

**PRODUKSI, PEMURNIAN DAN KARAKTERISASI ENZIM
SELULASE DARI BAKTERI *Bacillus licheniformis* TS-10 DENGAN
MEMANFAATKAN JERAMI PADI SEBAGAI SUBSTRAT**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Bidang Studi Kimia**



Oleh:

EXCEL DEBORA SILAEN

08031282126034

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2025

HALAMAN PENGESAHAN

**PRODUKSI, PEMURNIAN DAN KARAKTERISASI ENZIM SELULASE
DARI BAKTERI *Bacillus licheniformis* TS-10 DENGAN
MEMANFAATKAN JERAMI PADI SEBAGAI SUBSTRAT**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Kimia

Oleh:

EXCEL DEBORA SILAEN

08031282126034

Indralaya, 17 Juli 2025

Menyetujui,

Dosen Pembimbing



Dr. Heni Yohandini, M.Si.

NIP. 197011152000122004

Mengetahui,

Dekan FMIPA



Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D.

NIP. 197111191997022001

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi Excel Debora Silaen (08031282126034) dengan judul "Produksi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 dengan Memanfaatkan Jerami Padi sebagai Substrat" telah diseminarkan di hadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 16 Juli 2025 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Indralaya, 17 Juli 2025

Ketua :

1. **Prof. Dr. Miksusanti, M.Si.**
NIP. 196807231994032003

()

Anggota :

1. **Dr. Heni Yohandini, M.Si.**
NIP. 197011152000122004
2. **Prof. Dr. Elfita, M.Si.**
NIP. 196903261994122001

()
()

Mengetahui,

Dekan FMIPA


Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D.
NIP. 197111191997022001

Ketua Jurusan Kimia


Prof. Dr. Muharni, M.Si.
NIP. 196903041994122001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Excel Debora Silaen

NIM : 08031282126034

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjaan strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan cara mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 17 Juli 2025

Penulis.



Excel Debora Silaen

NIM. 08031282126034

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Excel Debora Silaen
NIM : 08031282126034
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "hak bebas royalti non-eksklusif" (*nonexclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah yang berjudul "Produksi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 dengan Memanfaatkan Jerami Padi sebagai Substrat". Dengan hak bebas *royalty non-exclusive* ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, edit/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasi tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 17 Juli 2025

Yang menyatakan,



Excel Debora Silaen

NIM. 08031282126034

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Pencobaan-pencobaan yang kamu alami ialah pencobaan-pencobaan biasa, yang tidak melebihi kekuatan manusia. Sebab Allah setia dan karena itu Ia tidak akan membiarkan kamu dicobai melampaui kekuatanmu. Pada waktu kamu dicobai Ia akan memberikan kepadamu jalan ke luar, sehingga kamu dapat menanggungnya.

(1 Korintus 10:13)

Tetapi kamu ini, kuatkanlah hatimu, jangan lemah semangatmu, karena ada upah bagi usahamu!

(2 Tawarikh 15:7)

Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang.

(Amsal 23:18)

Skripsi ini dipersembahkan sebagai ungkapan syukur kepada Tuhan yang telah memberikan berkat dan anugerah-Nya kepada penulis dan kepada kedua orang tua Bapakku Tumpak Silaen dan Mamakku Asuan, S.Pd, Opung Mangapul Silaen (Doli), Ema Leni Wati, Ceceku Vania Amaris Silaen, dan seluruh pihak yang selalu membantu, mendukung dan mendoakan penulis selama proses menempuh pendidikan sarjana

KATA PENGATAR

Segala puji syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas anugerah dan kasih setia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul “Produksi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 Dengan Memanfaatkan Jerami Padi sebagai Substrat”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains program studi kimia, bidang penelitian biokimia. Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan, bimbingan, motivasi, serta doa dari kedua orangtua, keluarga, sahabat dan teman-teman yang terlibat. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang memberikan segala berkat, kekuatan dan pertolongan, hingga penulis bisa menyelesaikan studi selama 4 tahun dan memperoleh gelar sarjana tepat waktu.

2. Bapakku tersayang, bapak Tumpak Silaen, sosok laki-laki hebat yang selalu memprioritaskan anaknya, selalu berusaha memberikan yang terbaik bagi kedua putrinya, dan yang selalu bangga akan pencapaian anaknya. Makasih banyak pak atas pengorbanan, ketulusan, dan kasih sayang bapak, dalam merawat kami anak-anakmu. Maafkan aku, pak kalau selama ini aku sering melawan bapak, tidak nurut perintah, menyakiti hati bapak, kurang maksimal dalam menjaga bapak ketika sakit, dan belum bisa dan tidak akan bisa membalas seluruh kebaikan bapak. Pak, aku sudah berusaha semaksimal mungkin untuk menyelesaikan kuliah ini dengan masa studi tepat waktu yaitu 4 tahun, tetapi Tuhan memanggil bapak sebelum waktu wisuda itu tiba. Tak pernah telintas dipikranku, bahwa bapak akan pergi dalam waktu yang sangat cepat. Rasanya betul-betul sakit, sedih, terkejut dan selalu rindu kehadiran bapak. Tapi aku percaya, bapak pasti bangga dengan semua perjuangan yang sudah aku lakukan, dan aku percaya bahwa bapak sekarang sudah senang, dan tenang di sisi Tuhan. Aku sayang bapak dan akan selalu mengenang bapak.

3. Mamakku tercinta ibu Asuan, S.Pd, wanita yang sangat kuat, tegar dan sabar dalam menghadapi segala cobaan yang sangat berat di tahun ini. Mak, makasih untuk semua dukungan baik dalam doa dan motivasi hingga aku bisa melalui semua rintangan dan tantangan dalam menyelesaikan studi ini. Tanpa

mamak, mungkin aku sudah menyerah dengan semua keadaan yang terjadi. Sehat-sehat terus mak, panjang umur dan selalu bahagia.

4. Opung Mangapul Silaen (Doli), opung terbaik yang selalu mendukung, memotivasi cucunya. Makasih banyak pung sudah memberikan kasih sayang yang tulus untuk aku, meskipun opung sudah di surga, aku berharap opung bisa bangga dengan apa yang udah aku capai.

5. Ema tersayang Oma Leni Wati, makasih banyak ema sudah menunggu aku hingga wisuda. Panjang umur dan sehat selalu ya ema, harus lihat aku sukses dulu ma.

6. Ceceku Vania Amaris Silaen, makasih untuk segala *support* yang diberikan, bantuan tenaga dari cece dan motivasi untuk aku bisa maju dan menyelesaikan tugas akhir tepat waktu.

7. Ibu Dr. Heni Yohandini, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik sekaligus dosen pembimbing tugas akhir, telah meluangkan waktu, tenaga, materi dan pemikiran untuk memberikan arahan, saran, serta masukan yang sangat berharga selama proses perkuliahan penulis, dari awal hingga akhir masa studi. Setiap arahan yang diberikan sangat membantu penulis dalam mengarungi tantangan-tantangan selama studi ini. Penulis merasa beruntung memiliki Ibu sebagai pembimbing, yang selalu siap memberikan dukungan dan nasihat yang membangun. Kebajikan Ibu dalam memberikan perhatian, serta waktu yang diberikan untuk membimbing penulis, akan selalu penulis kenang dan hargai. Semoga segala kebaikan dan ilmu yang Ibu berikan mendapat balasan yang berlimpah, dan semoga Ibu selalu diberikan kesehatan, kebahagiaan, serta kesuksesan yang tak terhingga.

8. Ibu Prof. Dr. Miksusanti, M.Si. dan Ibu Prof. Dr. Elfita, M.Si. selaku dosen pembahas. Terima kasih sudah meluangkan waktu, memberikan semangat dan motivasi, serta memberikan saran, masukan, dan arahan untuk memperbaiki kesalahan dan kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Penulis memohon maaf atas segala kesalahan baik disengaja maupun tidak disengaja.

9. Seluruh Dosen Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah mendidik, memberikan ilmu, membimbing, menasehati, mengajarkan banyak hal baru kepada

penulis selama masa studinya. Terima kasih banyak atas semua yang telah diberikan, semoga selalu diberikan kesehatan.

10. Analis kimia (Yuk Nur, Yuk Yanti dan Yuk Niar) yang telah membantu penulis selama penelitian. Staff Administrasi Kimia (Kak Iin dan Mbak Novi) yang telah banyak membantu dan direpotkan penulis dari awal hingga akhir masa studi. Terimakasih atas segala kemudahan dan perhatian yang telah diberikan.

11. Keluarga Opung Mesakh Aritonang, (Opung boru, abang ucok, kakak Surma, dan para bocil yaitu Mesakh, Sarah dan Agatha). Terimakasih banyak atas segala motivasi dan semangat yang diberikan hingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan tepat waktu.

12. Anggota KKN Internasional Kelompok 5, yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu karena jumlah kita 16 orang, terimakasih telah mewarnai kehidupan penulis dengan bersama-sama selama 1 bulan dalam suka dan duka, semoga kita bisa sukses dan bertemu lagi di lain kesempatan.

13. Anggota Kelompok 5 Studi Independen Agavi (Tsabita, Salwa, Purwanti dan Ayu), yang menjadi bagian dari perjalanan kuliah penulis selama 4 tahun ini. Walaupun kita hanya bertemu secara *online*, tetapi kebersamaan selama 4 bulan mengerjakan tugas kelompok itu sudah sangat berkesan, dan semoga kita bisa berjumpa secara *offline*.

14. Ciwi-ciwi Lab Biokimia (Allyssa Nethania, Elsa Fenalia, Mianita Sadin, Nike Oktarina, Rizkika Amalia, Yunika Mian), makasih gaes sudah solid dan mendukung perjalanan penulis mulai dari eksperimen di lab, hingga sidang sarjana. Maafkan penulis yang sering bercanda di luar batas, dan mungkin menyinggung perasaan kalian. Sukses selalu gaes dan jangan jadi asing ya.

15. Putri Anika Sari, selaku salah satu teman terbaik penulis, satu kelas ketika MK dari semester 4 hingga mengakhiri studi walau dengan waktu yang berbeda. Terimakasih sudah baik, perhatian, dan menyemangati penulis hingga bisa *survive* hidup di jurusan ini.

16. NIM 034 geng, mulai dari kasuh 2019 (Kak Aulia Sita), angkatan 2020 (Kak Putri Oktarisa), adek asuh 2022 (Sherina Siringoringo) dan adek asuh 2023 (Rani), terimakasih untuk kebersamaan selama menempuh pendidikan di kimia. Semoga kita bisa meraih apa yang kita impikan.

17. Sahabat SMP (Alicia Mercy Sitompul, dan Maria Natalia Simanungkalit) serta sahabat SMA (Febiola Mondes Manurung, dan Cindy Tri Handayani) terimakasih telah hadir dan menjadi bagian dalam perjalanan hidup penulis selama menempuh pendidikan SMP dan SMA.

18. Seluruh teman-teman Kimia angkatan 2021, yang sudah bersama-sama menimba ilmu di kampus ini. Semoga kita bisa tetap menjalin komunikasi kedepannya dan bisa sukses mewujudkan cita-cita serta harapan kita.

19. Seluruh keluarga besar Silaen, keluarga besar China, dan oarng-orang baik lainnya yang sudah dianggap sebagai keluarga, terimakasih untuk doa, nasihat hingga penulis dapat merampungkan tugas akhir dan memperoleh gelar sarjana.

20. Dan yang terakhir, diriku sendiri Excel Debora Silaen, terimakasih sudah bertahan menghadapi semua rintangan dan badai hidup, terutama di semester akhir. Banyak hal yang tak bisa diungkapkan hanya tangisan dan air mata yang bisa sedikit melegakan sakitnya dalam menerima kenyataan pahit ini, tetapi akhirnya salah satu pergumulan dihidupmu sudah berakhir, maka bangkitlah segera untuk menata masa depan. Masih ada harapan dan masih ada jalan, tetaplah semangat dan banggakan kedua orangtua dan keluargamu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu kimia di masa depan.

Indralaya, 21 Juli 2025

Penulis,

Excel Debora Silaen
NIM. 08031282126034

SUMMARY

PRODUCTION, PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF CELLULASE ENZYMES FROM THE Bacteria *Bacillus licheniformis* TS-10 BY USING BREW AS SUBSTRATE

Excel Debora Silaen: Supervised by Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University

ix, 89 pages, 13 figures, 4 tables, 11 attachment

Cellulase enzymes play a crucial role in various industries, yet challenges related to production costs and purification efficiency remain significant. This study aims to investigate the potential of pretreated rice straw as an alternative substrate for cellulase production from *Bacillus licheniformis* TS-10, and to evaluate the effectiveness of ammonium sulfate fractionation and gel filtration chromatography in the purification process. Furthermore, the enzyme was characterized based on temperature and pH variations. Enzyme production was conducted via submerged fermentation, followed by a multi-step purification process and activity assays using the DNS method. The results showed that rice straw yielded higher cellulase activity (0.566 U/mL) compared to carboxymethyl cellulose (CMC) (0.366 U/mL), with specific activities of 7.459 U/mg and 5.227 U/mg, respectively. Ammonium sulfate fractionation (20–40%) resulted in a specific activity of 37.807 U/mg with a purification fold of 5.06. Gel filtration chromatography further increased the specific activity, with the highest value observed in Fraction 7 (42.811 U/mg). Enzyme characterization revealed optimal activity at temperatures of 50–60°C and neutral pH levels (pH 6–7), depending on the fraction. These findings suggest that rice straw is a promising alternative substrate, and that the applied purification methods are effective in enhancing the quality of cellulase produced by *Bacillus licheniformis* TS-10.

Keywords: Cellulase Enzyme, *Bacillus licheniformis*, Tanjung Sakti Lahat Hot Springs, Rice Straw, Ammonium Sulfate Fractionation, Gel Filtration

Citation : 141 (1921-2025)

RINGKASAN

PRODUKSI, PEMURNIAN DAN KARAKTERISASI ENZIM SELULASE DARI BAKTERI *Bacillus licheniformis* TS-10 DENGAN MEMANFAATKAN JERAMI PADI SEBAGAI SUBSTRAT

Excel Debora Silaen : Dibimbing oleh Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas
Sriwijaya

ix, 89 halaman, 13 gambar, 4 tabel, 11 lampiran

Enzim selulase memiliki peranan penting dalam berbagai industri, namun tantangan biaya produksi dan efisiensi pemurnian masih menjadi hambatan utama. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi jerami padi hasil pretreatment sebagai substrat alternatif dalam produksi enzim selulase dari *Bacillus licheniformis* TS-10 yang diisolasi dari sumber air panas Tanjung Sakti, Lahat, serta menganalisis efektivitas tahapan fraksinasi amonium sulfat dan kromatografi filtrasi gel dalam proses pemurniannya. Selain itu, dilakukan pula karakterisasi enzim terhadap variasi suhu dan pH. Produksi enzim dilakukan melalui fermentasi cair, diikuti dengan pemurnian bertahap dan uji aktivitas enzim menggunakan metode DNS. Hasil menunjukkan bahwa jerami padi memberikan aktivitas enzim lebih tinggi (0,566 U/mL) dibandingkan CMC (0,366 U/mL), dengan aktivitas spesifik masing-masing 7,459 U/mg dan 5,227 U/mg. Pemurnian melalui fraksinasi amonium sulfat (20–40%) menghasilkan aktivitas spesifik sebesar 37,807 U/mg dengan faktor pemurnian 5,06 kali, sedangkan kromatografi filtrasi gel menghasilkan aktivitas spesifik tertinggi pada Fraksi 7 sebesar 42,811 U/mg. Karakterisasi menunjukkan aktivitas optimum enzim berada pada suhu 50–60°C dan pH netral (pH 6–7), tergantung fraksinya. Hasil ini menunjukkan bahwa jerami padi berpotensi sebagai substrat alternatif dan kombinasi metode pemurnian yang digunakan efektif dalam meningkatkan kualitas enzim selulase.

Kata Kunci : Enzim Selulase, *Bacillus licheniformis*, Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat, Jerami Padi, Fraksinasi Amonium Sulfat, Filtrasi gel

Sitasi : 141 (1921-2025)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
SUMMARY	x
RINGKASAN	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Enzim	4
2.2 Selulosa	7
2.3 Enzim Selulase	9
2.4 Bakteri Penghasil Enzim Selulase.....	11
2.5 Fermentasi Mikroba	12
2.6 Jerami Padi	14
2.7 Asam 3,5 Dinitrosalisilat.....	16
2.8 Metode Bradford	17
2.9 Presipitasi Amonium Sulfat	18
2.10 Dialisis	20
2.11 Kromatografi Filtrasi Gel	22
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	24
3.1 Waktu dan Tempat.....	24
3.2 Alat dan Bahan	24
3.2.1 Alat	24
3.2.2 Bahan	24

3.3 Prosedur Penelitian.....	25
3.3.1 Sterilisasi Alat	25
3.3.2 Preparasi Jerami Padi	25
3.3.3 Pembuatan Media	26
3.3.4 Penentuan Aktivitas Enzim Selulase	27
3.3.5 Penentuan Kadar Protein Enzim Selulase	28
3.3.6 Peremajaan Bakteri	28
3.3.7 Produksi Enzim Selulase	29
3.3.8 Pemurnian Enzim Selulase	29
3.3.9 Karakterisasi Enzim Selulase	31
3.4 Analisis Data	32
3.4.1 Penentuan Kadar Glukosa dan Aktivitas Enzim Selulase	32
3.4.2 Penentuan Kadar Protein	33
3.4.3 Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim	33
3.4.4 Penentuan Tingkat Kemurnian	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Perbandingan Aktivitas dan Aktivitas Spesifik Enzim pada Ekstrak.....	35
4.2 Pemurnian Enzim	37
4.2.1 Pemurnian Enzim dengan Fraksinasi Amonium Sulfat	38
4.2.2 Pemurnian Menggunakan Kromatografi Filtrasi Gel.....	40
4.2.3 Analisis Tingkat Kemurnian Enzim Selulase	43
4.3 Karakteristik Enzim Selulase	45
4.3.1 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim.....	46
4.3.2 Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Mekanisme Kerja Enzim Untuk Menjelaskan Spesifitasnya Terhadap Substrat.....	6
Gambar 2. Struktur Kimia Selulosa	7
Gambar 3. Struktur Kimia Eter Selulosa.....	8
Gambar 4. Diagram Hidrolisis Enzimatis Selulosa	10
Gambar 5. Karakteristik Mikroskopis Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i>	11
Gambar 6. Mekanisme pretreatment alkali..	14
Gambar 7. Mekanisme reaksi DNS dengan Glukosa.....	16
Gambar 8. Reaksi Metode Bradford	17
Gambar 9. <i>Salting-in</i> dan <i>salting-out</i> dalam seri Hofmeister	19
Gambar 10. Proses Dialisis	21
Gambar 11. Pemisahan molekul-molekul dengan ukuran berbeda melalui penyaringan gel	22
Gambar 12. Grafik perbandingan aktivitas enzim dan kadar protein tiap fraksi setelah pemurnian dengan kromatografi filtrasi gel.....	41
Gambar 13. Grafik Hasil Karakterisasi Suhu terhadap Aktivitas Enzim	46
Gambar 14. Grafik Hasil Karakterisasi pH terhadap Aktivitas Enzim	48

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Tata nama enzim dengan perkembangan terkini	5
Tabel 2. Perbandingan aktivitas ekstrak kasar media jerami padi dan CMC	35
Tabel 3. Perbandingan hasil tiap fraksi setelah fraksinasi amonium sulfat.....	39
Tabel 4. Perbandingan tingkat kemurnian dari tiap tahap pemurnian.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Diagram Alur Penelitian	65
Lampiran 2. Pembuatan Larutan	66
Lampiran 3. Kurva Standar Glukosa.....	69
Lampiran 4. Pengukuran Absorbansi Aktivitas Enzim di Setiap Tahap	70
Lampiran 5. Perhitungan Kadar Glukosa dan Aktivitas Enzim di Setiap Tahap ..	73
Lampiran 6. Tabel Kejenuhan Amonium Sulfat.....	76
Lampiran 7. Perhitungan Penambahan Amonium Sulfat.....	77
Lampiran 8. Kurva Standar BSA	78
Lampiran 9. Pengukuran Absorbansi Kadar Protein Larutan Enzim di Setiap Tahap.....	79
Lampiran 10. Perhitungan Kadar Protein Larutan Enzim dan Aktivitas Spesifik di Setiap Tahap	80
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian	82

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim selulase memegang peranan krusial dalam banyak aplikasi industri modern, mulai dari produksi bioetanol, industri tekstil, pembuatan pulp dan kertas, hingga formulasi pakan ternak. Peran strategis enzim ini terletak pada kemampuannya secara spesifik dapat menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa menjadi monomer glukosa melalui proses biokatalitik yang ramah lingkungan (Suriya *et al.*, 2016). Permintaan global terhadap enzim selulase terus mengalami peningkatan yang signifikan, seiring dengan berkembangnya industri berbasis bioteknologi yang membutuhkan enzim dengan stabilitas termal tinggi dan efisiensi katalitik yang unggul (Gupta *et al.*, 2003). Namun demikian, implementasi enzim selulase dalam skala industri masih menghadapi tantangan besar, berupa biaya produksi yang tinggi, terutama akibat ketergantungan pada substrat sintetik seperti karboksimetil selulosa (CMC) serta kompleksitas proses pemurnian yang diperlukan untuk mendapatkan enzim dengan kemurnian tinggi (Van Der Maarel *et al.*, 2002).

Jerami padi, sebagai salah satu limbah pertanian yang melimpah di Indonesia, menawarkan potensi besar untuk dikembangkan sebagai substrat produksi enzim selulase yang ekonomis. Komposisi jerami padi yang mengandung 35-45% selulosa menjadikannya sebagai bahan baku yang sangat potensial, meskipun pemanfaatannya selama ini masih sangat terbatas (Aprilyanti *et al.*, 2019). Penggunaan jerami padi sebagai pengganti CMC tidak hanya akan memberikan dampak positif dalam mengurangi biaya produksi substrat, tetapi juga sejalan dengan prinsip ekonomi sirkular melalui konversi limbah pertanian menjadi produk bernilai tambah (Argo dan Yulianingsih, 2013). Beberapa penelitian sebelumnya telah membuktikan potensi jerami padi sebagai substrat produksi enzim selulase, meskipun efisiensi konversinya masih perlu ditingkatkan melalui berbagai metode *pretreatment* untuk mengurangi kandungan lignin yang menghambat proses hidrolisis (Gunam *et al.*, 2010).

Bacillus licheniformis TS-10, salah satu strain bakteri termofilik yang berhasil diisolasi dari sumber air panas di Sumatera Selatan, menawarkan potensi besar

sebagai penghasil enzim selulase termostabil. Keunggulan utama strain ini terletak pada kemampuannya untuk tumbuh optimal pada kisaran suhu 50-65°C, yang menunjukkan adaptasi yang baik terhadap kondisi termofilik (Yohandini *et al.*, 2015). Berdasarkan karakteristik tersebut, strain ini berpotensi dalam produksi enzim selulase yang stabil pada suhu tinggi. Penelitian Noprianti (2022) menunjukkan bahwa isolat *Bacillus licheniformis* TS-10 mampu menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas yang cukup tinggi. Namun, proses pemurnian yang dilakukan masih terbatas pada tahap fraksinasi dengan amonium sulfat, sehingga tingkat kemurnian enzim yang diperoleh belum maksimal.

Metode fraksinasi amonium sulfat telah banyak digunakan dalam tahap awal pemurnian enzim, termasuk selulase. Sinatari *et al.* (2013) melaporkan bahwa fraksi amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 20–40% memberikan aktivitas spesifik enzim tertinggi pada isolat selulase dari bakteri termofilik kompos Desa Bayat Klaten, yaitu sebesar 0,749 Unit/mg protein, meningkat 3,5 kali dibandingkan aktivitas spesifik ekstrak kasar sebesar 0,212 Unit/mg protein. Proses pemurnian lanjutan pada umumnya dilakukan menggunakan kromatografi filtrasi gel, yang bekerja berdasarkan perbedaan ukuran molekul untuk memisahkan komponen protein dengan tingkat selektivitas yang lebih tinggi. Penelitian oleh Bhardwaj *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa penggabungan antara fraksinasi amonium sulfat dan kromatografi *Sephadex* G-75 dapat meningkatkan kemurnian enzim esterase hingga tingkat yang cukup tinggi. Hasil tersebut memperkuat bahwa pendekatan pemurnian bertahap melalui presipitasi dan pemisahan berdasarkan ukuran molekul efektif dalam meningkatkan kemurnian enzim. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pemurnian enzim selulase dari *Bacillus licheniformis* TS-10 menggunakan metode fraksinasi amonium sulfat dan kromatografi filtrasi gel, yang dilanjutkan dengan karakterisasi enzim terhadap variasi suhu dan pH untuk menentukan kondisi kerja optimum.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana potensi jerami padi hasil *pretreatment* sebagai substrat dalam produksi enzim selulase dari *Bacillus licheniformis* TS-10?

2. Bagaimana tahapan fraksinasi amonium sulfat dan kromatografi filtrasi gel berkontribusi terhadap proses pemurnian enzim selulase dari *Bacillus licheniformis* TS-10?
3. Bagaimana karakteristik aktivitas enzim selulase hasil pemurnian pada variasi suhu dan pH?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengkaji potensi jerami padi yang telah *dipretreatment* sebagai substrat alternatif dalam produksi enzim selulase dari *Bacillus licheniformis* TS-10.
2. Menganalisis peningkatan kemurnian enzim selulase dari *Bacillus licheniformis* TS-10 setelah melalui proses fraksinasi amonium sulfat dan kromatografi filtrasi gel.
3. Menganalisis pengaruh variasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase hasil pemurnian.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai tahapan pemurnian enzim selulase dari *Bacillus licheniformis* TS-10 dan karakteristik enzim berdasarkan variasi suhu dan pH. Selain itu, penelitian ini juga menunjukkan potensi jerami padi sebagai substrat alternatif dalam produksi enzim selulase.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-maqtari, Q. A., dan Mahdi, A. A. (2019). *Microbial enzymes produced by fermentation and their applications in the food industry - A review*. August.
- Alkando, a, dan Ibrahim, H. M. (2011). A potential new isolate for the production of a thermostable extracellular α -amylase. *Journal of Bacteriology Research*, 3(8), 129–137.
- Aluko, R. E. (2004). The extraction and purification of proteins: an introduction. *Proteins in Food Processing*, 323–351. <https://doi.org/10.1533/9781855738379.2.323>.
- Andrew, S. M., Titus, J. A., dan Zumstein, L. (1999). Dialysis and Concentration of Protein Solutions. *Current Protocols in Cell Biology*, 4(1), 1–5. <https://doi.org/10.1002/0471143030.cba03cs04>.
- Annapure, U. S., dan Pratisha, N. (2022). Psychrozymes: A novel and promising resource for industrial applications. *Microbial Extremozymes*, 185–195. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822945-3.00018-X>.
- Annisa, S.F. (2024). Produksi Enzim Protease Dari Isolat Bakteri *Bacillus Licheniformis* TS-17 Dan Pemurnian Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat Dan Kromatografi Gel Filtrasi. *Skripsi*. Palembang, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
- Aprilyanti, S., Suryani, F., dan Pratiwi, I. (2019). Optimasi Waktu Hidrolisis dan Volume Enzim Pada Proses Hidrolisis Enzimatis Selulosa Jerami Padi. *Prosiding Seminar Nasional Hasil*, 78–86. <https://core.ac.uk/download/pdf/270229381.pdf>.
- Arakawa, C. K., dan DeForest, C. A. (2017). Polymer Design and Development. In *Biology and Engineering of Stem Cell Niches*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802734-9.00019-6>.
- Argo, B. D., dan Yulianingsih, R. (2013). Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reesei* dan *Aspergillus Niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatis Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 1(1), 36–43.
- Aryani, S. W. (2012). Isolasi Dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Kapang Selulolitik *Mucor sp.B2*. *Skripsi, Universitas Airlangga*, 1–76.
- Awasthi S, Srivastava A, Singla ML. (2021). Voltammetric determination of citric acid and quinine hydrochloride using polypyrrolepentacyanonitrosylferrate/platinum electrode. *Synthetic Metals*. 161: 1707–1712. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2011.06.009>.
- Awasthi, M. K., Wong, J. W. C., Kumar, S. Awasthi, S. K., Wang Q., Wang, M., Ren, X., Zhao, J., Chen, H., dan Zhang, Z. 2018. Biodegradation of Food Waste Using Microbial Cultures Producing Thermostable α -amylase and Cellulase Under Different pH and Temperature. *Bioresource Technology*. 248: 160–170.

- Baharuddin, M., Rauf Patong, A., Ahmad, A., La nafie, N., dan Jurusan Kimia Fak Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, D. (2014). Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Hidrolisis CMC oleh Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Larva Kupu-Kupu *Cossus Cossus*. *J. Teknosains*, 8(3), 343–356.
- Bahri, S., Fidiantara, F., Muksin, Y. D., Tamami, F., Handayani, A. A. T., dan Hermansyah, H. (2021). Eksplorasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Aik Sebau Di Kawasan Taman Nasional Gunung Rinjani Kabupaten Lombok Timur. *Jurnal Pijar Mipa*, 16(2), 235–241. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i2.2470>.
- Bailey, M. J., Biely, P., dan Poutanen, K. (1992). Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *Journal of Biotechnology*, 23(3), 257–270. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(92\)90074-J](https://doi.org/10.1016/0168-1656(92)90074-J).
- Belorkar, S.A., dan Jogaiah, S. (2021). *Protocols and Applications in Enzymology*. Academic Press.
- Bhardwaj, K. K., Dogra, A., Kapoor, S., Mehta, A., dan Gupta, R. (2020). Purification and Properties of an Esterase from *Bacillus licheniformis* and it's Application in Synthesis of Octyl Acetate. *The Open Microbiology Journal*, 14(1), 113–121. <https://doi.org/10.2174/1874285802014010113>.
- Bhardwaj, N., Kumar, B., Agrawal, K., dan Verma, P. (2021). Current perspective on production and applications of microbial cellulases: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00447-6>.
- Bhardwaj, N., dan Rathod, V. K. (2024). Challenges in recovery and purification of laccases. *Bacterial Laccases: Engineering, Immobilization, Heterologous Production, and Industrial Applications*, 75–101. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91889-3.00001-7>.
- Blocher McTigue, W. C., dan Perry, S. L. (2021). Incorporation of proteins into complex coacervates. *Methods in Enzymology*, 646, 277–306. <https://doi.org/10.1016/BS.MIE.2020.06.006>.
- Brunelle, E., Le, A. M., Huynh, C., Wingfield, K., Halámková, L., Agudelo, J., dan Halánek, J. (2017). Coomassie Brilliant Blue G-250 Dye: An Application for Forensic Fingerprint Analysis. *Analytical Chemistry*, 89(7), 4314–4319. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b00510>.
- Boshagh, F. (2021). Measurement methods of carbohydrates in dark fermentative hydrogen production- A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(47), 24028–24050. <https://doi.org/10.1016/J.IJHY DENE.2021.04.204>.
- Cai, Y., Zheng, Z., Schäfer, F., Stinner, W., Yuan, X., Wang, H., Cui, Z., dan Wang, X. (2021). A review about pretreatment of lignocellulosic biomass in anaerobic digestion: Achievement and challenge in Germany and China. *Journal of Cleaner Production*, 299. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126885>.
- Chapman, J.S. (2003). Biocide resistance mechanisms. *Int Biodeter Biodegr*. 51:133- 138.

- Chen, Y. A., Ou, S. M., dan Lin, C. C. (2022). Influence of Dialysis Membranes on Clinical Outcomes: From History to Innovation. *Membranes*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/membranes12020152>.
- da Silva, R. N., Melo, L. F. de A., dan Luna Finkler, C. L. (2021). Optimization of the cultivation conditions of *Bacillus licheniformis* BCLLNf-01 for cellulase production. *Biotechnology Reports*, 29, e00599. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2021.E00599>.
- De, N., Navarro, M. V. A. S., Wang, Q., Krasteva, P. V., dan Sondermann, H. (2010). Biophysical Assays for Protein Interactions in the Wsp Sensory System and Biofilm Formation. *Methods in Enzymology*, 471, 161–184. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(10\)71010-7](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(10)71010-7).
- Deshavath, N. N., Mukherjee, G., Goud, V. V., Veeranki, V. D., dan Sastri, C. V. (2020). Pitfalls in the 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) assay for the reducing sugars: Interference of furfural and 5-hydroxymethyl furfural. *International Journal of Biological Macro molecules*, 156, 180–185. 2020.04.045.
- Dinh Vu, N., Thi Tran, H., dan Duy Nguyen, T. (2018). Characterization of Polypropylene Green Composites Reinforced by Cellulose Fibers Extracted from Rice Straw. *International Journal of Polymer Science*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1813847>.
- Dini, I. R., dan Munifah, I. (2014). Produksi dan Karakterisasi Enzim Selulase Ekstrak Kasar dari Bakteri yang Diisolasi dari Limbah Rumput Laut. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 6(3). <https://doi.org/10.17969/jtipi.v6i3.2315>
- Edison., Diharmi, A., Ilza, M., Karnila, R., Tumangger, F. (2024). Pengaruh Suhu Berbeda Terhadap Aktifitas Enzim Kolagenase Dari Usus Ikan Cunang (Congresox Talabon). *Agrointek*. 18(1): 33-39.
- Firmansyah, R., Hendrawan, A. M., dan Riandi, M. U. (2007). *Mudah dan Aktif Belajar Biologi*. PT Grafindo Media Pratama. https://books.google.co.id/books?id=WKguqRRz2_AC.
- Fouda, A., Alshallash, K. S., Atta, H. M., El Gamal, M. S., Bakry, M. M., Alawam, A. S., dan Salem, S. S. (2024). Synthesis, Optimization, and Characterization of Cellulase Enzyme Obtained from Thermotolerant *Bacillus subtilis* F3: An Insight into Cotton Fabric Polishing Activity. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(1), 207–223. <https://doi.org/10.4014/jmb.2309.09023>.
- Gaur, R., dan Tiwari, S. (2015). Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from *Bacillus vallismortis* RG-07. *BMC Biotechnology*, 15(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12896-015-0129-9>.
- Green, A. A., dan Hughes, W. L. (1955). [10] Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solutions of salts and organic solvents. *Methods in Enzymology*, 1(C), 67–90. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01014-8](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01014-8).

- Grodzki, A. C., dan Berenstein, E. (2010). Antibody purification: ammonium sulfate fractionation or gel filtration. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 588(1), 15–26. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-324-0_3.
- Gultom, M. T., William Thamrin, dan Mariana Wahyudi. (2023). Ekstrak Kasar Isolat *Bacillus* sp Sebagai Agen Peluruh Biofilm. *Keluwih: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 4(2), 8–15. <https://doi.org/10.24123/kesdok.v4i2.5676>.
- Gunam, Buda, I. B. W., Guna, K., dan Semara, I. M. Y. (2010). Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Dengan Larutan Naoh Dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi Terhadap Produksi Enzim Selulase Dari *Aspergillus Niger* Nrrl a-Ii, 264. *Jurnal Biologi*, 14(2). <http://ojs.unud.ac.id/index.php/BIO/article/view/596>.
- Gunam, I.B.W., N.S, Antara. 1999. Study on Sodium Hydroxide Treatment of Corn Stalk to Increase Its Cellulose Saccharification Enzymatically by Using Culture Filtrate of *Trichoderma reesei*. *Gitayana (Agric. Technol. J.)*. 5 (1): 34-38.
- Gunarti, D., dan Hilmanto, J. K. (2024). *Isolation of Thiamine-Binding Protein from Black Glutinous Rice Bran (Oryza sativa var.Glutinosa) Using Ammonium*. 5(2), 162–170.
- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., dan Chauhan, B. (2003). Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38(11), 1599–1616. [https://doi.org/10.1016/S00329592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S00329592(03)00053-0).
- Goding, J. W. (1996). Purification, Fragmentation and Isotopic Labelling of Monoclonal Antibodies. *Monoclonal Antibodies*, 192–233. <https://doi.org/10.1016/B978-012287023-1/50057-2>.
- Hall, M. (2018). Size Exclusion Chromatography (SEC). *Biopharmaceutical Processing: Development, Design, and Implementation of Manufacturing Processes*, 421–432. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100623-8.00021-9>.
- Han, X. X., Xie, Y., Zhao, B., dan Ozaki, Y. (2010). Highly sensitive protein concentration assay over a wide range via surface-enhanced raman scattering of coomassie brilliant blue. *Analytical Chemistry*, 82(11), 4325–4328. <https://doi.org/10.1021/ac100596u>.
- Hapsari, M. W., Windy Rizkiprilisa, Nindi Kusumaningtyas, dan Novia Anggraeni. (2021). Isolasi, Purifikasi Parsial dan Karakterisasi Enzim *L-Asparaginase* dari Bawang Putih (*Allium sativum*). *Science Technology and Management Journal*, 1(2), 71–79. <https://doi.org/10.53416/stmj.v1i2.37>.
- Hariyanti, H., dan Rahmi, H. (2021). Identification of amylase activity from vannamei shrimps' (*Litopenaeus vannamei*) digestive tract using size exclusion chromatography method. *Jurnal Natural*, 21(3), 123–127. <https://doi.org/10.24815/jn.v21i3.18874>.
- He, H., Yu, Q., Ding, Z., Zhang, L., Shi, G., dan Li, Y. (2023). Biotechnological and food synthetic biology potential of platform strain: *Bacillus licheniformis*. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 8(2), 281–291. <https://doi.org/10.1016/J.SYNBIO.2023.03.008>.

- Ischak, N. I., Salimi, Y. K., Botutihe, D. N. (2017). *Buku Ajar Biokimia Dasar*. Gorontalo: UNG Press.
- Jain, S., Kumar, P., Kumar, M., dan Vaidya, A. (2024). Analytical methods in the detection of proteins and peptides in tissue fluids and homogenates. *Peptide and Protein Drug Delivery Using Polysaccharides*, 235–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18925-8.00009-X>.
- Juárez-Enríquez, E., Levario-Gómez, A., Ochoa-Reyes, E., Tirado-Gallegos, J. M., Baeza-Jiménez, R., dan Buenrostro-Figueroa, J. (2022). Significance of enzyme kinetics in food processing and production. *Value-Addition in Food Products and Processing Through Enzyme Technology*, 467–482. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89929-1.00025-1>.
- Judoamidjojo, R.M., E.G Said dan L. Hartoto. (1989). *Biokonversi*. PAU Bioteknologi IPB, Bogor
- Junaidi, Y., Pertiwinigrum, A., Erwanto, Y., dan Fitriyanto, N. A. (2017). Semi Purification and Identifications Molecule Protein Weigh of Alkaline Protease Enzyme from *Bacillus cereus* LS2B. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 9(3), 89–100. <https://doi.org/10.14257/ijbsbt.2017.9.3.08>.
- Kartika, I. N., dan Ibrahim, M. (2021). Efek Manipulasi pH pada Aktivitas Enzim Selulase Bakteri *Bacillus subtilis* Strain FNCC 0059 dalam Mendegradasi Selulosa. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 10(1), 51–57. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n1.p51-57>.
- Kasi, P. D. (2021). Karakterisasi Morfologis Isolat Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Pincara. *Indigenous Biologi : Jurnal Pendidikan Dan Sains Biologi*, 3(2), 51–56. <https://doi.org/10.33323/indigenous.v3i2.40>.
- Kaur, K., dan Phutela, U. G. (2016). Enhancement of paddy straw digestibility and biogas production by sodium hydroxide-microwave pretreatment. *Renewable Energy*, 92, 178–184. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2016.01.083>.
- Kaushal, J., Singh, G., dan Arya, S. K. (2022). Emerging trends and future prospective in enzyme technology. *Value-Addition in Food Products and Processing Through Enzyme Technology*, 491–503. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89929-1.00036-6>.
- Kavya, P., Bhat, S, K., Siddappa., AGA, R., Kadappu, K.B, dan GK, M. (2019). When to Avoid Dialysis during Protein Purification? *Advances in Industrial Biotechnology*, 2(1), 1–5. <https://doi.org/10.24966/aib-5665/100009>.
- Khopade, S., Gomte, S. S., Janrao, C., Bavaskar, A., Agnihotri, T. G., Jain, A., dan Khatik, R. (2024). Peptide and protein delivery through cellulose, hyaluronic acid, and heparin. *Peptide and Protein Drug Delivery Using Polysaccharides*, 75–113. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-189258.00003-9>.
- Kodri., Argo, B.D., Yulianingsih, R. (2013). Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator Hidrolisis

- Enzimatik Jerami Padi dengan *Pretreatment Microwave*. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 1 (1): 36-43.
- Koh, J. (2011). Dyeing of cellulosic fibres. *Handbook of Textile and Industrial Dyeing*, 129–146. <https://doi.org/10.1533/9780857094919.1.129>.
- Koyama, M., Yamamoto, S., Ishikawa, K., Ban, S., dan Toda, T. (2017). Inhibition of anaerobic digestion by dissolved lignin derived from alkaline pretreatment of an aquatic macrophyte. *Chemical Engineering Journal*, 311, 55–62. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2016.11.076>.
- Krisnayana, R., Nugroho, G., dan Biyanto, T. R. (2024). *Development Production Process Cellulose from Rice Straw*. 6798, 10525–10538.
- Kunamneni, A., Plou, F. J., Alcalde, M., dan Ballesteros, A. (2014). Trichoderma Enzymes for Food Industries. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 339–344. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00024-2>.
- Kusumaningrum, A., Gunam, I. B. W., dan Wijaya, I. M. M. (2019). Optimasi Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Endoglukanase Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(2): 243-253.
- Layer, A., Schneider, P., Tissot, J.-D., dan Duchosal, M. A. (2000). Appendix 1. Essential Guides for Isolation/Purification of Immunoglobulins. *Encyclopedia of Separation Science*, 4553–4559. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226770-2/07261-6>.
- Lehninger. A.L. (1997). *Biochemistry*. New York: WorthPublisher Inc, pp. 89-101.
- Lewis T, Stone WL. *Biokimia, Protein Enzim*. [Diperbarui 24 April 2023]. Dalam: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554481/>.
- Listyaningrum, N. P., Sutrisno, A., dan Wardani, A. K. (2018). Characterization of thermostable cellulase produced by *Bacillus strains* isolated from solid waste of carrageenan. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 131(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/131/1/012043>.
- Luong, J. H. T. (2021). Fundamental aspects of protein isolation and purification. *Three Phase Partitioning: Applications in Separation and Purification of Biological Molecules and Natural Products*, 23–58. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824418-0.00013-8>.
- Maranatha, B., (2008), Aktivitas Enzim Selulase Isolat Asal Indonesia pada Berbagai Substrat Limbah Pertanian, *Skripsi*, Bogor: Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- McKelvie, I. D., dan Lyddy-Meaney, A. (2005). Phosphorus. *Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition*, 167–173. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00463-5>.
- McPhie, P. (1971). [4] Dialysis. *Methods in Enzymology*, 22(C), 23–32. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(71\)22006-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(71)22006-1).

- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>.
- Monariqsa, D., Oktora, N., Azora, A., Haloho, D. A. N., Simanjuntak, L., Musri, A., Saputra, A., dan Lesbani, A. (2012). Ekstraksi Selulosa dari Kayu Gelam (*Melaleuca leucadendron Linn*) dan Kayu Serbuk Industri Mebel. *Jurnal Penelitian Sains*, 15(C), 2012.
- Monica, A.D.N. (2007). Studi Aktivitas Spesifik Selulase Dari *Lactobacillus collinoides* Yang Dimurnikan Dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat. *Skripsi*. Malang: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Mrudula S, Murugammal R (2011) Production of cellulase by *Aspergillus niger* under submerged and solid state fermentation using coir waste as a substrate. *Braz J Microbiol* 42(3):1119–1127.
- Mukherjee, S. (2019). Isolation and Purification of Industrial Enzymes: Advances in Enzyme Technology. *Advances in Enzyme Technology, First Edition*, 41–70. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00002-9>.
- Murtiyaningsih, H., dan Hazmi, M. (2017). Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritrop*, 15(2). <https://doi.org/10.32528/agr.v15i2.1185>.
- Nanda, P. T., Siregar, S. A., Kurniawan, R., Hairudin, Meriyanti, dan Yatno. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Enzim Termostabil Air Panas Kerinci. *Chempublish Journal*, 2(1), 26–31.
- Noprianti, R. (2022). Skrining Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat. *Skripsi*. Palembang, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
- Nuryana, R. S., Rachmat W., dan Denny R. (2016). Pengaruh dosis dan waktu fermentasi kulit kopi (*Coffea arabica*) menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kandungan protein kasar dan serat kasar. *Student E-journals UNPAD*. 5 (3).
- Ó'Fágáin, C., Cummins, P.M., O'Connor, B.F. (2011). *Gel-Filtration Chromatography*. In: Walls, D., Loughran, S. (eds) *Protein Chromatography. Methods in Molecular Biology*, vol 681. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-913-0_2.
- Ojima, T. (2013). Polysaccharide-degrading enzymes from herbivorous marine invertebrates. *Marine Enzymes for Biocatalysis: Sources, Biocatalytic Characteristics and Bioprocesses of Marine Enzymes*, 333–371. <https://doi.org/10.1533/9781908818355.3.333>.
- Panda, A. K., Bisht, S. S., De Mandal, S., dan Kumar, N. S. (2019). Microbial Diversity of Thermophiles Through the Lens of Next Generation Sequencing. *Microbial Diversity in the Genomic Era*, 217–226. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814849-5.00013-7>.

- Pawar, P. A., Misra, M. C., Ghildyal, N. P., dan Karanth, N. G. (1999). Fermentation (Industrial) | Recovery of Metabolites. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 690–699. <https://doi.org/10.1006/RWFM.1999.0590>.
- Pierce, J., dan Suelter, C. H. (1977). An evaluation of the Coomassie brilliant blue G-250 dye-binding method for quantitative protein determination. *Analytical Biochemistry*, 81(2), 478–480. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90723-0](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90723-0).
- Putranto, W. S. (2007). Aktivitas proteolitik *Lactobacillus acidophilus* dalam fermentasi susu sapi. *Jurnal Ilmu Ternak*, 7(1), 69–72.
- Poedjiadi, A dan Supriyanti, F.M. (1992). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Prapulla, S. G., dan Karanth, N. G. (2014). Fermentation (Industrial) | Recovery of Metabolites. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, 822–833. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00109-9>.
- Pratiwi, C. (2024). Produksi Dan Pemurnian Enzim Amilase Dari Bakteri *Bacillus Licheniformis* TS-10 Menggunakan Filtrasi Gel. *Skripsi*. Palembang, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
- Putri, D. M., Ristiani, L., Hasanah, Q. (2023). Peran Enzim Dalam Proses Metabolisme Menurut Al-Quran Dan Hadist. *ISTISYFA: Journal Of Islamic Guidance and Conseling*. 2(01): 194-206.
- Rasul, F., Afroz, A., Rashid, U., Mehmood, S., Zeeshan, N. (2015). Screening and Characterization of Cellulase Producing Bacteria from Soil and Waste (Molasses) of Sugar Industry. *Int J Biosci*. 6 (3): 230-238.
- Ratnayani, O., Yulianthi, E., dan Wirajana, N. (2021). Fraksinasi Selulase Mikroba Selulolitik Dengan Amonium Sulfat dan Amobilisasi Pada Agar-Agar Komersial. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 9(1), 1–9.
- Razali, N. A. M., Mohd Sohaimi, R., Othman, R. N. I. R., Abdullah, N., Demon, S. Z. N., Jasmani, L., Yunus, W. M. Z. W., Ya'acob, W. M. H. W., Salleh, E. M., Norizan, M. N., dan Halim, N. A. (2022). Comparative Study on Extraction of Cellulose Fiber from Rice Straw Waste from Chemo-Mechanical and Pulping Method. *Polymers*, 14(3), 387. <https://doi.org/10.3390/polym14030387>.
- Rodger, A., dan Sanders, K. (1999). Biomacromolecular Applications of UV-Visible Absorption Spectroscopy. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 130–139. <https://doi.org/10.1006/RWSP.2000.0020>.
- Rosenberg, I. M. (1996). Protein Analysis and Purification. *Protein Analysis and Purification*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-1108-0>.
- Rusdi, B., Mulyanti, D., dan Rodiyah, M. (2014). Characterization of Peroxidase Enzyme from Water Spinach (*Ipomoea Aquatica* Forssk.) Fraction. *Procedia Chemistry*, 13, 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.12.022>.
- Rye, R. (1995). © 1995 Nature Publishing Group. *Nature*, 378(7), 603–605.

- Sakina, A., Nazir, N., Sultan, P., dan Hassan, Q. P. (2023). Bioconversion of agricultural residues and waste to value added products. *Value-Addition in Agri-Food Industry Waste through Enzyme Technology*, 355–364. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89928-4.00015-8>.
- Salwan, R., dan Sharma, V. (2023). Analytical techniques in proteomics. *Laboratory Methods in Microbiology and Molecular Biology: Methods in Molecular Microbiology*, 135–144. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95078-7.00003-6>.
- Sam-Yellowe, T.Y. (2021). Exercise 14: Protein Assay. In: *Immunology: Overview and Laboratory Manual*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-64686-8_38.
- Saras, T. (2024). *Enzim: Katalisator Biokimia*. Tiram Media.
- Saraswati, H. (2020). Industri Produksi Enzim. *Modul Bioindustri (IBL 610)*. Universitas Esa Unggul. <http://esaunggul.ac.id>.
- Saropah, D. A., Jannah, A., dan Maunatin, A. (2012). Kinetika reaksi enzimatis ekstrak kasar enzim selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. *Alchemy*. 2(1):34-45.
- Saqib, A. A. N., dan Whitney, P. J. (2011). Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono- and di-saccharide sugars. *Biomass and Bioenergy*, 35(11), 4748–4750. <https://doi.org/10.1016/J.BIO-MBIOE.2011.09.013>.
- Scopes RK. (1987). *Protein Purification and Practice*. Ed ke-2. New York: Springer Verlag.
- Scopes, R. K. (1994). *Protein purification principle and practice*. Third edition. Springer. New York.
- Serra, S., dan Morgante, L. (1980). Metodo di dosaggio delle proteine con Coomassie brilliant blue G 250. Nota I. Caratteristiche generali e analisi comparativa con i metodi del biureto e di Lowry [Method of determination of proteins with Coomassie brilliant blue G 250. I. General characteristics and comparative analysis with the biuret method and Lowry's method]. *Bollettino della Societa italiana di biologia sperimentale*, 56(2), 160–165.
- Setyoko, H., dan Utami, B. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi untuk Hidrolisis Biomassa Isolation and Characterization of Cellulase Enzymes Cow's Liquid Rumen for Biomass Hydrolysis. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), 863–867.
- Shyaula, M., Regmi, S., Khadka, D., Poudel, R. C., Dhakal, A., Koirala, D., Sijapati, J., Singh, A., dan Maharjan, J. (2023). Characterization of Thermostable Cellulase from *Bacillus licheniformis* PANG L Isolated from the Himalayan Soil. *International Journal of Microbiology*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/3615757>.

- Sinatari, H. M., dan Sarjono, A. A. L. N. (2013). Pemurnian Selulase Dari Isolat Kb Kompos Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat. *Chem Info*, 1(1), 130–140.
- Sinha, A. K., Kumar, V., Makkar, H. P. S., De Boeck, G., dan Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition – A review. *Food Chemistry*, 127(4), 1409–1426. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.02.042>.
- Solahuddin, Hanifa, N. I., Deccati, R. F., dan Muliasari, H. (2021). Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Rumen Sapi (*Bibos javanicus*). *Journal of Science, Technology, and Entrepreneurship*, 3(1), 3–9.
- Splittgerber, A. G., dan Sohl, J. (1989). Nonlinearity in protein assays by the Coomassie blue dye-binding method. *Analytical Biochemistry*, 179(1), 198–201. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90225-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90225-X).
- Stellwagen, E. (1990). [25] Gel filtration. *Methods in Enzymology*, 182, 317–328. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)82027-Y](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)82027-Y).
- Sumardi, C. N. Ekowati, dan D. Haryani. (2010). Isolasi *Bacillus* Penghasil Selulase Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. *J. Sains MIPA*, 16(1), 62–68.
- Sumner, J. B., dan Graham, V. A. (1921). Dinitrosalicylic Acid: a Reagent for the Estimation of Sugar in Normal and Diabetic Urine. *Journal of Biological Chemistry*, 47(1), 5–9. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)86093-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)86093-8).
- Sun, Y., Shi, Q. H., Zhang, L., Zhao, G. F., dan Liu, F. F. (2011). Adsorption and Chromatography. *Comprehensive Biotechnology, Second Edition*, 2, 665–679. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00123-9>.
- Suriya, J., Bharathiraja, S., Krishnan, M., Manivasagan, P., dan Kim, S. K. (2016). Marine Microbial Amylases: Properties and Applications. *Advances in Food and Nutrition Research*, 79, 161–177. <https://doi.org/10.1016/BS.AFNR.2016.07.001>.
- Tang, Z., Lin, X., Yu, M., Mondal, A. K., dan Wu, H. (2024). Recent advances in TEMPO-oxidized cellulose nanofibers: Oxidation mechanism, characterization, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 259, 129081. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.129081>.
- Tao, Z., Dong, B., Teng, Z., dan Zhao, Y. (2020). The Classification of Enzymes by Deep Learning. *IEEE Access*, 8, 89802–89811. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.2992468>.
- Tarigan, W.F., Sumardi., Setiawan, W.A. 2015. Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik *Bacillus sp.* *Seminar Nasional Sains dan Teknologi VI*, 736-747.
- Teixeira, R. S. S., Da Silva, A. S. A., Ferreira-Leitão, V. S., dan Da Silva Bon, E. P. (2012). Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid assay mislead carbohydrase activity

- measurements. *Carbohydrate Research*, 363, 33–37. <https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2012.09.024>.
- Timasheff, Serge N, dan Tsutomu Arakawa. Stabilization of protein structure by solvents, in T E Creighton (ed.), *Protein Structure: A Practical Approach* (Oxford, 1997; online edn, Oxford Academic, 31 Oct.2023), <https://doi.org/10.1093/oso/9780199636198.003.0014>, accessed 5 May 2025.
- Timasheff, S. N. (1995). Solvent stabilization of protein structure. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 40, 253–269. <https://doi.org/10.1385/0-89603-301-5:253>.
- Van Der Maarel, M. J. E. C., Van Der Veen, B., Uitdehaag, J. C. M., Leemhuis, H., dan Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94(2), 137–155. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00407-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00407-2).
- Verma, V., Verma, A., Kushwaha, A. (2012). Isolation and Production of Cellulase Enzyme from Bacteria Isolated from Agriculture Fields in District Hardoi, Uttar Pradesh, India: *Applied Science Research*. 3: 171-174.
- Vijayaraghavan, P dan Vincent, S.G.P. (2012). Purification and Characterization of Carboxymethyl Celullase from *Bacillus sp*, Isolated from a Paddy Fied. *Polish Journal of Microbiology*. 16(1): 51 – 55.
- Qaseem, M. F., Shaheen, H., & Wu, A. M. (2021). Cell wall hemicellulose for sustainable industrial utilization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 144, 110996. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2021.110996>.
- Xie, H., Du, H., Yang, X., dan Si, C. (2018). Recent Strategies in Preparation of Cellulose Nanocrystals and Cellulose Nanofibrils Derived from Raw Cellulose Materials. *International Journal of Polymer Science*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7923068>.
- Yin, L.J., H.H. Lin, and Z.R. Xiao. (2010). Purification and Characterization of a cellulase from *Bacillus subtilis* YJ1. *Journal of Marine Science and Technology*. 18 : 466-471.
- Yohandini, H., Julinar, dan Muharni. (2015). Isolation and Phylogenetic Analysis of Thermophile Community Within Tanjung Sakti Hot Spring, South Sumatera, Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(3), 143–148. <https://doi.org/10.1016/J.HJB.2015.10.006>.
- Yu, Q., Liu, R., Li, K., dan Ma, R. (2019). A review of crop straw pretreatment methods for biogas production by anaerobic digestion in China. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107, 51–58. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2019.02.020>.
- Yuliasri, N. P., dan Yandri. (2012). Studi Pengaruh Penambahan Sorbitol Terhadap Stabilitas Enzim Selulase Dari *Aspergillus niger* L-51. *Prosiding SNSMAIP III-2012*, 978, 470–476.
- Walls, D., dan Walker, J. M. (2017). Protein Chromatography. *Protein Chromatography*, 1485, 423. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6412-3>.

- Wilson, S. L., Ahearne, M., dan Hopkinson, A. (2015). An overview of current techniques for ocular toxicity testing. *Toxicology*, 327, 32–46. <https://doi.org/10.1016/J.TOX.2014.11.003>.
- Wingfield, P. (1998). Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate. *Current Protocols in Protein Science*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.1002/0471140864.psa03fs13>.
- Wood, T. M., dan Bhat, K. M. (1988). Methods for measuring cellulase activities. *Methods in Enzymology*, 160(C), 87–112. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)60109-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)60109-1)
- Zennifer, A., Senthilvelan, P., Sethuraman, S., dan Sundaramurthi, D. (2021). Key advances of carboxymethyl cellulose in tissue engineering & 3D bioprinting applications. *Carbohydrate Polymers*, 256, 117561. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.117561>.
- Zhang, L., Reddy, N., dan Koyyalamudi, S. R. (2014). *Isolation, Characterization, and Biological Activities of Polysaccharides from Medicinal Plants and Mushrooms*. 42, 117–151. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63281-4.00005-7>.
- Zhao, N., Yu, T., dan Yan, F. (2023). Probiotic role and application of thermophilic *Bacillus* as novel food materials. *Trends in Food Science & Technology*, 138, 1–15. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2023.05.020>.
- Zulmanwardi, dan Rosalin. (2020). Optimasi pelarut NaOH dan HCl pada proses pembuatan pilp selulosa dari limbah jerami padi. *Prosiding 4th Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat*, 7–12.