



**ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM PROTEASE PADA  
ONCOM MERAH PASCA FERMENTASI 120 JAM DAN  
IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI  
BERBASIS GEN 16S rRNA**



Aulia Harun  
G1C217306

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG  
2018**

**\*Corresponding Author:**

Aulia Harun

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharon13@gmail.com](mailto:auliaharon13@gmail.com)

<http://repository.unimus.ac.id>

## HALAMAN PERSETUJUAN

*Manuscript* dengan judul

### **ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM PROTEASE PADA ONCOM MERAH PASCA FERMENTASI 120 JAM DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI BERBASIS GEN 16S rRNA**

Telah diperiksa dan disetujui untuk mempublikasikan

Semarang, 18 September 2018



Pembimbing I

*[Signature]*  
Dr. Stalis Norma Ethica., M.Si  
NIK. CP.1026.040

Pembimbing II

*[Signature]*

Dr. Ana Hidayati Mukaromah, M.Si  
NIK. 28.6.1026.038

**\*Corresponding Author:**

Aulia Harun

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliaharun13@gmail.com)

<http://repository.unimus.ac.id>

**SURAT PERNYATAAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Aulia Harun  
NIM : G1C217306  
Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang / Jasus D-IV Analisis Kesehatan  
Judul : Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 120 Jam dan Identifikasi Molekuler Bakteri Berbasis Gen 16S rRNA  
Gmail : [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliarun13@gmail.com)

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan
2. Memberikan hak penyimpanan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangakalan data (*data base*), mendistribusikannya, kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagai mana mestinya.

Semarang, 18 September 2018  
Yang Menyatakan



(Aulia Harun)

**\*Corresponding Author:**

Aulia Harun

Program Studi DIV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliarun13@gmail.com)

<http://repository.unimus.ac.id>

# Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 120 Jam dan Identifikasi Molekuler Bakteri Berbasis Gen 16S rRNA

Aulia Harun<sup>1</sup>, Sakti Imam Muchlissin<sup>2</sup>, Ana Hidayati Mukaromah<sup>3</sup>, Sri Darmawati<sup>1</sup>, Stalis Norma Ethica<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Laboratorium Kelautan dan Oseanografi Universitas Diponegor, Semarang, Jawa Tengah

<sup>3</sup>Program Studi DIII Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

---

## Abstrak

### Info artikel

Enzim adalah molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh. Salah satu Enzim yang berperan penting dalam kehidupan manusia adalah Enzim protease. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 120 jam dan mengidentifikasi bakteri berdasarkan analisis gen 16S rRNA. Proses isolasi dan purifikasi dilakukan menggunakan media *Nutrient Agar* dengan teknik *spread*. Dari keenam isolat bakteri yang diisolasi dari sampel oncom pasca fermentasi 120 jam, terdapat satu isolat yang memiliki aktivitas protease yaitu isolat IROD 5. Uji penghasilan enzim protease oleh bakteri dilakukan menggunakan media *Skim Milk Agar*. Proses identifikasi molekuler dilakukan melalui analisis sekuens gen 16S rRNA menggunakan metode PCR menggunakan primer *forward* F: 5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3' dan primer *reverse* R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' yang dilanjutkan dengan proses sekuensing. Dari proses isolasi diperoleh hasil berupa satu isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik berdasarkan pengamatan area zona bening protease dengan diameter 72 mm. Sekuen 16S rRNA isolat bakteri proteolitik IROD5 telah diperoleh dan analisis terhadap sekuen gen tersebut tingkat kemiripan 99% dengan sekuen gen yang sama pada *Staphylococcus hominis*. Dapat disimpulkan isolat bakteri yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan penghasil enzim protease yang potensial dan teridentifikasi secara molekuler sebagai bakteri *Staphylococcus hominis* strain IROD5.

---

### Keywords :

Enzim Protease, Gen 16S rRNA, Oncom merah

---

### Pendahuluan

Enzim adalah molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses

kimia di dalam tubuh. Industri enzim berkembang sangat luas dan berperan penting dalam bidang industri (Yunita, 2014).

---

### \*Corresponding Author:

Aulia Harun

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliaharun13@gmail.com)

<http://repository.unimus.ac.id>

Menurut Suranto (2011), enzim berperan penting dalam kehidupan semua makhluk hidup, terutama pada manusia. Salah satu Enzim yang berperan penting dalam kehidupan manusia adalah Enzim protease. Enzim protease berperan sebagai penyokong kondisi tubuh agar tetap sehat luar dan dalam. Enzim protease mampu mencerna serpihan-serpihan yang tidak diinginkan dalam darah termasuk bakteri dan virus (Yunita, 2014).

Indonesia dikenal sebagai negara yang telah memanfaatkan enzim protease dalam bidang industri pengolahan pangan seperti susu, roti, dan secara tradisional digunakan sebagai pelunak daging. Pentingnya enzim protease dan tingginya harga jual enzim protease mendorong para ilmuwan untuk mencari sumber – sumber enzim protease yang baru yang dapat menghasilkan lebih banyak protease dan memiliki aktivitas tinggi (Melliawati, 2015).

Isolasi bakteri penghasil protease dalam media *Nutrient Agar* yang tidak mengandung sumber karbohidrat tetapi memiliki kandungan sumber nitrogen yang cukup baik untuk pertumbuhan bakteri. Namun, kapang dan khamir tidak dapat tumbuh dengan baik. Kemudian dilanjutkan dalam media *Skim Milk Agar* dengan kandungan kasein sebagai protein susu akan dipecah oleh mikroorganisme proteolitik menjadi senyawa nitrogen terlarut sehingga pada koloni dikelilingi area bening (Fatoni dkk., 2008).

Penelitian Chayadi (2010) menyatakan bahwa oncom sebagai makanan khas dari Jawa Barat yang merupakan warisan nenek moyang bangsa Indonesia, memiliki nilai gizi yang baik dan harganya pun sangat terjangkau, namun sosialisasi oncom di Indonesia masih sangat minim. Oncom masih kalah terkenal dibandingkan hasil olahan kacang-kacangan yang lain, seperti tahu dan tempe. Banyak masyarakat Indonesia yang belum mengetahui bahwa oncom merupakan makanan tradisional yang bergizi tinggi sehingga banyak yang mengabaikan makanan

tradisional ini. Sebagai salah satu makanan tradisional hasil fermentasi, sebenarnya oncom pun tidak kalah dari tempe dan tahu. Oncom memiliki kandungan protein yang tinggi, selain itu oncom juga dapat diolah menjadi pepes, sayur tumis campur leunca, sayur lodeh, keripik oncom, combro (oncom dijero), dan berbagai macam makanan enak lainnya.

PCR atau polimerisasi berantai adalah teknik amplifikasi (perbanyak) DNA spesifik dengan melakukan proses pemanjangan nukleotida dari primer yang merupakan pasangan komplementer dari utas DNA secara simultan. Proses pemanjangan nukleotida dilakukan oleh DNA polimerase berdasarkan cetakan DNA (Bardacki, 1994).

Pada peneliti sebelumnya telah dilakukan pada oncom segar. Namun pada oncom pasca fermentasi belum. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian isolasi bakteri penghasil enzim protease pada oncom merah pasca fermentasi 120 jam dan identifikasi molekuler bakteri berbasis gen 16S rRNA.

#### **Bahan dan metode**

Jenis penelitian ini dilakukan dengan menggunakan analisis deskriptif untuk mendapatkan data yang diperlukan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kelautan dan Oseanografi Universitas Diponegoro Semarang, Jawa Tengah. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April – Mei. Tahun 2018. Objek penelitian ini bakteri penghasil enzim protease pada oncom merah pasca fermentasi selama 120 jam. Alat yang digunakan adalah cawan petri, mikropipet, inkubator, autoklaf, microwave, tabung reaksi, erlenmeyer, rak tabung, gelas ukur, laminar, NanoDrop Spektrofotometer, lampu spiritus, ose jarum, pinset, neraca analitik, mikrotube, waterbath, vortex, termal cyler, cetakan gel agarose, alat elektroforesis, power supply, ultraviolet transilluminator, tabung ependrof.. Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sampel oncom merah, NaCl fisiologis, dH<sub>2</sub>O, kapas dan kasa,

---

#### **\*Corresponding Author:**

Aulia Harun

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliaharun13@gmail.com)

plastik dan plastik wrap, aluminium foil, kertas label, media *Skim Milk Agar*, aquades, *Nuclease free water* (NFW), Promega Kit, Etanol absolut 70%, TE Buffer, DNA Template (isolat DNA genom /total), PCR Master Mix (Promega), Primer Forward 8F 16S rRNA, Primer Reverse 1492R 16S rRNA, gel agarose, Loading dye, Larutan *Tris Borat EDTA*, media *Nutrient Agar*, *Ethidium Bromida*.

## Hasil

Dari hasil penelitian didapatkan total jumlah bakteri koloni yang diperoleh dari proses isolasi dari sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam adalah 6 koloni bakteri murni dengan morfologi koloni yang berbeda. Karakteristik morfologi masing – masing isolat dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut.:

Tabel. 1. Morfologi Koloni Bakteri pada Oncom Merah pasca fermentasi 120 jam

Kode Koloni	Bentuk	Warna	Ukuran	Konsistensi
IROD 5.1	Bergerigi	Putih	Besar	Kering
IROD 5.2	Bergerigi	Putih	kecil	Berlendir
IROD 5.3	Bulat	Putih	Besar	Berlendir
IROD 5.4	Bulat	Putih	Kecil	kering
<b>IROD 5.5</b>	<b>Bulat</b>	<b>Putih</b>	<b>Kecil</b>	<b>Berlendir</b>
IROD 5.6	Bulat	Kuning	Kecil	Berlendir

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa 6 koloni bakteri yang ditemukan pada isolasi oncom merah pasca fermentasi 120 jam memiliki morfologi dan karakteristik yang berbeda.

Koloni bakteri yang ditemukan pada isolasi bakteri pada sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam diidentifikasi karakteristik dan jenisnya berdasarkan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram koloni bakteri dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut :

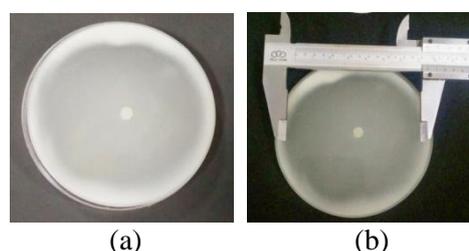
Tabel. 2. Karakteristik koloni bakteri pada pewarnaan Gram

Kode Koloni	Karakteristik Koloni pada Pewarnaan Gram
IROD 5.1	Basil Gram-positif bergerombol
IROD 5.2	Basil Gram-positif berderet
IROD 5.3	<i>Coccus</i> Gram-negatif bergerombol
IROD 5.4	<i>Coccus</i> Gram-negatif bergerombol
<b>IROD 5.5</b>	<b><i>Coccus</i> Gram-negatif bergerombol</b>
IROD 5.6	<i>Coccus</i> Gram-positif bergerombol

Setelah pengamatan morfologi koloni, pada penelitian ini dilakukan pewarnaan Gram terhadap sel-sel bakteri. Pengamatan pewarnaan Gram berdasarkan tabel 8 menunjukkan 3 isolat bakteri bersifat Gram-negatif dan 3 isolat yang bersifat Gram-positif, dengan bentuk sel basil dan kokus.

Berdasarkan hasil dari isolasi dan identifikasi bakteri, maka dipilih satu bakteri dengan bentuk sel yang unik untuk selanjutnya dilakukan uji enzimatis penghasil enzim protease. Bakteri yang dipilih adalah isolat dengan kode sampel E diberi label IROD5.

Koloni bakteri yang telah diisolasi dan diidentifikasi kemudian dilakukan uji enzimatis untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah protein. Hasil uji enzimatis koloni bakteri dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut:



Gambar 1. (a) Hasil uji enzimatis (b) pengukuran zona bening

Isolat IROD 5 menghasilkan protease dalam jumlah besar, berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan jumlah diameter zona bening adalah 72 mm.

### \*Corresponding Author:

Aulia Harun

Program Studi DIV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliaharun13@gmail.com)

Berdasarkan hasil uji enzimatik, isolat IROD 5 kemudian dilanjutkan ke tahap uji kuantifikasi nilai absorbansi.

Uji kuantifikasi ekstrak DNA genom yang diperoleh berdasarkan prinsip absorbansi DNA menggunakan NanoDrop spektrofotomete di perlukan untuk mengetahui berapa volume isolat hasil ekstraksi DNA templat dalam PCR (Nuraida, 2016).

Tabel. 3. Hasil kuantifikasi nilai absorbansi isolat IROD5

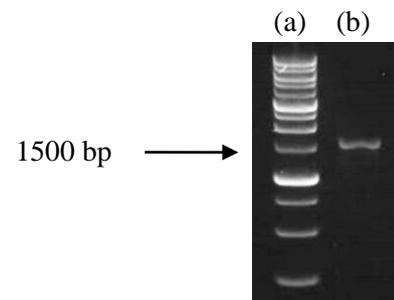
No	Sampel ID	Nucleic Acid Conc	A260	A280	$\frac{260}{280}$
1	IROD 5	45,5 (ng/μl)	0,91	0,289	3,15

Pada penelitian ini, nilai rasio konsentrasi DNA pada panjang gelombang 260/280 adalah 3,15. Nilai ini jauh berada diatas nilai standar yaitu antara rasio 1,8-2,0. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh sampel DNA yang tidak murni disebabkan oleh adanya sisa-sisa etanol atau adanya sisa kandungan metabolit sekunder bakteri yang diekstrak. Namun pada hasil dengan rasio di atas 2,0, selama visualisasi ekstrak DNA masih menunjukkan pita yang tebal, maka isolat DNA dapat digunakan sebagai templat PCR (Fatchiyah dkk., 2011).

Berdasarkan hasil perhitungan absorbansi dan hasil visualisasi ekstrak DNA dapat dikatakan genom bakteri dengan kemurnian yang cukup dapat digunakan sebagai *template* untuk PCR gen 16S rRNA.

Produk amplifikasi fragmen DNA 16S rRNA pada PCR konvensional divisualisasikan dan kualitasnya divisualisasikan menggunakan gel elektroforesis. Hasil gel elektroforesis produk amplifikasi fragmen

gen 16S rRNA bakteri isolat IROD5 dapat dilihat pada gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 2. Hasil amplifikasi fragmen 16S rRNA isolat IROD5  
a. marker b. IROD 5

Berdasarkan gambar hasil amplifikasi fragmen 16S rRNA didapatkan pita gen 16S rRNA pada 1500 bp yang kemudian dilanjutkan ke tahap sekuensing. Hasil sekuensing amplifikasi gen 16S rRNA dengan primer B27F dan U1492R didapat data nukleotida yang layak untuk dianalisis (Widyadnyana dkk., 2015).

Uji sekuensing dilakukan untuk menentukan urutan nukleotida pada fragmen DNA yang terdeteksi dari hasil visualisasi DNA yang teramplifikasi dalam proses PCR menggunakan mesin sekuensing DNA otomatis (Fatimawali, 2013).

Jumlah salinan gen 16S rRNA di Bakteri beragam (1-15) di setiap Genom. Setiap salinan memiliki ukuran sekitar 1500 Bp. Marchandin dkk . (2003) dalam Darmawati dkk . (2014) mengatakan urutan gen 16S rRNA di setiap salinan setiap organisme itu identik.

Penentuan urutan DNA (sekuensing) dilakukan melalui jasa komersial *1 st Base DNA Sequencing, Malaysia*. Pemeriksaan hasil sekuens dilakukan dengan menggunakan MEGA 7.0, kemudian hasil dimasukkan ke program BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool* – for

**\*Corresponding Author:**

Aulia Harun

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliaharun13@gmail.com)

nucleotide) melalui website NCBI (*National Center for Biotechnology Information*).

Sekuen yang diperoleh dari 1st Base DNA Sequencing ditampilkan pada lampiran 2. Urutan basa nitrogen yang diperoleh oleh sekuensing dengan program BLAST menunjukkan kemiripan 99% dengan fragmen gen 16S rRNA isolat bakteri *Staphylococcus hominis* strain K23 (Kode akses Genbank: [KU922442.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/KU922442.1)). Sehingga isolat diberi nama *Staphylococcus hominis* strain IROD5 (IROD5= *Indonesian Red Oncom Day-5*).

Bakteri *S. hominis* ditemukan pada oncom pasca fermentasi 120 jam. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya kontaminasi akibat pengolahan dengan tangan pada proses pembuatan oncom, sehingga terjadi kontak kulit manusia dengan oncom.

Hal ini sejalan dengan kenyataan bahwa saat ini pembuatan oncom masih banyak dilakukan secara tradisional dan manual di rumah-rumah sebagai bagian dari industri rumah tangga. Dengan kemampuan menghasilkan zona bening protease yang telah ditunjukkan dan dengan memperhatikan sifat bahayanya, *Staphylococcus hominis* strain IROD5 berpotensi menjadi sumber protease non pangan, yang diharapkan dapat dieksplorasi dalam skala yang lebih besar.

### **Kesimpulan dan Saran**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan:

1. Isolasi bakteri dari sampel oncom merah pasca fermentasi 120 jam didapat enam isolat bakteri, dari keenam isolat bakteri terdapat satu isolat bakteri yaitu isolat IROD 5, dengan morfologi sel *Coccus*

Gram-negatif bergerombol yang memiliki aktivitas protease ditandai dengan terbentuknya zona bening berdiameter 72 mm di sekeliling koloni bakteri pada medium *Skim Milk Agar*.

2. Proses identifikasi molekuler isolat IROD5 menghasilkan sekuen gen 16S rRNA dengan urutan nukelotida yang menunjukkan tingkat kesamaan 99% dengan urutan nukelotida gen 16S rRNA bakteri *Staphylococcus hominis* sehingga isolat IROD5 dinyatakan sebagai bakteri *Staphylococcus hominis* strain IROD5 (*Indonesian Red Oncom Day-5*).

Penelitian ini sebagai langkah awal mendapatkan bakteri penghasil protease dari bahan pangan oncom merah. Untuk penelitian lanjutan akan sangat baik jika dapat diidentifikasi gen penyandi enzim protease pada *Staphylococcus hominis* strain IROD5 agar dapat dilakukan rekayasa genetika yang memungkinkan produksi enzim protease untuk skala industri atau komersial.

### **Ucapan terimakasih**

Atas selesainya tugas akhir ini saya selaku peneliti mengucapkan terimakasih kepada Dr. Stalis Norma Ethica., M.Si, Pd dan Dr. Ana Hidayati Mukaromah M.Si yang telah memberikan bimbingan dan bantuannya selama penelitian dan terima kasih juga saya sampaikan untuk Ayah handaku Harun dan ibundaku Sappeami yang selalu mendo'akan di setiap sujudnya dan atas semua dukungan materil yang diberikan kepada saya dalam menyelesaikan perkuliahan serta tak lupa pula teman-teman seperjuangan DIV Analis Kesehatan Muhammadiyah Semarang tahun 2017 kelas B yang selalu memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

### **\*Corresponding Author:**

Aulia Harun

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliaharun13@gmail.com)

## Referensi

- Chayadi, Adityo; Surya, Angga. *Penangkapan mikroba mixed culture dari alam sebagai inokulum dalam pembuatan ragi oncom menggunakan media kacang tanah, kedelai, dan jagung*. 2010. PhD Thesis. Teknik Kimia UNDIP.
- Darmawati,S., Sembiring,L., Asmara,S., Artama.W.T., Kawaichi.M. 2014. Phylogenetic relationship of Gram Negative Bacteria of *Enterobacteriaceae* Family in the Positive Widal Blood Cultures based on 16S rRNA Gene Sequences. *Indonesian Journal of Biotechnology*. Vol. 19, No. 1, pp.64-70.
- Ethica, S. N. (2014). *Detection Of Genes Involved In Glycerol Metabolism Of Alcaligenes sp . JG3*.
- Ethica, S.N., Nataningtyas, D.R., Lestari, P., Istini, I., Semiarti, E., Widada, J. and Raharjo, T.J., 2013. Comprative Evaluation of Conventional Versus Rapid Methods for Amplifiable Genomic DNA Isolation of Cultured *Azospirillum* sp. JG3. *Indonesian Journal of Chemistry*, 13(3), pp.28-253.
- Ethica, S.N., Hammi, M.K., Lestari, P., Semiarti, E., Widada, J. and Raharjo, T.J., 2013. Amplification of *Azospirillum* sp. JG3 *glpD* gene fragment using degenerate primers generated by web-based tools. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(3), p.231.
- Ethica, S.N. and Raharjo, T.J., 2014. *Detection of genes involved in glycerol metabolism of Alcaligenes sp. JG3* (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
- Ethica, S.N., Oedjijono, O., Semiarti, E., Widada, J. and Raharjo, T.J., 2018. Genotypic and Phenotypic Characterization Of *Alcaligenes javaensis* Jg3 Potential AS An Effective Biodegrader. *Biotropia-The Southeast Asian Journal of Tropical Biology*, 25(1), pp.1-10.
- Fatchiyah dkk., 2011., *Biologi Molekuler-Prinsip Dasar Analisis*. 8th ed.,Erlangga. Jakarta.
- Fatimawali. 2013. Identifikasi Mikrobiologi dan Analisis Gen 16S rRNA Bakteri Resisten Merkuri Isolat S3.2.2 yang Diperoleh dari Limbah Tambang Rakyat. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. Vol 2. No 04.
- Fatoni, A.Z & Puji.L., 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Tahu*. *Jurnal Natur Indonesia*, 10.2.83-88.
- Melliawati R. 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Enzim Protease. *Pros Sem Nas Masy Biodiy Indon*, 1.2. 184 – 188.
- Nuraida, F. 2016. EKSTRAKSI DNA *Salmonella* TIFOID. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung Bandar Lampung.
- Widyadnyana,D.G.A., I Dewa, M.S. & I Wayan,S. 2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA. *Jurnal Sain Veteriner*. 33. 2.
- Yunita dkk., Uji Aktivitas Enzim Protease Dari Isolat *Bacillus* sp. Galur Lokal Riau. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 2014, 2.1: 116-122.

---

### \*Corresponding Author:

Aulia Harun

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Gmail: [auliaharun13@gmail.com](mailto:auliaharun13@gmail.com)

<http://repository.unimus.ac.id>