

# Karakterisasi Bakteri Tanah Penghasil Enzim Hidrolitik yang Diisolasi dari Pulau Muna, Sulawesi Tenggara, Indonesia

## Characterization of Hydrolytic Enzyme Producing-Bacteria Isolated from Soil of Muna Island, Southeast Sulawesi, Indonesia

MUHAMMAD ARYA WIBOWO, JEPRI AGUNG PRIYANTO\*, SRI BUDIARTI

*Divisi Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680*

Diterima 18 Maret 2024/Diterima dalam Bentuk Revisi 1 April 2024/Disetujui 4 April 2024

Soil bacteria are considered a promising source of extracellular enzymes, such as amylase, cellulase, and protease. In this study, 15 bacterial strains isolated from the soil of Muna Island, Southeast Sulawesi, Indonesia, were preliminary screened for amylolytic, cellulolytic, and proteolytic activities. The present study aimed to characterize cellular morphology, determine hemolytic characteristics, and to screen amylolytic, proteolytic, and cellulolytic activities of bacterial strains isolated from the soil of Muna Island. Based on the Gram staining procedure, 15 bacterial strains exhibited diverse cellular morphologies. Ten out of 15 strains belonged to Gram-positive bacilli, while the others belonged to Gram-negative bacteria (bacilli or cocci). Four strains, encoded as M7, P4, P5, and P7, were hemolytic negative. These potential strains exhibited different capabilities in producing extracellular enzymes. The four strains were capable of producing protease, while amylase and cellulase were only produced by two strains (M7 and P7). These strains have good prospects for further study and development for industrial and biotechnological applications.

Key words: amylase, *Bacillus*, cellulase, protease, soil

### PENDAHULUAN

Tanah merupakan biomaterial kompleks pada ekosistem yang tersusun atas bahan organik, partikel anorganik, mineral dan mikroflora. Tanah termasuk habitat favorit berbagai mikroorganisme, termasuk diantaranya bakteri. Umumnya, tanah mengandung bakteri sebanyak  $10^6$  hingga  $10^8$  Colony Forming Unit (CFU)/g (Janssen *et al.* 2002). Bakteri-bakteri tersebut berperan penting dalam proses dekomposisi bahan organik, fiksasi nitrogen, pelarutan fosfat, pendukung pertumbuhan tanaman, dan penghasil metabolit sekunder (Aarti *et al.* 2020). Oleh karena itu, lingkungan ini dapat menjadi sumber bakteri potensial khususnya yang mampu menghasilkan enzim-enzim hidrolitik.

Bakteri tanah berperan penting dalam siklus biogeokimia untuk menjaga keseimbangan ekosistem dan meningkatkan kesuburan tanah (Hakeem *et al.* 2016). Bakteri indigenous tanah dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim-

enzim hidrolitik. Enzim adalah protein fungsional yang berperan penting sebagai biokatalisator suatu reaksi untuk menghasilkan suatu produk. Enzim bakteri relatif lebih stabil dibandingkan dengan katalis kimia dan dapat diproduksi dalam waktu singkat sesuai dengan karakteristik yang diinginkan (Niyonzima 2019). Diantara beragam jenis enzim yang dapat dihasilkan oleh bakteri tanah, enzim amilase, selulase, dan proteinase menarik perhatian para peneliti dan pelaku industri, karena enzim-enzim tersebut berperan penting dalam industri makanan, susu, kertas, deterjen, tekstil, dan biofuel (Alves *et al.* 2014; Singh dan Kumari 2016; Al-Dhabi *et al.* 2019).

Populasi dan keragaman bakteri tanah dipengaruhi oleh struktur, kandungan bahan organik, kelembaban, kation, dan pH Tanah (Lladó *et al.* 2017; Talwar dan Chatli 2018). Tanah di Pulau Muna, Sulawesi Tenggara memiliki struktur yang unik berupa tanah kering berkapur dengan pH basa. Pulau ini juga memiliki lanskap yang khas berupa perbukitan karst (Purwaningsih *et al.* 2022). Oleh karena itu, lingkungan ini dapat menjadi sumber potensial bakteri-bakteri unggul yang mampu menghasilkan

\*Penulis korespondensi:

E-mail: jepriyanto@apps.ipb.ac.id

enzim-enzim hidrolitik yang tahan terhadap kondisi alkalin sehingga eksplorasi bakteri indigenous penghasil enzim-enzim hidrolitik perlu dilakukan di lokasi tersebut. Pada penelitian sebelumnya, 15 isolat bakteri telah berhasil diisolasi dari tanah Pulau Muna, Sulawesi Tenggara. Beberapa isolat tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen resisten antibiotik (Hening *et al.* 2024), antioksidan dan sitotoksik (Priyanto *et al.* 2024). Namun, karakterisasi morfologi sel, patogenisitas, dan potensinya sebagai penghasil enzim hidrolitik belum dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengarakterisasi morfologi sel, menganalisis patogenisitas, dan menentukan potensi bakteri tanah tersebut sebagai penghasil enzim selulase, amilase, dan protease.

## BAHAN DAN METODE

**Bahan.** Lima belas isolat bakteri tanah yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil isolasi dari tanah, Pulau Muna, Kabupaten Buton Tengah, Sulawesi Tenggara, Indonesia (*latitude*: 4°54'48.8"S, *longitude*: 122°39'56.7"E). Proses isolasi telah dilakukan pada penelitian sebelumnya (Hening *et al.* 2024).

**Karakterisasi Morfologi Sel Isolat Bakteri Tanah.** Karakterisasi morfologi sel 15 isolat bakteri tanah dilakukan melalui pewarnaan Gram. Koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada medium nutrient agar (NA) selama 18 jam digunakan untuk pewarnaan Gram. Koloni bakteri tersebut selanjutnya difiksasi pada kaca preparat, kemudian ditetesi dengan serangkaian zat pewarna dan larutan, antara lain kristal violet, lugol, alkohol, dan safranin. Bentuk dan penataan sel bakteri diamati di bawah mikroskop cahaya (Olympus CX31) dengan perbesaran 1000x.

**Uji Hemolisis.** 15 isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam pada medium NA digoreskan di atas medium *blood agar base*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas hemolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Hasil uji hemolisis melalui prosedur ini dapat digolongkan ke dalam tiga jenis reaksi hemolisis, antara lain lisis sempurna ( $\beta$ -hemolisis); lisis sebagian ( $\alpha$ -hemolisis); tidak lisis atau negatif ( $\gamma$ -hemolisis) (Getriani *et al.* 2023).

**Uji Kualitatif Amilase.** Masing-masing isolat bakteri digoreskan membulat pada permukaan medium NA (Oxoid) yang ditambahkan dengan 1% (b/v) pati. Kultur tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam. Setelah inkubasi, permukaan agar ditetesi dengan reagen iodium. Adanya aktivitas amilolitik diindikasikan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Diameter zona

bening selanjutnya diukur menggunakan penggaris dalam satuan milimeter (mm) (Saha *et al.* 2019).

**Uji Kualitatif Selulase.** Aktivitas selulase 15 isolat bakteri tanah diuji pada medium nutrient agar (Oxoid) yang ditambah dengan 1% (b/v) *carboxymethyl cellulose* (CMC). Isolat bakteri digoreskan membulat ke permukaan medium tersebut dan diinkubasi pada suhu ruang ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam. Permukaan agar selanjutnya ditetesi dengan larutan 1% *congo red*, lalu didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya cawan dibilas dengan larutan NaCl 1 M. Adanya aktivitas selulolitik diindikasikan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Diameter zona bening diukur menggunakan penggaris dalam satuan milimeter (mm) (Ghimire *et al.* 2016).

**Uji Kualitatif Protease.** Aktivitas selulase 15 isolat bakteri tanah diuji pada medium nutrient agar (Oxoid) dengan penambahan 1% (b/v) susu skim. Masing-masing isolat bakteri digoreskan membulat pada permukaan medium tersebut dan diinkubasi pada suhu ruang diinokulasi dan diinkubasi pada suhu ruang ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri selanjutnya diukur diameternya dalam satuan milimeter (mm) (Masi *et al.* 2021).

**Analisis Data.** Uji kualitatif amilase, selulase, dan protease masing-masing dilakukan dengan 3 ulangan. Indeks amilolitik (IA), selulolitik (IS), dan proteolitik (IP) ditentukan menggunakan rumus dibawah ini:

$$\text{Indeks hidrolitik} = \frac{\text{Diameter zona bening (mm)} - \text{Diameter koloni (mm)}}{\text{Diameter zona bening (mm)}}$$

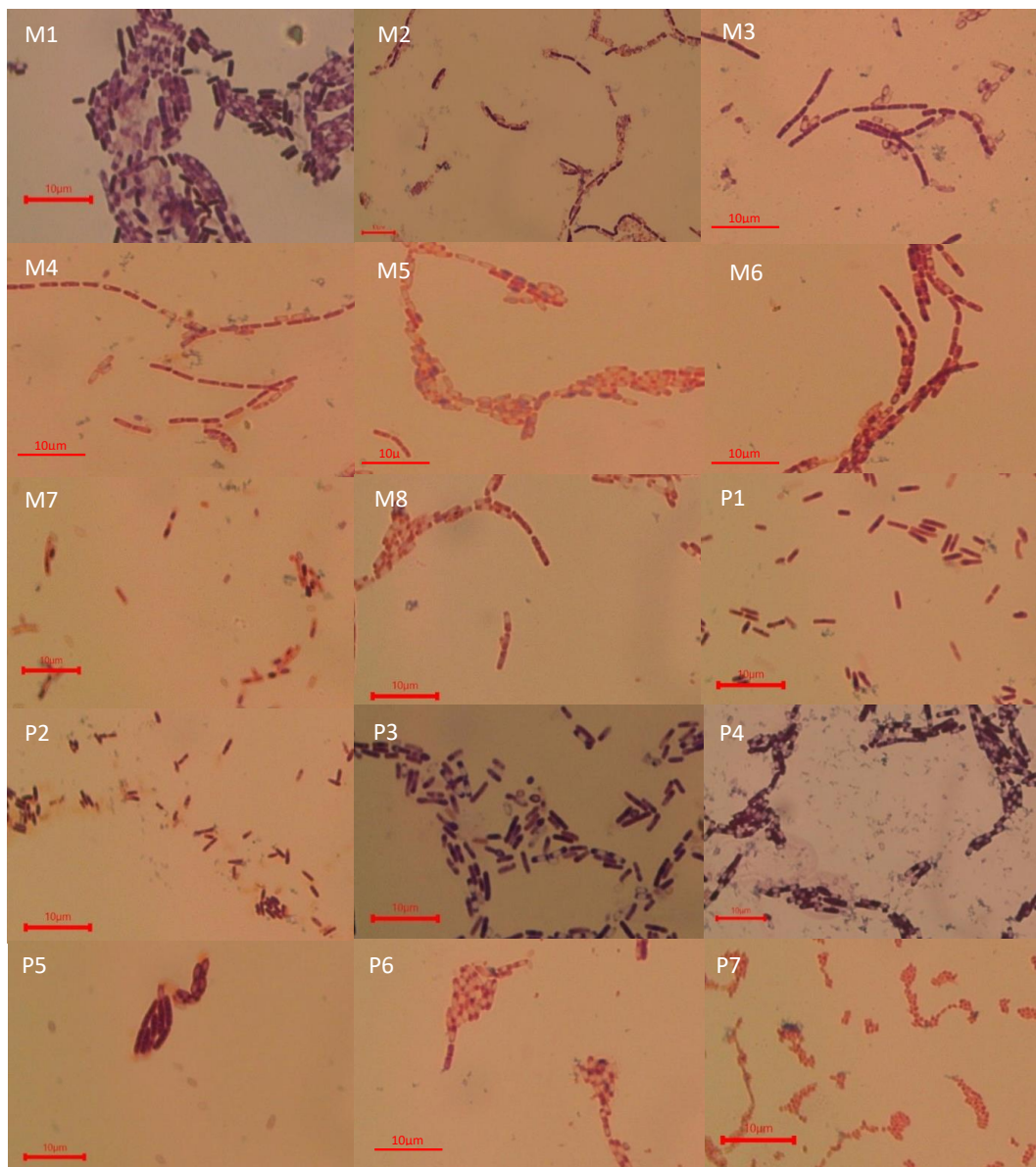
## HASIL

**Morfologi dan Penataan Sel Bakteri Tanah Pulau Muna.** Isolat-isolat bakteri tanah dari Pulau Muna memiliki karakter morfologi dan penataan sel yang beragam. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan 10 isolat bakteri tergolong ke dalam kelompok Gram positif dan 5 isolat lainnya tergolong Gram negatif (Tabel 1). Satu isolat bakteri (P7) memiliki sel berbentuk bulat dan 14 isolat bakteri lainnya berbentuk batang (Gambar 1). Penataan sel isolat-isolat tersebut juga bervariasi, antara lain tunggal, berantai, berpasangan, dan bergerombol.

**Karakter Hemolisis.** Empat dari 15 isolat bakteri yaitu M7, P4, P5, dan P7 termasuk gamma hemolisis atau hemolisis negatif (tidak mampu melisis sel darah merah), 8 isolat (M2, M3, M4, M5, M6, P1, P2, dan P3) tergolong alfa hemolisis, dan 3 isolat lainnya (M8, P6, dan M1) tergolong beta hemolisis (Gambar 2). Oleh karena itu, 11 isolat ini tidak digunakan dalam analisis selanjutnya. Namun, empat isolat dengan hemolisis negatif digunakan pada uji kualitatif amilase, selulase, dan protease.

Tabel 1. Morfologi dan penataan sel bakteri tanah dari Pulau Muna, Sulwaesi Tenggara

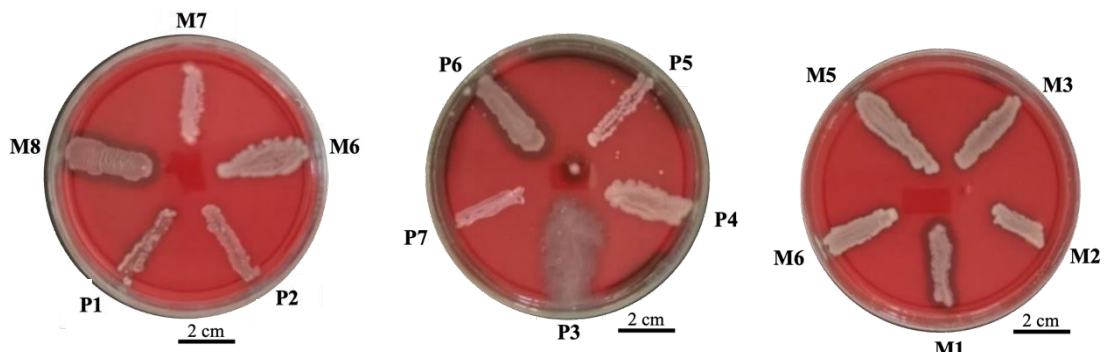
Kode isolat	Morfologi sel		
	Kelompok Gram	Bentuk	Penataan
M1	Positif	Batang	Tunggal
M2	Positif	Batang	Berantai
M3	Positif	Batang	Berantai
M4	Negatif	Batang	Berantai
M5	Negatif	Batang	Berantai
M6	Positif	Batang	Berantai
M7	Positif	Batang	Berpasangan
M8	Negatif	Batang	Berantai
P1	Positif	Batang	Tunggal
P2	Positif	Batang	Tunggal
P3	Positif	Batang	Tunggal
P4	Positif	Batang	Bergerombol
P5	Positif	Batang	Bergerombol
P6	Negatif	Batang	Bergerombol
P7	Negatif	Bulat	Bergerombol



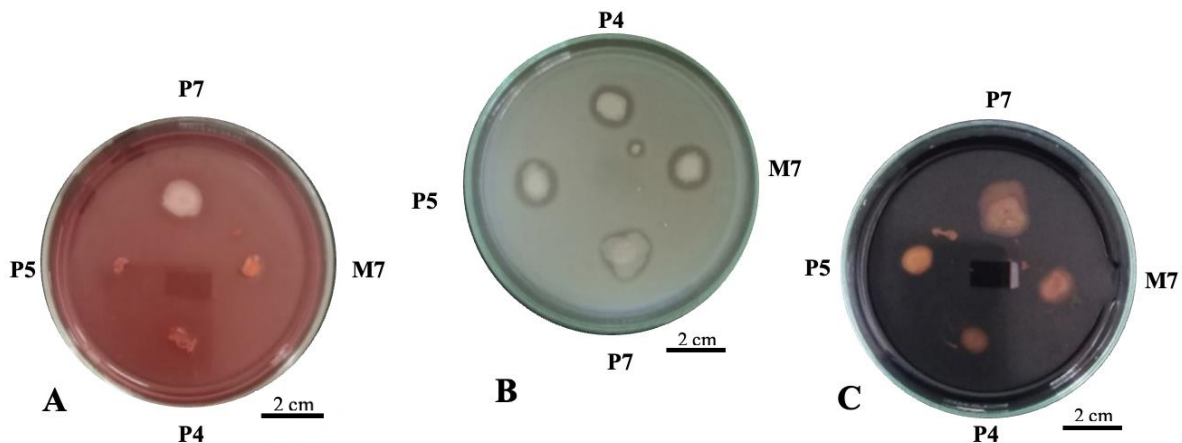
Gambar 1. Morfologi dan penataan sel bakteri tanah dari Pulau Muna, Sulawesi Tenggara yang diamati menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran total 1000X

**Aktivitas Hidrolitik.** Empat isolat bakteri terpilih (M7, P7, P4, dan P5) memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menghasilkan enzim amilase, selulase dan protease. Keempat isolat tersebut mampu menghasilkan enzim protease yang diindikasikan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri tersebut (Gambar 3). Aktivitas proteolitik tertinggi ditunjukkan oleh isolat P4 dan P5 dengan indeks proteolitik (IP) yang sama yaitu 0,6, diikuti oleh isolat M7 dan P7 dengan IP berturut-turut 0,5 dan 0,4. Disisi lain, meskipun isolat P4 dan P5 dapat

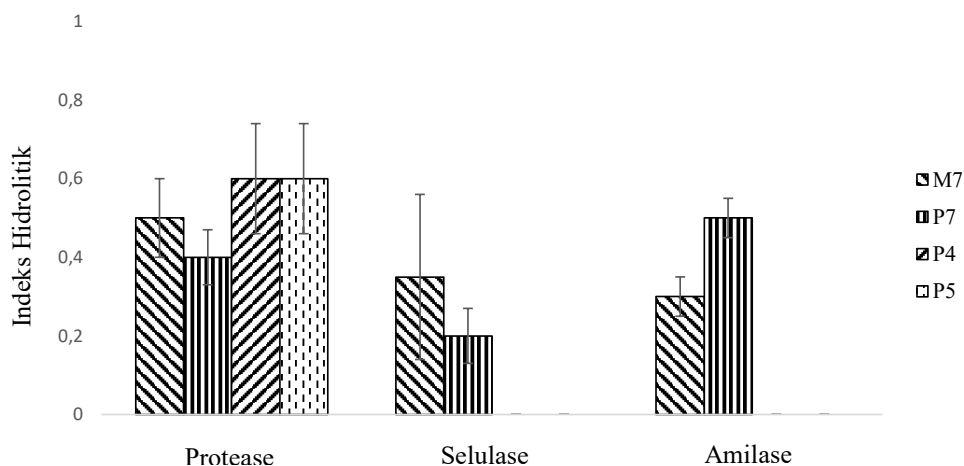
menghidrolisis protein dengan baik, kedua isolat tersebut tidak memiliki aktivitas selulolitik dan amilolitik. Aktivitas selulolitik dan amilolitik hanya ditunjukkan oleh dua isolat yaitu M7 dan P7. Isolat P7 memiliki indeks amilolitik (IA) yang lebih baik dibandingkan dengan M7, dengan IA masing-masing sebesar 0,5 dan 0,3. Selain itu, kedua isolat tersebut juga memiliki aktivitas selulolitik dengan indeks selulolitik (IS) masing-masing 0,3 untuk isolat M7 dan 0,2 untuk isolat P7 (Gambar 4).



Gambar 2. Karakter hemolisis isolat bakterin tanah Pulau Muna, Sulawesi Tenggara



Gambar 3. Aktivitas (A) selulolitik, (B) proteolitik, dan (C) amilolitik dari empat isolat bakteri tanah Pulau Muna, Sulawesi Tenggara



Gambar 4 Indeks hidrolitik empat isolat bakteri tanah Pulau Muna, Sulawesi Tenggara

## PEMBAHASAN

Lima belas isolat bakteri tanah dari Pulau Muna, Sulwaesi Tenggara, bervariasi dalam morfologi dan penataan sel, serta reaksinya terhadap pewarnaan Gram. Sepuluh dari 15 isolat termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif batang. Berdasarkan karakteristik morfologinya, sepuluh isolat tersebut diduga termasuk ke dalam kelompok *Bacillus*. Hal ini didukung oleh beberapa penelitian sebelumnya yang juga melaporkan bahwa kelompok bakteri ini banyak ditemukan sebagai kelompok bakteri yang paling dominan di tanah (Liu *et al.* 2019). Kelompok bakteri ini juga umumnya termasuk ke dalam bakteri yang bermanfaat karena dapat berperan dalam meningkatkan kesuburan tanah, memacu pertumbuhan tanaman, dan mengendalikan fitopatogen (Saxena *et al.* 2020). Dominansi *Bacillus* di tanah kemungkinan didukung oleh kemampuannya dalam membentuk endospora yang membuatnya lebih tahan terhadap berbagai cekaman lingkungan, termasuk cekaman kekeringan, sehingga membuatnya bertahan lebih lama pada lingkungan tersebut (Mahapatra *et al.* 2022). Meskipun demikian, 10 isolat tersebut dan 5 isolat bakteri tanah lainnya masih perlu dikarakterisasi dan diidentifikasi lebih lanjut, misalnya melalui pendekatan molekuler maupun fisiologis.

Salah satu syarat pemanfaatan bakteri dalam berbagai bidang industri adalah sifatnya yang non-patogen. Hemolisin merupakan salah satu faktor virulensi bakteri patogen yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah (Motamedi *et al.* 2018). Pada penelitian ini, investigasi kemampuan hemolisis dari 15 isolat bakteri tanah telah dilakukan. Empat dari 15 isolat bakteri yaitu M7, P4, P5, dan P7 memiliki karakter gamma hemolisis atau hemolisis negatif (tidak mampu melisis sel darah merah) sehingga kemungkinan empat isolat tersebut merupakan bakteri nonpatogen. Oleh karena itu, keempat isolat ini dipilih lebih lanjut pada tahapan analisis berikutnya. Disisi lain, 8 dan 3 isolat lainnya tergolong alfa dan beta hemolisis sehingga tidak dipilih pada tahap penelitian selanjutnya. Alfa hemolisis terjadi karena produksi hidrogen peroksida oleh bakteri yang dapat mengoksidasi hemoglobin sel darah merah menjadi metahemoglobin yang menyebabkan perubahan warna medium disekitar koloni bakteri menjadi berwarna hijau atau kecokelatan dan dapat menyebabkan lisis sebagian sel darah merah, sedangkan beta-hemolisis terjadi karena lisisnya sel darah merah secara sempurna oleh hemolisin bakteri yang menyebabkan kerusakan membran sel darah merah sehingga menyebabkan lisisnya sel darah merah tersebut dan menyebabkan terbentuknya zona jernih/transparan disekitar pertumbuhan koloni (Lad *et al.* 2022). Beberapa bakteri patogen mampu menghasilkan protein hemolisin,

antara lain strain *Uropatogenik Escherichia coli* (UPEC) (Saffioti *et al.* 2022), *Staphylococcus aureus* (Zhang *et al.* 2016), *Edwardsiella tarda* (Chen *et al.* 2018), dan *Aeromonas hydrophila* (Li *et al.* 2023)

Empat isolat bakteri tanah (M7, P7, P4, dan P5) dari Pulau Muna mampu menghasilkan enzim protease. Namun, enzim selulase dan amilase hanya mampu diproduksi oleh isolat M7 dan P7. Adanya kemampuan dalam menghidrolisis substrat berupa protein, selulosa, dan amilum mengindikasikan bahwa isoat-isolat tersebut berperan penting dalam proses biodegradasi atau dekomposisi bahan organik tanah. Berbagai penelitian sebelumnya juga telah melaporkan bahwa bakteri-bakteri yang diisolasi dari tanah Taman Durian Jombang, seperti *Bacillus anthracis*, *B. Cereus*, *B. paranthracis*, *B. Paramycoides*, dan *Enterobacter asburiae*, mampu menghasilkan enzim selulase, protease, amilase, dan lipase (Ni'matuzahroh *et al.* 2024). Isolat bakteri indigenous lainnya yaitu *B. Thuringiensis*, *B. Lentus*, *B. Sphaericus*, dan *Corynebacterium ilosum* yang diisolasi dari sedimen di Tenggulrejo, Gresik, mampu menghasilkan enzim amilase, protease dan selulase (Artha *et al.* 2019). Oleh karena itu, tanah dapat menjadi sumber potensial bakteri-bakteri penghasil enzim, terutama enzim selulase, amilase, dan protease. Keempat isolat bakteri tanah dari Pulau Muna yang telah diketahui mampu menghasilkan enzim hidrolitik dapat diteliti dan dikembangkan lebih lanjut, terutama stabilitas struktur enzim dan aktivitasnya pada pH asam atau basa, sehingga dapat dimanfaatkan untuk keperluan industri pangan, tekstil, maupun produksi etanol di masa depan.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tanah yang dikoleksi dari Pulau Muna, Sulawesi Tenggara dapat menjadi sumber potensial bakteri penghasil enzim hidrolitik, antara lain, selulase, amilase, dan protease. Lima belas isolat bakteri dari lingkungan tersebut memiliki morfologi dan penataan sel yang beragam, dan didominasi oleh bakteri Gram positif batang. Empat isolat non-hemolitik mampu menghasilkan protease, dan dua diantaranya mampu menghasilkan amilase dan selulase. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan untuk mengidentifikasi isolat-isolat bakteri potensial tersebut, mengarakterisasi struktur enzim dan kondisi optimumnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Inovasi, IPB University, yang telah mendukung penelitian ini melalui Program Penelitian Riset Kolaborasi Nasional 2023-2024 yang diberikan kepada Jepri Agung Priyanto.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aarti C, Khusro A, Agastian P, Darwish NM, Al Farraj DA. 2020. Molecular diversity and hydrolytic enzymes production abilities of soil bacteria. *Saudi J Biol Sci* 27:3235-3248.
- Alves PDD, Siqueira FF, Facchin S, Horta CCR, Victória JMN, Kalapothakis E. 2014. Survey of microbial enzymes in soil, water, and plant microenvironments. *Open Microbiol J* 8:25-31.
- Artha AO, Sudarno, Pramono H, Sari LA. 2019. Identification of extracellular enzyme-producing bacteria (proteolytic, cellulolytic, and amylolytic) in the sediment of extensive ponds in Tanggulejo, Gresik. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 236:012003.
- Chen S, Yang D, Wen Y, Jiang Z, Zhang L, Jiang J, Chen Y, Hu T, Wang Q, Zhang Y, Liu Q. 2018. Dysregulated hemolysin liberates bacterial outer membrane vesicles for cytosolic lipopolysaccharide sensing. *PLoS Pathog* 14:1-23.
- Getriani Z, Priyanto JA, Budiarti S. 2023. Deteksi bakteri Gram-negatif pada permukaan daun kemangi (*Ocimum basilicum*) dari tiga pasar tradisional di Bogor. *J Sumberdaya HAYATI* 9:138-144.
- Ghimire S, Bhattarai S, Phuyal S, Thapa B, Shrestha BG. 2016. Isolation dan screening of potential cellulolytic dan xylanolytic bacteria from soil sample for degradation of lignocellulosic biomass. *J Trop Life Sci* 6:165-169.
- Hening ENW, Priyanto JA, Prastya ME, Astuti RI, Hasidu LOAF, Jamilah. 2024. Soil bacteria from Muna Island, Southeast Sulawesi, Indonesia: antibacterial and antibiofilm activities, and the presence of antibiotic-biosynthetic genes. *J Appl Pharmaceut Sci* 14:207-217.
- Hakeem K, Akhtar J, Sabir M. 2016. Soil Science: Agricultural and Environmental Perspectives. Cham: Springer.
- Janssen PH, Yates PS, Grinton BE, Taylor PM, Sait M. 2002. Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia. *Appl Environ Microbiol* 68:2391-2396.
- Lad V, Panchal D, Pithawala M, Dwivedi MK, Amaresan N. 2022. Determination of Hemolytic Activity. Dalam: Dwivedi, M.K., Amaresan, N., Sankaranarayanan, A., Begum, R. (Eds.), *Biosafety Assessment of Probiotic Potential*. Springer Protocols, New York: Humana. p 43-46.
- Li M, Li D, Li F, Liu W, Wang S, Wu G, Wu G, Tan G, Zheng Z, Li L, Pan Z, Liu Y. 2023. Hemolysin from *Aeromonas hydrophila* enhances the host's serum enzyme activity and regulates transcriptional responses in the spleen of *Cyprinus rubrofasciatus*. *Ecotoxicol Environ Safety* 263:1-12.
- Lladó S, López-Mondéjar R, Baldrian P. 2017. Forest soil bacteria: diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change. *Microbiol Mol Biol Rev* 81:1-27.
- Liu J, Cui X, Liu Z, Guo Z, Yu Z, Yao Q, Sui Y, Jin J, Liu X, Wang G. 2019. The diversity and geographic distribution of cultivable *Bacillus*-like bacteria across black soils of Northeast China. *Front Microbiol* 10:1-11.
- Mahapatra S, Yadav R, Ramakrishna W. 2022. *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *J Appl Microbiol* 132:3543-3562.
- Masi C, Gemechu G, Tafesse M. 2021. Isolation, screening, characterization, and identification alkaline protease-producing bacteria from leather industry effluent. *Ann Microbiol* 71:1-11.
- Motamedi H, Asghari B, Tahmasebi H, Arabestani MR. 2018. Identification of hemolysin genes and their association with antimicrobial resistance pattern among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in West of Iran. *Adv Biomed Res* 19:1-8.
- Niyonzima FN. 2019. Production of microbial industrial enzymes. *Acta Sci Microbiol* 12:75-89.
- Ni'matuzahroh, Affandi M, Supriyanto A, Rustantina B, Jaiyah LA, Rahmawati A, Nurhayati H, Sari SK, Khibtiyah AM, Huri D. 2024. Biodiversity of hydrolytic enzymes-producing soil bacteria from a Durian Park, Jombang, Indonesia: Beneficial prospect for sustainable agriculture. *Biodiversitas* 25:392-403.
- Priyanto JA, Hening ENW, Permatasari V, Prastya ME, Hasidu LOAF, Primahana G. 2024. Aktivitas antioksidan dan sitotoksitas ekstrak bakteri tanah asal Pulau Muna, Sulawesi Tenggara. *Jurnal Ilmu Dasar* 25:7-16.
- Purwaningsih S, Sutisna E, Nugroho AA. 2022. Characterization, diversity, and effectiveness phosphate solubilizing bacteria from the soil and rhizosphere on the growth of *Glycine max* L. in greenhouse. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 976:1-8.
- Saha M, Islam K, Akter T, Rahman I, Islam T, Khan T. 2019. Isolation and identification of amylolytic bacteria from garbage and garden soil. *Bangladesh J Botany* 48:537-545.
- Saffioti NA, Lauri N, Cane L, Gonzales-Lebrero R, Alleva K, Mouro-Chanteloup I, Ostuni MA, Herlax V, Schwarzbaum PJ. 2022. Interactive dynamics of cell volume and cell death in human erythrocytes exposed to  $\alpha$ -hemolysin from *Escherichia coli*. *Int J Mol Sci* 23:1-19.
- Saxena AK, Kumar M, Chakdar H, Anuroopa N, Bagyaraj DJ. 2020. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *J Appl Microbiol* 128:1583-1594.
- Singh P, Kumari P. 2016. Isolation and characterization of amylase producing *Bacillus* spp. from selected soil sample. *Int J Res Biosci* 5:24-29.
- Talwar HK, Chatli AS. 2018. Microflora of soil: a review. *Int J Adv Res* 6:1502-1520.
- Zhang H, Zheng Y, Gao H, Xu P, Wang M, Li A, Miao M, Xie X, Deng Y, Zhou H, Du H. 2016. Identification and characterization of *Staphylococcus aureus* strains with an incomplete hemolytic phenotype. *Front Cell Infect Microbiol* 6:1-7.