

**PEMURNIAN SELULASE DARI ISOLAT KB KOMPOS TERMOFILIK
DESA BAYAT KLATEN MENGGUNAKAN
FRAKSINASI AMONIUM SULFAT**

Sinatari, H.M., Aminin A.L.N., Sarjono, P.R.

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275, Telepon (024)
7474754 Email : hanums90@gmail.com

Abstrak: Pemurnian awal enzim selulase yang berasal dari isolat KB kompos termofilik Desa Bayat Klaten menggunakan fraksinasi amonium sulfat perlu dilakukan agar selulase dapat bekerja lebih efektif dalam menghidrolisis selulosa. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan selulase dari isolat KB kompos termofilik Desa Bayat Klaten yang lebih murni dari ekstrak kasar enzim selulasenya. Pemurnian selulase dari isolat KB menggunakan fraksinasi amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 0-20% (F1), 20-40% (F2), 40-60% (F3), 60-80% (F4), dan 80-100% (F5), selanjutnya dilakukan dialisis selulase menggunakan membran selofan. Tiap-tiap fraksi enzim selulase diukur aktivitas enzimnya menggunakan metode DNS dan metode Lowry. Hasil penelitian ini diperoleh aktivitas spesifik ekstrak kasar selulase sebesar 0,212 Unit/mg protein, sedangkan aktivitas spesifik selulase yang paling tinggi berada pada fraksi 2 (20-40% amonium sulfat) yaitu sebesar 0,749 U/mg protein. Aktivitas spesifik selulase pada fraksi 2 meningkat 3,5 kali dari aktivitas spesifik ekstrak kasar enzimnya.

Kata kunci: selulosa, selulase, kompos termofilik, fraksinasi amonium sulfat

Abstract: Purification of cellulase enzymes derived from KB thermophilic composting isolates of Bayat Klaten using fractionation ammonium sulphate needs to be done so that cellulase can cuts cellulose chains more effectively. This study aims to gain cellulases from KB thermophilic composting isolates of Bayat Klaten is more pure than the crude cellulase extract. Purification of cellulases from KB isolates using fractionation ammonium sulphate with saturation 0-20% (F1), 20-40% (F2), 40-60% (F3), 60-80% (F4), and 80-100% (F5), followed by cellulase dialysis using cellophane membranes. Cellulases fractions activity was measured using Dinitrosalicylic acid (DNS) method and Lowry method. This study obtained cellulase with specific activity in the crude extract cellulase of 0.212 units/mg protein and the highest enzyme specific activity in fraction 2 (20-40% ammonium sulphate) of 0.749 U/mg protein. The specific activity of cellulase in fraction 2 increased 3,5 times from the specific activity of the crude cellulase extract.

Keywords: cellulose, cellulase, thermophilic compost, fractination ammonium sulphate

I. PENDAHULUAN

Selulosa merupakan komponen lignoselulosa terbesar dan termasuk polisakarida yang melimpah di bumi^[1]. Hasil akhir dari degradasi selulosa meliputi glukosa, selobiosa, dan oligosakarida^[2]. Hidrolisis selulosa untuk menghasilkan glukosa sebagai produk utama dikatalisis oleh enzim selulase^[3].

Enzim selulase mengkatalisis hidrolisis ikatan β -1,4 glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa^[3]. Enzim selulase umumnya digunakan dalam berbagai industri seperti bioteknologi makanan, tekstil, pakan ternak, kertas, pertanian, serta dalam pengembangan penelitian^[1].

Dalam aplikasi bidang industri, proses industri membutuhkan enzim yang stabil pada suhu tinggi (enzim termostabil). Penggunaan enzim termostabil juga mengurangi resiko kontaminasi^[4]. Berbagai jenis enzim termostabil dapat diisolasi dari bakteri termofilik^[4], tidak terkecuali enzim selulase.

Bakteri termofilik dapat berasal sumber air panas^[5] maupun dari kompos^[6,7]. Dalam penelitian ini, sumber bakteri termofilik berasal dari kompos pertanian Desa Bayat, Klaten. Kompos berasal dari sampah-sampah organik yang banyak mengandung selulosa^[8]. Selulosa merupakan substrat bakteri termofilik dari kompos untuk menghasilkan enzim selulase termostabil^[9]. Semakin banyak kandungan selulosa didalam kompos, diduga semakin banyak pula konsorsium mikroba penghasil selulase.

Pemurnian selulase dari isolat KB kompos termofilik Desa Bayat Klaten bertujuan untuk pemisahan (pemurnian) enzim dari molekul-molekul protein lain^[10]. Isolat KB kompos termofilik dari Desa Bayat Klaten diperoleh dari penelitian Aminin dkk (*unpublished*). Fraksinasi protein dapat dilakukan dengan menggunakan garam amonium sulfat karena kestabilan protein di dalam amonium sulfat

dapat bertahan lama^[11]. Pada penelitian ini, fraksinasi secara bertingkat dilakukan agar diperoleh larutan dengan tingkat kejenuhan yang berbeda dan diharapkan akan diperoleh beberapa fraksi yang salah satunya memiliki aktivitas enzim paling tinggi (enzim paling murni). Fraksinasi bertingkat didasarkan pada pengaruh jumlah penambahan garam yang berbeda terhadap kelarutan protein.

Fraksinasi menggunakan amonium sulfat menghasilkan protein yang mengandung kadar garam yang tinggi. Amonium sulfat yang terkandung dalam protein dapat dihilangkan dengan cara dialisis enzim di dalam larutan bufer^[10] menggunakan membran selofan^[12].

II. METODE PENELITIAN

Alat: Alat-alat gelas, pipet mikro (*Eppendorf*), neraca analitis (*Mettler Toledo JL602-G/L*), bunsen, mikrotub (*Effendorf*), autoklaf (*Clinical Autoclave Prestige Medical Series 2100*), autoklaf (*Napco model 8000-DSE autoclave*), shaker inkubator (*TIT TS-330A*), kompor listrik (*Maspion*), lemari pendingin (*Sanyo SR-LV 239 N*), sentrifus, pengaduk magnetik (*Hotplate and Stirrer Jenway 1203*), inkas, dan spektrofotometer *UV-Vis* (*Thermo Scientific Spectronic 20*).

Bahan: isolat KB kompos termofilik Desa Bayat Klaten, akuades, ekstrak ragi (*Conda*), *beef extract*, pepton (*Conda*), KH_2PO_4 (*Merck*), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (*Merck*), CaCl_2 , FeCl_3 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*Merck*), CMC (*Carboxymethylcellulose*) (*Merck*), asam 3,5-dinitrosalisilat (*Merck*), asam trikloroasetat (TCA), NaH_2PO_4 (*Merck*), kalium natrium tartrat (*Merck*), NaOH (*Merck*), fenol (*Merck*), Na_2SO_3 (*Merck*), glukosa (*Merck*), bakto agar, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

(Merck), Na₂CO₃ (Merck), amonium sulfat (Merck), membran selofan, BaCl₂, BSA (Bovine Serum Albumin), dan larutan *Folin Ciocalteau*.

III. PROSEDUR PENELITIAN

III.1 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat KB

Sebanyak 1% isolat KB ditambahkan ke dalam media CMC cair, sedangkan media CMC cair pada botol dijadikan sebagai kontrol negatif yaitu tidak ditambahkan isolat KB. Kultur difermentasi pada suhu 50°C selama 168 jam. Setiap 12 jam dilakukan pengambilan 10 mL sampel kultur positif dan negatif. Kekeruhan bakteri diukur dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 600 nm.

III.2 Isolasi Enzim Selulase

Isolasi enzim selulase dilakukan dari isolat KB. Sebanyak 1% isolat KB ditambahkan ke dalam media CMC cair. Kultur difermentasi pada 50°C hingga fase log tercapai. Setelah itu, fermentasi dihentikan dan dilakukan sentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit pada 4°C^[13]. Supernatan (filtrat) yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim selulase (Ek).

III.3 Pemurnian Enzim Selulase

a. Fraksinasi Selulase Menggunakan Amonium Sulfat

Ekstrak kasar enzim selulase yang telah didapatkan, ditambahkan dengan amonium sulfat (0-20%) secara perlahan-lahan dan diaduk menggunakan pengaduk magnetik dalam keadaan dingin hingga larut dan disimpan selama semalam dalam kulkas^[14]. Jumlah amonium sulfat yang ditambahkan didasarkan pada tabel kejenuhan amonium sulfat 0-20%, 20-40%, 40-60%, 60-80%, dan 80-100%. Campuran (ekstrak kasar + garam) disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit

pada suhu 4°C^[13], kemudian endapan yang diperoleh dipisahkan dan disuspensikan dalam 0,05 M bufer natrium fosfat pH 7^[14]. Tahap ini menghasilkan endapan enzim selulase fraksi 1 (0-20%), sedangkan filtrat yang diperoleh ditambahkan amonium sulfat berdasarkan tabel tingkat kejenuhan 20-40% dan disentrifus. Langkah tersebut diulang hingga tingkat kejenuhan 80-100%, sehingga diperoleh juga selulase F2 (20-40%), F3 (40-60%), F4 (60-80%), dan F5 (80-100%).

b. Dialisis Enzim Selulase

Dialisis enzim selulase menggunakan membran selofan. Membran selofan yang berisi enzim direndam dalam bufer natrium fosfat 0,05 M pH 7 lalu diaduk dengan pengaduk magnetik dalam keadaan dingin. Larutan bufer natrium fosfat 0,05 M pH 7 ditambahkan BaCl₂ tiap 1 jam, jika terbentuk endapan putih maka larutan bufer harus diganti dengan larutan bufer yang baru. Penggantian larutan bufer dilakukan hingga saat penambahan BaCl₂ tidak terbentuk endapan putih. Perlakuan tersebut diterapkan pada tiap-tiap fraksi selulase untuk mendapatkan selulase yang bebas amonium sulfat.

III.4 Penentuan Unit Aktivitas Enzim Selulase

Unit aktivitas enzim selulase diukur dari selisih absorbansi hasil inkubasi enzim selulase aktif dan enzim selulase inaktif. Penginkubasian enzim selulase aktif, yaitu dengan cara mencampurkan 0,1 mL selulase, 0,5 mL CMC, dan 0,5 mL bufer fosfat 0,05 M pH 7 dan diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit^[14]. Penambahan 0,1 mL TCA dilakukan untuk menghentikan reaksi.

Enzim selulase inaktif dibuat dengan cara menambahkan 0,1 mL TCA pada 0,1 mL selulase agar selulase terdenaturasi, selanjutnya ditambahkan CMC dan larutan bufer fosfat 0,05 M pH 7 lalu diinkubasi selama 30 menit^[14]. Sebanyak 1 mL hasil inkubasi ditambahkan dengan 1 mL larutan DNS. Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit, kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL dan absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada λ_{maks} = 487,5 nm. Panjang gelombang tersebut diperoleh dari pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan larutan glukosa standar. Penentuan kurva glukosa standar dilakukan dengan pengukuran absorbansi larutan glukosa standar yang dibuat dengan variasi konsentrasi 0,01 mg/mL; 0,05 mg/mL; 0,1 mg/mL; 0,2 mg/mL; 0,3 mg/mL; 0,35 mg/mL; 0,45 mg/mL; dan 0,5 mg/mL.

III.5 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry

Penentuan kadar protein enzim dilakukan dengan cara mereaksikan 0,1 mL selulase dengan 0,9 mL bufer natrium fosfat pH 7 dan ditambahkan dengan 5 mL larutan Lowry C lalu didiamkan selama 10 menit. Tahapan selanjutnya, penambahan 0,5 mL larutan Lowry D dan didiamkan selama 30 menit. Larutan yang dihasilkan diukur absorbansinya pada λ_{maks} = 770 nm dengan spektrofotometer *UV-Vis*. Panjang gelombang tersebut diperoleh dari pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan larutan BSA standar. Penentuan kurva BSA standar dilakukan dengan pengukuran absorbansi larutan BSA standar yang dibuat dengan variasi konsentrasi 0,25 mg/mL; 0,5 mg/mL; 0,75 mg/mL; 1 mg/mL; 1,25 mg/mL; 1,5 mg/mL; 1,75 mg/mL; 2 mg/mL; 2,25 mg/mL; dan 2,5 mg/L.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

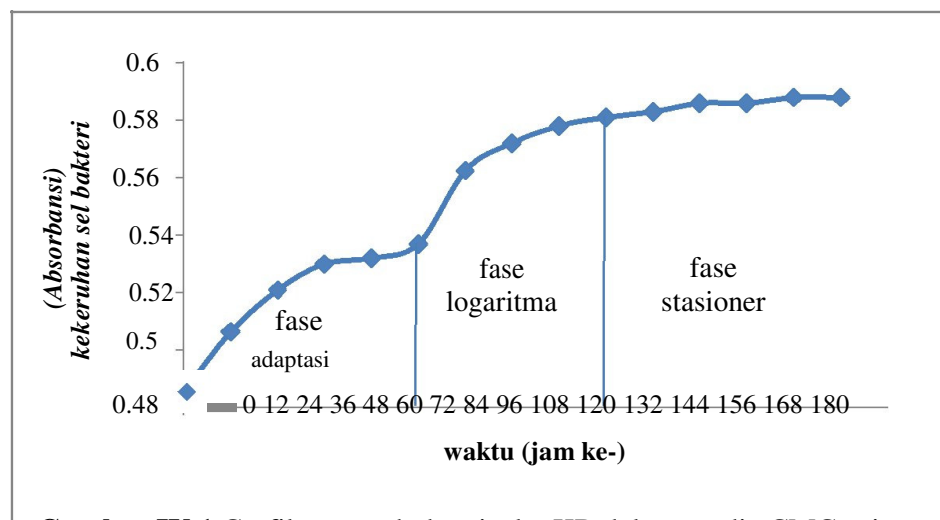
IV.1 Kurva Pertumbuhan Isolat KB

Pola pertumbuhan bakteri merupakan pola yang menunjukkan fase pertumbuhan dari suatu mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme dapat didefinisikan sebagai peristiwa peningkatan volume suatu organisme yang disertai peningkatan biomassa sel^[15]. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri ini bertujuan untuk mengetahui waktu terjadinya fase logaritma optimum

dalam rangka mengisolasi enzim selulase. Kurva pertumbuhan isolat KB ditunjukkan oleh gambar IV.1.

Berdasarkan data pada gambar IV.1 tampak bahwa fase adaptasi berada pada saat jam ke-0 sampai jam ke-60. Pada fase adaptasi, bakteri masih menyesuaikan diri dengan nutrisi yang ada di dalam media, sehingga pertumbuhannya belum optimal. Pada jam ke-60 sampai jam ke-108 merupakan fase logaritma. Pada fase logaritma, bakteri membelah diri secara eksponensial. Nutrisi di dalam media pertumbuhan CMC digunakan oleh bakteri untuk tumbuh dan membelah diri.

Pada jam ke-108 sampai jam ke-168 merupakan fase stasioner. Pada fase stasioner, laju pembiakan sel sama dengan laju kematian sel sehingga jumlah keseluruhan bakteri tetap. Kecepatan pertumbuhan bakteri mulai melambat karena semakin berkurangnya nutrisi yang terkandung dalam media pertumbuhan CMC. Isolasi enzim selulase dilakukan pada jam ke-72 karena pada ke-60 hingga jam ke-72 terjadi peningkatan pertumbuhan yang drastis dibandingkan pada jam-jam lain pada fase logaritma.



Gambar IV.1 Grafik pertumbuhan isolat KB dalam media CMC cair

Menurut^[16], jumlah bakteri yang tumbuh pada fase logaritma adalah maksimal sehingga akan dihasilkan pula enzim selulase secara maksimal.

IV.2 Isolasi dan Pemurnian Enzim Selulase menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat

Untuk mendapatkan selulase, dilakukan isolasi selulase dari isolat KB. Pemurnian enzim selulase dilakukan dengan cara fraksinasi menggunakan amonium sulfat, dan selanjutnya selulase didialisis menggunakan membran selofan. Tiap-tiap fraksi enzim selulase yang dihasilkan diukur aktivitas enzim selulasenya dengan menggunakan substrat CMC dan kadar glukosa yang dihasilkan diukur menggunakan metode DNS^[22]. Tiap-tiap fraksi selulase juga diukur kadar proteinnya menggunakan metode Lowry. Data aktivitas spesifik enzim selulase hasil isolasi dan pemurnian awal ditunjukkan oleh gambar IV.2.

Aktivitas spesifik enzim selulase adalah jumlah unit aktivitas enzim selulase per mg protein enzim selulase pada kondisi optimum^[17].

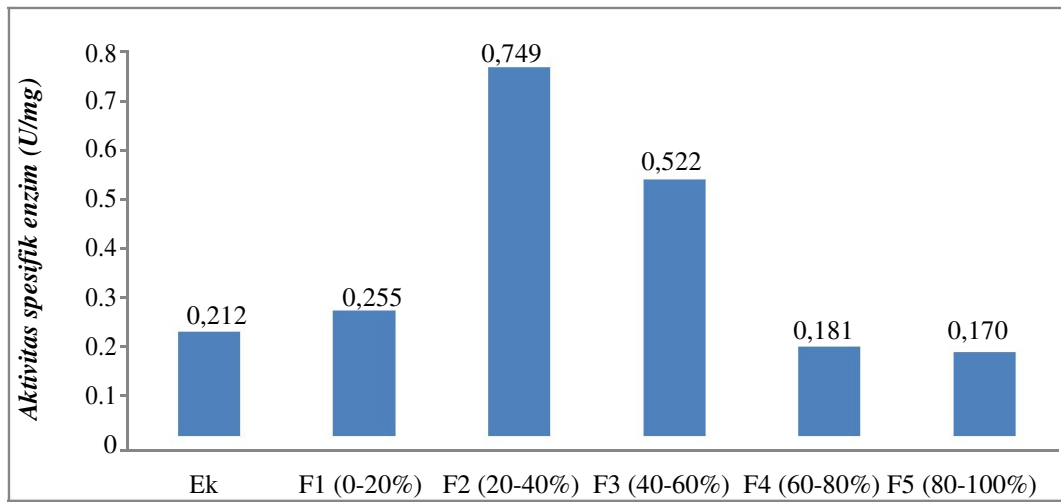
Isolasi enzim selulase bertujuan untuk memisahkan enzim selulase dari protein-protein lain^[18]. Enzim selulase ekstraseluler didapatkan dengan cara sentrifugasi terhadap media pertumbuhan bakteri sehingga enzim akan berada di dalam supernatan (filtrat). Endapan yang diperoleh merupakan sel bakteri KB, sedangkan supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim selulase (Ek).

Fraksinasi protein bertujuan untuk pemisahan (pemurnian) ekstrak kasar protein (enzim) dari molekul-molekul

protein lain^[10]. Fraksinasi protein dapat dilakukan dengan menggunakan garam amonium sulfat.

Pengendapan protein menggunakan prinsip *salting out*, yaitu mengendapnya protein (enzim) karena air berikatan dengan garam amonium sulfat. Molekul protein terdiri dari bagian asam amino hidrofobik dan bagian asam amino hidrofilik. Bagian asam amino hidrofilik dari protein berinteraksi dengan molekul air sehingga protein yang mengandung asam amino hidrofilik akan larut dalam air, sedangkan protein yang mengandung asam amino hidrofobik akan mengendap terlebih dahulu.

Ketika konsentrasi garam amonium sulfat meningkat secara bertahap pada saat fraksinasi, beberapa molekul air akan tertarik oleh ion garam amonium sulfat, yang menurunkan jumlah molekul air yang tersedia untuk berinteraksi dengan asam amino hidrofilik dari protein, sehingga protein



Gambar IV.2 Grafik aktivitas spesifik enzim selulase dari tiap-tiap fraksi enzim

yang mengandung asam amino hidrofilik akan mengendap^[19].

Fraksinasi menggunakan amonium sulfat menghasilkan protein yang mengandung kadar garam yang tinggi. Amonium sulfat yang terkandung dalam protein dapat dihilangkan dengan cara dialisis enzim di dalam larutan bufer^[10] menggunakan membran selofan^[12]. Proses dialisis dilakukan pada suhu dingin untuk mencegah terjadinya kerusakan protein enzim yang dimurnikan. Prinsip dialisis adalah difusi, yaitu terjadinya perpindahan zat terlarut dari larutan berkonsentrasi tinggi ke larutan berkonsentrasi yang rendah. Konsentrasi bufer di luar membran selofan lebih rendah daripada konsentrasi bufer di dalam membran selofan sehingga amonium sulfat dapat berdifusi ke luar membran selofan dan terpisah dari selulase. Pada tahap dialisis juga terjadi proses pemisahan molekul berdasarkan ukuran melalui pori membran selofan^[20]. Pori ini memungkinkan molekul kecil, seperti pelarut, garam, dan metabolit kecil untuk berdifusi melintasi membran, sedangkan molekul yang lebih besar,

seperti enzim akan tertahan di dalam membran selofan.

Keberadaan amonium sulfat dalam larutan bufer maka dilakukan dengan penambahan BaCl_2 . Amonium sulfat akan bereaksi dengan BaCl_2 menghasilkan endapan putih BaSO_4 . Dialisis dihentikan saat penambahan BaCl_2 dalam larutan bufer tidak lagi menghasilkan endapan putih BaSO_4 ,

yang mengindikasikan bahwa tidak ada lagi amonium sulfat yang terkandung dalam fraksi enzim. Enzim selulase yang dihasilkan dari proses dialisis merupakan enzim selulase yang terbebas dari amonium sulfat.

Tiap-tiap fraksi enzim selulase diukur aktivitas enzim selulasenya dengan menggunakan substrat CMC. Satu unit aktivitas enzim selulase merupakan kemampuan enzim selulase yang dapat menghasilkan 1 mg/mL glukosa pada kondisi optimum^[3].

Penentuan kadar protein enzim dilakukan dengan menggunakan metode Lowry berdasarkan kurva standar BSA (*Bovine Serum Albumin*). Penambahan larutan Lowry akan menghasilkan larutan kompleks berwarna hijau kebiruan^[21] yang diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}). Pada penelitian ini, λ_{maks} untuk mengukur kadar protein adalah 770 nm.

Berdasarkan data pada gambar IV.2 menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim tertinggi berada pada enzim fraksi 2 (20-40%). Pada enzim fraksi 2, aktivitas spesifik enzim meningkat 3,5 kali dari aktivitas spesifik ekstrak kasar enzimnya. Aktivitas spesifik enzim merupakan suatu ukuran kemurnian enzim^[17], dalam hal ini fraksi 2 adalah fraksi enzim yang paling murni dibandingkan dengan fraksi enzim yang lain.

V. Kesimpulan

Telah didapatkan selulase dari isolat KB kompos termofilik Desa Bayat Klaten yang lebih murni dari ekstrak kasar enzim selulasenya. Aktivitas spesifik ekstrak kasar selulase sebesar 0,212 Unit/mg protein, sedangkan aktivitas spesifik selulase yang paling tinggi berada pada fraksi 2 (20-40% amonium sulfat) yaitu sebesar 0,749 U/mg protein. Aktivitas spesifik selulase pada fraksi 2 meningkat 3,5 kali dari aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim selulasenya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kovács, K., 2009, Production of Cellulolytic Enzymes with *Trichoderma Atroviride* Mutants for The Biomass-To-Bioethanol Process, *Tesis*
- [2] Bélaich, J.P., Tardif, C., Bélaich, A., dan Gaudin, C., 1997, The Cellulolytic System of *Clostridium cellulolyticum*, *Journal of Biotechnology*, 57, 3-14
- [3] Afsahi, B., Kazemi, A., Kheirloom, A., dan Nejati, S., 2007, Immobilization of Cellulase on Non-Porous Ultrafine Silica Particles, *Scientia Irania*, Vol. 14, No. 4, 379-383
- [4] Turner, P., Mamo, G., dan Karlsson, E.N., 2007, Potential and Utilization of Thermophiles and Thermostable Enzymes in Biorefining, Review, *Microbial Cell Factories*, 6:9, 1-23
- [5] Aminin, A.L.N., Madayanti, F., Aditiawati, P., dan Akhmaloka, 2007, 16S Ribosomal RNA-Based Analysis of Thermophilic Bacteria in Gedongsongo Hot Spring, *Microbiology Indonesia*, Vol. 1, No.1, 37-42
- [6] Baharuddin, A.S., Razak, M.N.A., Hock, L.S., Ahmad M.N., Aziz, S.A., Rahman, N.A.A., dan Shah, U.K.M., 2010, Isolation and Characterization of Thermophilic Cellulase-Producing Bacteria from Empty Fruit Bunches-Palm Oil Mill Effluent Compost, *American Journal of Applied Sciences*, 7 (1), 56-62
- [7] Al Bashori, K.A., 2011, Isolasi Komunitas Bakteri Termofilik Selulolitik dari Kompos Serta Identifikasi secara Fenotipik dan Genotipik dengan Metode SSCP, *Skripsi*, FSM Universitas Diponegoro, Semarang
- [8] Ghaffari, S., Sepahi, A.A., Razavi, M.R., Malekzadeh, F., dan Haydarian, H., 2011, Effectiveness of Inoculation with Isolated *Anoxybacillus* sp. MGA110 on Municipal Solid Waste Composting Process, *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 5(30), 5373-5378
- [9] Dincer, A., dan Telefoncu, A., 2007, Improving The Stability of Cellulase by

- Immobilization on Modified Polyvinyl Alcohol Coated Chitosan Beads, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 45, 10-14
- [10]Wang, W., Liu, Q.J., dan Cui, H., 2007, Rapid Desalting and Protein Recovery with Phenol After Ammonium Sulfate Fractionation, *Electrophoresis*, 28, 2358–2360
- [11]Scope, R.K., 1994, *Protein Purification: Principles and Practice*, Edisi ke-3, Spinger Science Business Media, New York
- [12]Hames, D., dan Hooper, N., 2005, *Biochemistry*, Edisi ke-3, 64-65, Taylor and Francis Group, New York
- [13]Gupta, P., Samant, K., dan Sahu, A., 2012, Isolation of Cellulose-Degrading Bacteria and Determination of Their Cellulolytic Potential, *International Journal of Microbiology*, Article ID 578925, 1-5
- [14]Ramanathan, G., Banupriya, S., dan Abirami, D., 2010, Production and Optimization of Cellulase from *Fusarium Oxysporum* by Submerged Fermentation, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 69, 454-459
- [15]Risdianto, H., Setiadi, T., Suhardi, S.H., dan Niloperbowo, W., 2007, Pemilihan Spesies Jamur dan Media Imobilisasi untuk Produksi Enzim Ligninolitik, *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia Dan Proses*, ISSN : 1411 – 4216, 1-6
- [16]Volk, W.A., dan Wheeler, M.F., 1993, *Mikrobiologi Dasar*, Jilid 1, Edisi ke-5, 85-90, Erlangga
- [17]Lehninger, A.L., 1982, *Dasar-Dasar Biokimia*, Alih Bahasa: Thenawidjaja, M., Jilid 1, Erlangga, Jakarta
- [18]Wirahadikusumah, M., 1989, *Biokimia: Protein, Enzim, dan Asam Nukleat*, Edisi ke-4, Penerbit ITB, Bandung
- [19]Prasad, N.K., 2010, *Downstream Process Technology: a New Horizon in Biotechnology*, Eastern Economy Edition, PHI Learning Private Limited, New Delhi
- [20]Voet, D., dan Voet, J.G., 1995, *Biochemistry*, Edisi ke-2, 85, John Willey & Son, Inc., Canada
- [21]Lowry, O., Resebrough, J., Farr, A., dan Rondall, R., 1951, Protein Measurement with The Folin Phenol Reagent, *J. Bio. Chem.*, 193, 265-275
- [22]Miller, G.L., 1959, Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar, *Anal. Chem*, 31, 426-428

Chem Info

Vol 1, No 1, Hal 130 - 140 , 2013

Semarang, Desember 2012

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

Dr. Agustina L.N.A.
NIP 19700801 199903 2 001

Purbowatiningrum Ria S, M.Si
NIP 19730314 199903 2 001