dapat dilihat pada Tabel 2

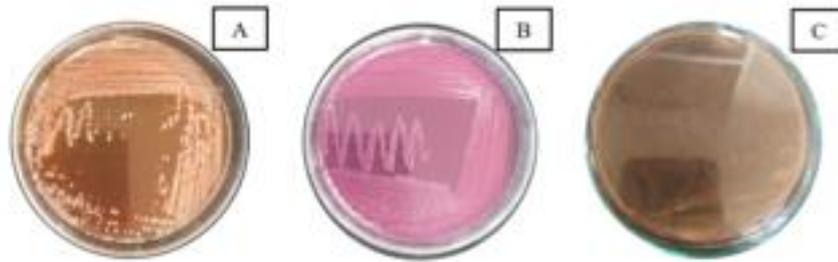
Tabel 2. Karakter Morfologi Sel Bakteri Isolat Terpilih

No	Gambar	Gram	Bentuk	Susunan
1		Negatif	Batang	Soliter
2		Negatif	Batang	Soliter
3		Positif	Batang	Soliter

Berdasarkan hasil pengecatan Gram isolat M2, M3 dan M4 memiliki bentuk batang, isolat M2 dan M3 memiliki sifat Gram negatif ditandai dengan sel berwarna merah muda, sedangkan isolat M4 memiliki sifat gram positif ditandai dengan sel berwarna ungu, dan isolat M2, M3 dan M4 memiliki susunan sel soliter. Mekanisme pewarnaan gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram negatif mengandung lipid atau substansi seperti lemak lebih tinggi daripada yang terkandung pada bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih tipis daripada dinding sel bakteri gram positif. Pada proses pewarnaan, perlakuan dengan etanol (alkohol) terhadap bakteri Gram negatif menyebabkan terekstrasinya lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel bakteri gram negatif. Jadi kompleks ungu kristal violet yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan dapat diekstraksi. Karena itu bakteri gram negatif kehilangan warna tersebut (Pelczar, 2010). Setelah dilakukan pengecatan Gram, dilakukan uji fermentasi laktosa dengan media MacConkey (MC) untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi laktosa. Hasil uji fermentasi laktosa ditunjukkan pada Gambar 2.

Gambar 2. Hasil Uji Fermentasi Laktosa Menggunakan Media MacConkey(MC)

A. Isolat M2 B. Isolat M3 C. Isolat M4



Berdasarkan hasil uji fermentasi laktosa menggunakan media MacConkey (MC) didapatkan hasil pada isolat kode M2 dan M4 tidak dapat memfermentasikan laktosa ditandai dengan hasil uji bakteri tidak memperlihatkan perubahan pada media, hanya isolat kode M3 yang dapat memfermentasikan laktosa ditandai dengan bakteri berwarna merah muda. Umumnya bakteri yang mampu melakukan fermentasi laktosa merupakan bakteri tidak patogen (Pamungkas dkk, 2018). Setelah uji patogenitas bakteri kemudian isolat yang mampu memfermentasi laktosa ditumbuhkan pada media selektif *Starch Agar* (SA) untuk mengetahui kemampuannya menghasilkan enzim amilase. Hasil uji aktivitas hidrolitik dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Hidrolitik Menggunakan Media Selektif SA. A. Isolat M2
B. Isolat M3 C. Isolat M4



Berdasarkan hasil uji aktivitas hidrolitik menggunakan media selektif *Starch Agar* (SA) menunjukkan 3 isolat terpilih mampu tumbuh dalam media selektif, namun hanya satu isolat yang dapat menghasilkan zona bening ketika diuji kualitatif dengan ditetesi larutan iodine, isolat yang memiliki aktivitas amilolitik tersebut yaitu isolat kode M3 dengan diameter zona bening 25 mm. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu menghidrolisis pati menjadi senyawa lebih sederhana yaitu glukosa (Sulistyaningtyas & Wilson, 2018). Sedangkan media yang berwarna biru kehitaman menandakan pati belum terhidrolisis. Sedangkan isolat kode M2 dan M4 menunjukkan bahwa tidak ada reaksi hidrolisis pati oleh enzim amilase yang dapat dihasilkan dari bakteri tersebut.

KESIMPULAN

Bakteri indigen yang dapat diisolasi dari limbah cair industri tapioka sebanyak 3 isolat yaitu M1, M2 dan M3. Bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi sebanyak 1 isolat yaitu isolate M3.

DAFTAR PUSTAKA



- Adnan, N. S., Wahyuni, S., and Khaeruni, A. 2018. Pengujian Sifat Amilolitik Dan Proteolitik Dari Isolat Bakteri Asam Laktat (Bal) Hasil Fermentasi Air Cucian Beras Merah (*Oryza nivara*) Kultivar Wakawondu. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 2(5).pp. 759-769.
- Agustira, R., and Lubis, K. S. 2013. Kajian Karakteristik Kimia Air, Fisika Air dan Debit Sungai pada Kawasan DAS Padang Akibat Pembuangan Limbah Tapioka. *Agroekoteknologi*, 1(3).
- Ariandi, A. 2017. Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-Amylase) Dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 7(1), 74-82.
- Bahri, S., Mirzan, M., and Hasan, M. 2012. Karakterisasi enzim amilase dari kecambah biji jagung ketan (*zea mays ceratina l.*). *Jurnal Natural Science*, 1(1), 132-143.
- Cesaria, R. Y., Wirosedarmo, R., and Suharto, B. 2014. Pengaruh penggunaan starter terhadap kualitas fermentasi limbah cair tapioka sebagai alternatif pupuk cair. *Jurnal Sumber Daya Alam dan Lingkungan*, 1(2), 8-14.
- Choirunnisa, H. N., Sari, R. Y., Hastuti, U. S., and Witjoro, A. W. 2018. Identifikasi dan Uji Kemampuan Hidrolisis pada Bakteri Amilolitik dan Proteolitik yang Diisolasi dari Wadi, Makanan Khas Kalimantan Tengah. *bionature*, 18(2).
- Doraja, P. H., Shovitri, M., and Kuswytasari, N. D. 2012. Biodegradasi limbah domestik dengan menggunakan inokulum alami dari tangki septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 1(1), E44-E47.
- Ethica, S. N., and Sabdono, A. 2017. Bio-Remediation Potential of Hydrolytic Bacteria Isolated from Hospital Liquid Biomedical Waste in Central Java. In *Proceedings of the 3rd World Congress on New Technologies*.
- Ethica, S. N., Saptaningtyas, R., Muchlissin, S. I., and Sabdono, A. 2018. The development method of bioremediation of hospital biomedical waste using hydrolytic bacteria. *Health and Technology*, 8(4), 239-254.
- Fatmawati, F., Warganegara, F. M., and Puspasari, M. 2016. Identifikasi Bakteri Potensial Penghasil Enzim Amilase, Selulase, Xilanase dan Lipase Pada Fase Termofilik Kompos Manur Sapi. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 16(1), 69-76.
- Fidiastuti, H. R. 2014. Potensi bakteri indigen dalam biodegradasi air sungai. *Saintifika*, 16(1).
- Fidiastuti, H. R., and Suarsini, E. 2017. Potensi bakteri indigen dalam mendegradasi limbah cair pabrik kulit secara in vitro. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 3(1), 1-10.
- Ikhlis, N., Sumiyati, S., and Sutrisno, E. 2014. Penurunan COD Limbah Cair Tapioka Dengan Teknologi Biofilm Menggunakan Media Biofilter Susunan Honeycomb Potongan Bambu Dan Penambahan Effective Microorganism (EM-4). *Jurnal Teknik Lingkungan*, 3(4), 1-12.
- Irdawati, I., Fifendy, M., and Yenti, N. 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan. *EKSAKTA*, 1, 73.
- Khoiroh, Z. 2014. *Bioremediasi logam berat timbal (Pb) dalam lumpur Lapindo menggunakan campuran bakteri (Pseudomonas pseudomallei dan Pseudomonas aeruginosa)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Lewaru, S., Riyantini, I., and Mulyani, Y. 2012. Identifikasi bakteri indigen pereduksi logam berat Cr (VI) dengan metode molekuler di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 3(4).



- Mahmudah, R., Baharuddin, M., and Sappewali, S. 2016. Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4(1), 31-42.
- Maula, A., Hidayat, N., and Anggraini, S. 2014. Bioremediasi Logam Kromium pada Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit menggunakan Isolat Bakteri Indigenous. *Teknologi Industri Pertanian FTP UB*.
- Natsir, H. 2014. Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Panggo, Sulawesi Selatan. *Seminar Nasional Biokimia Uin Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Putri, Y.S. and Kes, M., 2012. Skrining dan Uji Aktivitas Enzim Protease Bakteri dari Limbah Rumah Pemotongan Hewan. *Jurnal Skripsi*, pp.2-13.
- Puspawiningtyas, E., and Ma'ruf, A. 2013. Kajian Awal Pemanfaatan Limbah Tepung Tapioka Sebagai Substrat Pembuatan Nata. *Techno (Jurnal Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Purwokerto)*, 14(2), 42-51.
- Priadie, B. 2012. Teknik bioremediasi sebagai alternatif dalam upaya pengendalian pencemaran air. *Jurnal ilmu lingkungan*, 10(1), 38-48.
- Priyo, F. A., Suharto, B., and Susanawati, L. D. 2016. Pengaruh Variasi Waktu Tinggal Terhadap Kadar BOD dan COD Limbah Tapioka dengan Metode Rotating Biological Contactor. *Jurnal Sumber Daya Alam dan Lingkungan*, 2(1), 21-26.
- Subagiyo, S., Djarod, M. S. R., and Setyati, W. A. 2017. Potensi Ekosistem Mangrove Sebagai Sumber Bakteri Untuk Produksi Protease, Amilase Dan Selulase. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20(2), 106-111.
- Sulistyaningtyas, A. R., Prihastanti, E., and Hastuti, E. D. 2018. Potential of liquid tofu waste for decaffeination of Robusta coffee (*Coffea robusta* Lindl. Ex De Will). *Journal of Microbiology, Biotechnology & Food Sciences*, 8(1).
- Sulistyaningtyas, A. R., and Wilson, W. 2018. The Potential of Liquid Tofu Waste in Increasing Antioxidant Activity of Robusta Green Coffee. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 10(2), 356-361.
- Sutanto, A. 2012. Degradasi Bahan Organik Limbah Cair Nanas oleh Bakteri Indigen. *el-Hayah*, 1(4).
- Wahyuna, D., and Agustien, A. 2012. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termo-Proteolitik Sumber Air Panas Sungai Medang, Sungai Penuh, Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 1(2).
- Yasid, M. 2014. Peranan Isolat Bakteriindigenous Sebagai Agen Bioremediasi Perairan Yang Terkontaminasi Uranium. *GANENDRA Majalah IPTEK Nuklir*, 17(1).
- Zahidah, D., and Shovitri, M. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob sebagai Pendegradasi Limbah Organik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(1), E12-E15.

