

PEMANFAATAN GEN 16S rRNA SEBAGAI PERANGKAT IDENTIFIKASI BAKTERI UNTUK PENELITIAN-PENELITIAN DI INDONESIA

Claudia Valleria Akihary¹⁾, Beivy Jonathan Kolondam¹⁾

¹⁾ Program Studi Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

The 16S rRNA gene has hyper variable region and different for one bacterial species to another. The gene is being used as research tool to help for accurate identification of bacteria in many fields in Indonesia. As a useful tool, the 16S rRNA gene sequence is important as to explore the potencies of a bacterial species. Sequencing of this gene is very useful for research in clinical study, fisheries, marine science, agricultural science, and animal husbandry in Indonesia.

Keywords: 16S rRNA gene, research tool, bacteria, Indonesia

ABSTRAK

Gen 16S rRNA memiliki region yang sangat bervariasi dan berbeda setiap spesies bakteri. Penggunaannya sebagai perangkat penelitian, gen 16S rRNA telah banyak membantu dalam proses identifikasi berbagai jenis bakteri secara akurat untuk berbagai penelitian di Indonesia. Gen 16S rRNA tidak hanya dapat mengidentifikasi tetapi dapat dijadikan arahan dalam mengetahui potensi suatu bakteri. Sekuensing gen 16S rRNA telah digunakan secara luas untuk penelitian di bidang klinis, perikanan, kelautan, pertanian dan peternakan di Indonesia.

Kata Kunci: Gen 16S rRNA, perangkat penelitian, Bakteri, Indonesia.

PENDAHULUAN

Gen 16S rRNA merupakan bagian dari prokariot yang memiliki bagian yang bersifat “terkonsevasi” (*conserved*). Selain gen ini, dikenal juga beberapa nukleotida lain yaitu gen 5S rRNA dan gen 23S rRNA yang juga digunakan dalam pengidentifikasian namun dinilai sulit dalam analisis. Gen 5S rRNA memiliki panjang ~120 nt. Pada prokariotik, 5S rRNA mengikat pada protein ribosomal: L5, L18, L25. 5S rRNA jika dijadikan metode dalam mengidentifikasi dinilai sangat sulit. Hal ini dikarenakan terlalu kecil dan dalam beberapa kasus pada Archae dan Prokariot didapati 5S rRNA bermodifikasi sehingga tidak akurat jika dilakukan analisis filogenik. Gen 23S rRNA memiliki 2900 basa dan juga dinilai menyulitkan analisis statistika, karena memiliki struktur tersier dan sekunder yang cukup panjang (Jusuf, 2001).

Dalam pemanfaatannya, gen 16S rRNA banyak digunakan dalam berbagai bidang terkait dengan keuntungannya terutama dalam hal identifikasi. Gen ini memiliki banyak sekali manfaat sehingga dijadikan sebagai Gen Penanda. Gen 16S rRNA telah banyak digunakan di berbagai bidang penelitian maupun untuk tujuan praktis karena dinilai cepat dan praktis.

KELEBIHAN DAN KEKURANGAN METODE IDENTIFIKASI MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA

Pemanfaatan gen 16S rRNA untuk metode deteksi molekuler dianggap memiliki tingkat diskriminasi yang rendah karena sebagian besar hasil runutan DNA 16S rRNA menunjukkan adanya kesamaan yang tinggi di dalam satu spesies. Apabila homologi sekuen 16S rRNA menunjukkan <97.5% dapat dikatakan sebagai spesies yang berbeda atau *novel spesies* (Stackbrant dan Gobel, 1994). Dengan metode gen 16S rRNA dapat digunakan untuk identifikasi jika didapati sulit untuk mengidentifikasi bakteri secara fisiologi. Selain identifikasi secara fisiologis, uji biokimia juga bila dirasa tidak dapat dikenali maka metode ini dapat dijadikan sebagai alternatif (Janda dan Abbott, 2007).

Menurut Pangastuti (2006), gen 16S rRNA memiliki berbagai keunggulan yaitu (1) Bersifat ubikuitas dengan fungsinya yang bersifat identik pada setiap organisme; (2) Gen 16S rRNA dapat berubah sesuai jarak evolusinya sehingga dapat digunakan sebagai kronometer evolusi; (3) Gen 16S rRNA memiliki bagian yang bersifat konservatif untuk mengontruksi pohon filogenetik universal; (4) Memiliki bagian *hyper variable region* yang memudahkan untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Keuntungan dari Gen 16S rRNA, berdasarkan penelitian Dewa *et al.* (2015), yaitu dapat melihat kemiripan antar spesies bakteri. Kemiripan yang didapati antar spesies dengan metode ini yaitu 99%. Kemiripan yang didapati juga dapat di kelompokkan dalam dua kelompok yaitu kemiripan yang cukup tinggi dan kemiripan yang cukup jauh (rendah). Dengan metode Gen 16S rRNA, suatu genus dikatakan mirip apabila memiliki kemiripan 97% dan dikatakan satu spesies apabila kemiripan yang diperoleh 99% (Petti, 2007).

Dilihat dari keuntungannya, gen 16S rRNA nyatanya sangat efektif digunakan karena memiliki keakuratan yang tinggi dan juga tidak memakan waktu dalam pengidentifikasiannya. Sama halnya dengan metode-metode lainnya, metode ini memiliki kekurangan dalam beberapa hal. Kekurangannya ini didapati melalui beberapa penelitian yang menggunakan penelitian dan mendapati kendala.

Kekurangan pertama, gen 16S rRNA memiliki morfologi yang sama walaupun spesies berbeda. Walaupun telah diidentifikasi secara molekuler, belum dapat menjamin morfologi atau fenotip yang diamati akan sama. Melalui penelitian Napitupulu *et al.* (2019), yang berbeda dalam hal ciri-ciri (ukuran, warna, *elevation*, dan bentuk koloninya) akan tetapi diidentifikasi tergolong dalam genus bakteri yang sama yaitu *Basillus* sp. Ketidaksama fenotip juga dapat disebabkan karena penggunaan metode. Metode fenotip apabila dilakukan berulang-ulang akan memberikan hasil yang berbeda pula. Berdasarkan penelitian Nurkanto dan Augusta (2015), spesies yang didapatinya memiliki

perbedaan berdasarkan warna koloni, kemampuan asimilasi gula, toleransi salinitas dan pH juga resisten beberapa antibiotic. Walaupun secara molekuler menggunakan metode 16S rRNA, sekuen gen dari kedua bakteri tersebut identik.

Kekurangan kedua, diperlukan beberapa langkah untuk menggabungkan identifikasi secara fenotip, genotip dan informasi filogenik. Melalui penelitian yang dilakukan oleh Suryadi *et al.* (2013), diperoleh tujuh isolat yang enam diantaranya diprediksi berpeluang sebagai *novel spesies*. Keenam isolat tersebut memiliki kemiripan morfologi dan sekuen, sehingga perlu ditambahkan langkah selanjutnya yaitu metode polifasik. Metode polifasik ini dianggap lebih akurat dan terpercaya karena prinsip dari metode ini adalah menggabungkan semua informasi fenotip, genotip dan informasi filogenik yang diperoleh.

Polifasik merupakan pendekatan sistematis mikroba seperti bakteri baiknya menggunakan metode ini (Idrumsa, 2013). Polifasik ini menggunakan atau berdasarkan informasi sekuen gen 16S rRNA yang dijadikan dasar dalam pengidentifikasian dan validasi dengan mengamati banyak karakter fenotik, genotik (*G+C content*, DNA-DNA *similarity* dan DNA-rRNA *similarity*) dan kemotaksonomi (Idrumsa, 2013).

PEMANFAATAN SEKUENSING 16S rRNA UNTUK PENELITIAN DI INDONESIA

Bidang Klinis

Di bidang klinis, metode 16S rRNA termasuk sebagai prosedur dalam diagnosis suatu penyakit. Metode 16S rRNA sebagai diagnosis suatu penyakit memang belum banyak digunakan terkait dengan biaya pemeriksaan yang mahal. Jika dilihat dari spesifitas dan sensitivitasnya yang tinggi, metode ini dinilai sangat akurat dan cepat dalam hal mengidentifikasi berbagai sampel klinis (Rinanda, 2011).

Menurut Nolte (2008), mengidentifikasi bakteri dari saluran pernapasan tidak akurat jika menggunakan metode mikrobiologi konvensional. Menurut Rinanda (2011), pendekatan molekuler dinilai

tepat dan akurat dibandingkan metode mikrobiologi konvensional. Sehingga mikrobiologi konvensional tidak lagi dimasukkan dalam pedoman penatalaksanaan.

Berdasarkan penelitian Radji *et al.* (2010), identifikasi bakteri *E. coli* secara konvensional melalui uji biokimia memakan waktu yang lama dan cenderung sulit dilakukan. Penelitian Sikome *et al.* (2018), mendapati jenis bakteri pada penderita ISK (Infeksi Saluran Kencing) yaitu *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri ini didapat dengan mengamplifikasi gen 16S rRNA dengan tingkat kemiripan 99%.

Bakteri dapat ditemukan di mana saja misalnya di tanah, udara, air bahkan di dalam tubuh organisme. Bahkan di tempat yang tidak diduga seperti pada spons untuk mencuci piring. Spons yang sering digunakan mempunyai kemungkinan terdapat bakteri-bakteri penyebab penyakit yang berbahaya bagi manusia. Penelitian Gaffar *et al.* (2014) mendapati bakteri *E. coli* sebagai bakteri patogen penyebab penyakit pada spons cuci piring. Gen bakteri ini berhasil diamplifikasi pada panjang fragmen gen 16S rRNA mendekati 1400 bp.

Bidang Perikanan dan Kelautan

Di bidang kelautan dan perikanan, beberapa penelitian menggunakan Gen 16S rRNA telah banyak dilakukan. Umumnya penelitian di bidang ini bertujuan untuk mengidentifikasi beberapa bakteri yang bukan hanya dapat menyebabkan penyakit tetapi dapat menghasilkan metabolit yang dapat dimanfaatkan kembali di berbagai bidang.

Dari penelitian Ramadhan *et al.* (2016), dijelaskan bahwa bakteri yang diidentifikasi merupakan bakteri yang bersimbiosis dengan beberapa makroalga dan dapat menghasilkan enzim selulase. Enzim ini umumnya dapat ditemui di alam dan dapat digunakan seperti untuk produksi bioethanol. Dengan ditemui bakteri yang dapat mengsekresikan enzim selulase ini pada substratnya diharapkan produksi enzim tersebut lebih optimal. Untuk mengidentifikasi bakteri tersebut digunakan Gen 16S rRNA. Dari penelitian ini didapati dua jenis bakteri

yang memiliki kesamaan nukleotida diatas 80%.

Beberapa penelitian identifikasi untuk mikroorganisme laut melalui skala DNA dan molekuler khususnya di Sulawesi Utara masih minim. Beberapa penelitian dilakukan dengan gen penyandi yaitu Gen 16S rRNA untuk meneliti bakteri yang hidup di perairan malalayang, Sulawesi Utara. Salah satu contohnya penelitian yang dilakukan Untu *et al.* (2015) untuk mendapatkan salah satu bakteri pada tubuh organisme invertebrate laut. Hasil penelitian tersebut mendapati kemiripan mikroba 99%. Untuk kemiripannya sendiri diperoleh dari nilai total dari jumlah basa mikroba pada GenBank dibagi dengan total jumlah basa yang sama dengan sampel mikroba (Untu *et al.*, 2015).

Penelitian Napitupulu *et al.* (2019) mendapati dua jenis bakteri yang masuk dalam genus yang sama yaitu *Bacillus* sp. yang merupakan bakteri pengurai pada rotifer. Rotifer merupakan salah satu organisme yang mampu hidup di perairan yang kotor. Bahkan perairan yang mengandung banyak detritus dan nanoplankton dapat menambah banyak jumlah rotifer. Setelah dilakukan identifikasi secara molekuler didapatkan bakteri yang berfungsi sebagai pengurai. Dengan gen 16S rRNA didapatkan bakteri *Bacillus* sp. dengan *Expect value* 0. *Expect value* menunjukkan nilai dugaan dan jika menunjukkan nilai dugaan 0 maka menandakan bahwa hasil sekuens kedua jenis bakteri tersebut identik.

Selain dapat mengidentifikasi jenis bakteri diperairan, Gen 16S Rrna terbukti dapat mengidentifikasi status taksonomi ikan. Melalui penelitian Nugroho dan Rahayu (2015), tentang Taksonomi ikan Nomei di Perairan Tarakan berdasarkan gen 16S rRNA, teridentifikasi ikan jenis *Saurida undosquamis* dengan tingkat kecocokan 91%. Selain dapat mengidentifikasi jenis ikan Nomei di perairan tersebut, dapat juga melihat topologi filogenetik dan dengan adanya spesies *outgroup* dapat memperkuat status taksonomi dari ikan Nomei.

Berdasarkan penelitian Dewi *et al.* (2018) penggunaan gen 16S rRNA sebagai gen penyandi dapat bertujuan untuk

mengetahui suber Bioluminesensi pada ikan lumek. Ikan lumek yang mati pada awalnya belum diketahui asal sumber cahaya yang dihasilkan. Melalui penelitian ini didapati cahaya yang dihasilkan berasal dari bakteri luminesen yang memungkinkan ikan dapat memancarkan cahaya pada permukaan kulitnya 8 sampai 9 jam setelah kematian. Bakteri ini diketahui merupakan bakteri gram negatif, bersifat *motile* dan dapat menfermentasikan glukosa.

Bidang Pertanian

Di bidang pertanian, gen 16S rRNA ini juga memiliki manfaat yang hampir sama yaitu pengidentifikasi bakteri dengan manfaat untuk menemukan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman dan dapat menyebabkan penurunan produksi pangan. Selain itu juga dapat diidentifikasi bakteri yang bersifat endofit sehingga dapat dimanfaatkan sebagai salah satu organisme penghasil metabolit sekunder yang bermanfaat.

Berdasarkan penelitian Sari (2014) melakukan identifikasi terhadap aktinomiset endofit asal tanaman padi berdasarkan analisis Gen 16S rRNA dan *nifH*. Penelitian ini memperoleh enam jenis bakteri yang berbeda dengan kesamaan morfologi koloni. Enam jenis bakteri ini memiliki identitas maksimum <97% dengan *E-value* 0,0 dan keenamnya digolongkan ke dalam *Streptomyces* spp.

Pengidentifikasi dengan 16S rRNA pada penelitian Suryadi *et al.* (2013) memperoleh empat jenis bakteri yang teramplifikasi pada daerah sekitar 1.300 bp. Penelitian ini juga berhasil menemukan isolat bakteri yang memiliki kemiripan 99% dengan bakteri *Burkholderia* sp. dengan panjang basa nukleotida 1.322 bp. Bakteri-bakteri ini di isolasi dari padi yang berasal dari 10 lokasi di daerah Sukabumi. Bakteri- bakteri ini merupakan bakteri endofitik yang berfungsi sebagai penghambat jamur patogen pada padi.

Pada umumnya metode ini dapat mengidentifikasi berbagai jenis bakteri dimanapun contohnya pada bakteri yang diisolasi dari oncom merah yang telah difermentasi 24 jam dengan tujuan mendapatkan bakteri yang dapat menghasilkan

enzim protease. Melalui penelitian didapati bakteri *Bacillus thungiensis* yang juga positif dapat menghasilkan enzim protease yang baik. Bakteri yang telah diisolasi tadi memiliki kemiripan 98% dengan fragmen gen 16S rRNA pada *Bacillus thungiensis* (Safitri *et al.*, 2018).

Berbeda dengan penelitian-penelitian di atas, penelitian Widaranti *et al.* (2016) mengidentifikasi bakteri yang bersimbiosis dengan akar tanaman teh. Melalui penelitian ini didapati tiga jenis bakteri yang masuk pada golongan *rhizobacteria*.

Penelitian Nisa (2018) menggambarkan tentang isolasi dan identifikasi bakteri pelarut dengan sekuen 16S rRNA asal tanah pertanian organik Desa Sumberejo batu. Penelitian ini memperoleh bakteri tanah yang memiliki kedudukan pada clade yang sama dengan bakteri *Klebsiella pneumonia* strain DSM 30104 dengan similaritas 98%. Bakteri ini memiliki potensi untuk menghasilkan IAA yang merupakan asam yang dapat melarutkan fosfat.

Bidang Peternakan

Penggunaan Gen 16S rRNA sebagai *tool* dalam mengidentifikasi bakteri sangat luas dan dapat digunakan di bidang apa saja termasuk bidang peternakan. Pemanfaatan Gen 16S rRNA di bidang peternakan memainkan peran dalam pengidentifikasian bakteri yang menyebabkan penyakit pada hewan ternak dan juga bakteri yang bersifat menguntungkan.

Bakteri yang bersifat menguntungkan seperti BAL (Bakteri Asam Laktat). BAL yang ditemui pada usus sapi terbukti dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* sebesar 50,35% (36,56 - 61,47%). BAL ini diidentifikasi dari bakteri asam laktat isolate 9A berpotensi dengan menggunakan gen 16S rRNA (Widyadnyana *et al.*, 2015).

Pada penelitian Yurleni *et al.* (2014), salah satu cara meningkatkan produktivitas ternak dengan meningkatkan aktivitas dan populasi mikroba pada rumen ternak yaitu BAL. BAL yang diperoleh dapat berasal dari mana seperti berasal dari durian fermentasi asal jambi.

Beberapa penelitian yang menggunakan rumen sapi mendapati berbagai bakteri. Noor *et al.* (2014) mendapati jenis bakteri yang dapat menghasilkan gas metana yang nantinya dapat digunakan sebagai alternatif biogas. Gen bakteri target yang diperoleh memiliki panjang ukuran insert yaitu 800bp dengan total klon 51.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian-penelitian dari berbagai bidang yang telah dilakukan di Indonesia menggunakan gen 16S rRNA, dapat dikatakan bahwa gen ini merupakan perangkat yang memiliki keakuratan yang tinggi dengan penggunaan yang luas. Gen 16S rRNA tidak hanya dapat mengidentifikasi tetapi dapat dijadikan arahan dalam mengetahui potensi suatu bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewa Gede Agung Widyadnyana, I Dewa Made Sukrama, dan I Wayan Suardana. 2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA. *JS*. **33** (2): 228-233.
- Dewi, Kartika, D. Pringgenies., Haeruddin dan S. Muchlissin. 2018. Fenomena Bioluminesensi Ikan Lomek (*Harpadon nehereus*) Berasal dari Bakteri luminesen. *JPHPI* **21**(3): 451-459.
- Gaffar, Shabarni., I. Maksun dan E. Juleha. 2014. Identifikasi Populasi Bakteri dalam Spons Pencuci Piring dengan Metode PCR-RFLP. *Chimica et Natura Acta* **2**(2):120-125.
- Idramsa. 2013. Peran Sistematik Mikrobia dalam Mengungkap Keanekaragaman Mikroorganisme. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera* **11**(2): 58-63.
- Janda, M dan Abbott, S. 2007. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 2761-2764
- Jusuf, M. 2001. *Genetika 1: Struktur dan Ekspresi gen*. IPB. Bogor

- Napitupulu, H., I. Rumengan., S.Wulur., E.Ginting., J. Rimper., dan Toloh, B. 2019. *Bacillus* sp. sebagai Agenia Pengurai dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang menggunakan Ikan Mentah sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax* **7(1)**: 158-169.
- Nisa, Nurullah. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri pelarut dengan Sekuen 16S rRNA Asal Tanah Pertanian Organik Desa Sumberejo Batu. *Skripsi*. UIN Malang.
- Nolte, F.S. 2008. Molecular Diagnostics for Detection of Bacterial and Viral Pathogens in Community-Acquired Pneumonia. *CID* **47**:123-6.
- Noor, S., H. Pramono dan S. Aziz. 2014. Deteksi Keanekaragaman Spesies Bakteri Metanogen Rumen Sapi Menggunakan Kloning Gen 16S rRNA dan Sekuensing. *Scripta Biologica* **1(4)**: 1-8.
- Nurkanto, A dan A. Agusta. 2015. Identifikasi Molekular dan Karakterisasi Morfo-Fisiologi Actinomycetes Penghasil Senyawa Antimikroba. *Jurnal Biologi Indonesia* **11(2)**: 195-203.
- Nugroho, D. dan Rahayu D. 2015. Status Taksonomi Ikan Nomei Dari Perairan Tarakan, Kalimantan Utara Berdasarkan Gen 16S rRNA Sebagai Upaya Konservasi Ikan Laut Lokal Indonesia. *Jurnal Harpodon Borneo* **8(2)**: 132-141.
- Pangastuti, A. 2006. Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16S rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Biodiversitas* **7(3)**: 292-296.
- Petti, P. A. 2007. Detection and identification of microorganisms by gene Amplification and Sequencing. *Clin. Infect Disc.* **44(8)**:1108-1114.
- Radji, M., Puspaningrum, A dan Sumiati, A. 2010. Deteksi Cepat Bakteri *Escherichia coli* dalam Sampel Air dengan Metode Polymerase Chain Reaction Menggunakan Primer *16E1* dan *16E2*. *J. Makara Sains* **14(1)**: 39-43.
- Ramadhan, Muhammad L., I. Buwono., dan Y. Mulyani. 2012. Analisis Potensi dan Karakterisasi Molekuler Gen 16S rRNA Bakteri Selulolitik yang di Isolasi dari Makroalga *Euchema* sp. dan *Sargassum* sp. Sebagai Penghasil Enzim Selulase. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* **3(3)**: 61-67.
- Rinanda, T. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA Di Bidang Mikrobiologi. *J. Kedokteran Syiah Kuala* **11(4)**: 172-177
- Sari, Wahyu Eka. 2014. Identifikasi Aktonomisit Endofit Asal Tanaman Padi Berdasarkan Analisis Gen 16S rRNA dan *nifH*. *Tesis*. Bogor: IPB. 71 hal
- Safitri, R., S. Muchlissin., A, Mukaromah., S. Darwati dan S. Ethica. 2018. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus thungiensis* irodi pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 24 Jam. *Seminar Nasional Edusaintek*. Hal 62-69.
- Stackebrandt, E dan Gobel, B. 1994. A place for DNA-DNA reassociation and 16S Ribosomal RNA Sequence Analysis in The Present Species Definition in Bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **44**: 846-849.
- Sikome, C., Fatmawati dan T. Tallei. 2018. Isolasi dan Identifikasi Secara Biomolekuler Bakteri Penyebab Penyakit Infeksi Saluran Kemih Yang Resisten Terhadap Antibiotik Ciprofloxacin di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandau Manado. *Pharmacoon* **7(2)**: 62-70.
- Suryadi, Y., T, Priyatno., I.M. Samudra., D. Susilowati., Patricia dan Irawati, W. 2013. Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri Endofitik Penghambat Jamur Patogen Padi. *Buletin Plasma Nutfah* **19(1)**: 25-32
- Untu, P., I, Rumengan dan E, Ginting. 2015. Identifikasi Mikroba yang Koeksis dengan *Ascidia Lissoclinum patella* Menggunakan Sekuens Gen 16S

rRNA. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*.
2(1): 23-33.

Widyadnyana, D., I, Sukrama dan Sudarna, I.
2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat
Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai
Probiotik melalui Analisis Gen 16S
rRNA. *Jurnal Sain Veteriner* **33(2)**:
228-233.

Widaranti, A., S, Jannah., H, Pancasakti K.,
dan D. Susilowati. 2016. Komunitas
Rhizobakteria Tanaman Teh dengan
Aplikasi Formula Bioimunizer
(*Chryseobacterium* sp. dan *Bacillus*
sp.) berdasarkan Gen 16S rRNA.
Jurnal Biologi **5(4)**: 40-50.

Yurleni. 2013. Produktivitas dan Karakteristik
Daging Kerbau dengan Pemberian
Pakan yang Mengandung Asam Lemak
Terproteksi. *Tesis*. Bogor: IPB.