

AKTIVITAS SPESIFIK SELULASE *Serratia marcescens* DENGAN VARIASI KONSENTRASI AMONIUM SULFAT ((NH₄)₂SO₄) DAN pH

Prawatya Cahyani^{1*}, Wijanarka^{2*}, Budi Raharjo^{3*}

Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Matematika
Universitas Diponegoro
Email: prawatya24@gmail.com

Abstract

*Cellulose is a component found in the cellular structure in almost all plant matter, its existence considered to be the most abundant on earth, and even excreted by some bacteria. Cellulose degradation is performed by cellulase enzymes consisting of three components, namely, endoglucanase, exoglucanase, and α -glucosidase enzyme with glucose as the final product. Cellulase utilization is often used in the textile, food and paper industries, whereas in the field of pharmaceuticals, cellulase enzymes are used to maintain optimal digestive health or produce substances that act as binding tablets such as methylcellulose, ethylcellulose, and hydroxypropylcellulose. The purpose of this study is to determine the concentration of ammonium sulfate and optimum pH for cellulose specific activity of *Serratia marcescens*. Determination of cellulase activity was done by DNS method, while determination of protein content was done by Lowry method. This research uses Randomized Block Design (RAK) factorial pattern with two factors. The first factor was variation of ammonium sulfate concentration which consisted of (0%, 0,75% and 1%). The second factor is the variation of pH consisting of 6, 7, and 8. Each factor is repeated 3 times. The data obtained were analyzed using Analysis Of Variance (ANOVA). The results showed that the combination of ammonium sulphate concentration variation with pH was not optimum to increase cellulose specific activity of *S. marcescens*.*

Keywords: Cellulase, Ammonium sulfate, pH, Serratia marcescens

Abstrak

Selulosa adalah komponen yang ditemukan dalam struktur selular hampir semua materi tanaman, keberadaannya dianggap paling melimpah di bumi, dan bahkan diekskresikan oleh beberapa bakteri. Degradasi selulosa dilakukan oleh enzim selulase yang terdiri dari tiga komponen, yaitu, endoglukanase, eksoglukanase, dan enzim α -glukosidase dengan glukosa sebagai produk akhir. Pemanfaatan selulase pada bidang industri sering digunakan pada industri tekstil, makanan, dan kertas, sedangkan pada bidang kefarmasian, enzim selulase digunakan untuk melancarkan pencernaan atau memproduksi bahan-bahan yang berfungsi sebagai pengikat tablet seperti metilselulosa, etilselulosa, dan hidrosipropilselulosa. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi amonium sulfat dan pH optimum untuk aktivitas spesifik selulase *Serratia marcescens*. Penentuan aktivitas selulase dilakukan dengan metode DNS. Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode lowry. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah variasi konsentrasi amonium sulfat yang terdiri yaitu (0%, 0,75% dan 1%) . Faktor kedua adalah variasi pH yang terdiri yaitu 6, 7, dan 8. Masing-masing faktor dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Data

yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analysis Of Variance* (ANOVA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi antara variasi konsentrasi amonium sulfat dengan pH belum optimum untuk meningkatkan aktivitas spesifik selulase *S. marcescens*.

Kata Kunci: Selulase, Amonium sulfat, pH, Serratia marcescens

PENDAHULUAN

Selulosa merupakan komponen struktural utama dinding sel dari tanaman hijau. Untuk mendapatkan serat selulosa dari tumbuhan, harus dilakukan beberapa perlakuan untuk mengekstraksi selulosa keluar dari dinding sel tersebut. Karakteristik serat selulosa antara lain muncul karena adanya struktur kristalin dan amorf serta bersifat hidrofilik (suka air) dan *biodegradable* (Putera, 2012).

Pemanfaatan selulosa telah dilakukan di berbagai bidang, diantaranya untuk produksi kertas, fiber, dan senyawa kimia turunannya untuk industri plastik, film fotografi, dan lainnya. Produk hidrolisis selulosa yaitu gula (glukosa) juga merupakan senyawa yang vital dalam industri bioproses. Oleh karena itu penggunaan selulosa sebagai sumber glukosa, di samping sebagai sumber energi terbarukan yang murah dan melimpah untuk berbagai keperluan semakin berkembang. (Taruna *et al.*, 2010).

Selulase merupakan enzim yang memegang peranan penting dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa. Enzim selulase dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti tanaman, insekta dan mikroorganisme selulolitik (Saropah *et al.*, 2012). Pengelompokkan selulase berdasarkan kespesifikan substrat masing-masing enzim yaitu: endo- α -1,4- β -glukanase (α -1,4-D-glukan-4-glukanohidrolase) menghidrolisis ikatan glikosidik α -1,4 secara acak terutama pada daerah amorf serat selulosa. Enzim ini dapat bereaksi dengan selulosa kristal tetapi kurang aktif. Selain itu, endo- α -1,4-

glukanase tidak menyerang selobiosa, tapi menghidrolisis selodekstrin dan selulosa yang telah dilunakkan dengan asam fosfat dan selulosa yang telah disubstitusi (seperti CMC) (Kovács, 2009).

Serratia marcescens, merupakan bakteri yang bersifat selulolitik. Menurut Munifat *et al.* (2011), Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan memiliki koleksi isolat bakteri penghasil enzim potensial, diantaranya adalah isolat bakteri SGS 1609 yang diisolasi dari rumput laut *Sargassum* sp., dimana Isolat bakteri SGS 1609 diketahui bersifat selulolitik dan isolat bakteri SGS 1609 telah teridentifikasi sebagai *Serratia marcescens*. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Sethi *et al.* (2013) menjelaskan bahwa *Pseudomonas fluorescens*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Serratia marcescens* dapat menghasilkan selulosa secara maksimal.

Salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas selulase adalah pH. Enzim sangat peka terhadap perubahan derajat keasaman, pada keadaan asam atau basa yang sangat kuat enzim menjadi nonaktif. Pada umumnya enzim intraseluler bekerja efektif pada kisaran pH 7,0. Jika pH dinaikkan atau diturunkan diluar pH optimumnya dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim dengan cepat (Hart *et al.*, 2003).

S. marcescens membutuhkan nutrisi dalam kehidupannya, yang berperan sebagai sumber energi dan juga untuk memproduksi selulase. Salah satu sumber nutrisi yang dibutuhkan adalah nitrogen, yang dapat digunakan dalam bentuk organik maupun anorganik (Waluyo, 2004). $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dapat

meningkatkan pertumbuhan mikroba lebih tinggi selama proses fermentasi dibandingkan nutrisi sumber nitrogen lainnya (Arifwan *et al.*, 2016). Sethi *et al.* (2013), dalam penelitiannya mendapatkan bahwa di antara berbagai sumber nitrogen yang diuji, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ditemukan sebagai sumber nitrogen terbaik untuk meningkatkan aktivitas selulase *S. marcescens*.

Aktivitas spesifik enzim merupakan suatu ukuran kemurnian yang ukuran nilainya akan meningkat selama proses pemurnian. Penentuan aktivitas spesifik selulase dapat diperoleh dengan cara membagi hasil aktivitas enzim dengan kadar proteinnya. Satuan dari aktivitas spesifik enzim yaitu jumlah unit enzim per mg pada kondisi optimum (Wijaya, 2002).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan pH optimum untuk aktivitas spesifik selulase oleh *S. marcescens*.

METODE

Mikroorganisme dan Kultur Medium

Kultur murni *S. marcescens* diperoleh dari koleksi Laboratorium Bioteknologi FSM Universitas Diponegoro. Medium untuk peremajaan kultur ditumbuhkan pada media CMC agar (g/L) yang terdiri dari yeast ekstrak 0,2%, CMC agar 5%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2%, NaCl 0,25% dan akuades 1000 ml (Al-Arif *et al.*, 2012).

Pembuatan Kultur Stok dan Strater

Isolat *S. marcescens* diinokulasikan ke dalam medium CMC, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang sebagai kultur stok. Sebanyak 1 ose bakteri yang telah tumbuh diinokulasikan ke dalam medium CMC cair yang selanjutnya dapat digunakan sebagai kultur starter dengan kepadatan sel 10^8 cfu/ml (Saropah *et al.*, 2012).

Medium untuk Pertumbuhan dan Produksi Enzim Selulase

Komposisi medium produksi sama persis dengan medium kultur, tetapi ditambah dengan perlakuan sebagai berikut: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0% (b/v) sebagai kontrol (P_0); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,75% (b/v) pada perlakuan pertama (P_1); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1% pada perlakuan kedua (P_2) dan aquades 1000 ml. pH ditetapkan 6, 7 dan 8 dengan menggunakan buffer fosfat sebagai pelarut. Selanjutnya medium disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Kemudian dilakukan inokulasi starter *S. marcescens* 5% (10^8 sel/ml) pada erlenmeyer yang berisi 50 ml medium untuk produksi enzim serta di agitasi menggunakan alat shaker dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya dilakukan pengamatan pertumbuhan dan produksi enzim setiap 4 jam sekali selama 24 jam. Pengukuran OD dilakukan dengan spektrofotometer Optima (Tipe SP300 pada $\lambda = 520$). Pengulangan produksi enzim dilakukan sebanyak 3 kali (Al-Arif *et al.*, 2012).

Pengukuran Aktivitas Selulase

Aktivitas selulase ditentukan dengan metode 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) dengan menggunakan 1% CMC dalam buffer fosfat sebagai substrat. 3 buah tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing sampel AS (Absorbansi Sampel), AB (Absorbansi Blanko), AK (Absorbansi Kontrol). Tabung sampel dimasukkan 0,9 ml substrat CMC dan 0,1 ml *crude enzyme*, tabung kontrol dimasukkan 0,9 ml substrat CMC dan 0,1 ml *crude enzyme* kemudian reaksi dihentikan dalam penangas. Sedangkan tabung blanko dimasukkan 0,9 ml substrat CMC dan 0,1 aquades. Ketiga tabung kemudian diinkubasikan pada suhu 50°C selama 30 menit, lalu reaksi dihentikan dan ditambahkan 1 ml reagen DNS kemudian dipanaskan kembali selama 2 menit. Ketiga tabung ditambahkan 4 ml

aquades. Ketiga tabung diukur absorbansinya pada spektrofotometer pada OD 570 nm. Konsentrasi gula reduksi yang terbentuk dapat ditentukan melalui rumus ((AS-AB) – (AK-AB)) (Wijanarka *et al.*, 2016).

Aktivitas selulase (U/ml) =

$$\frac{\mu\text{g glukosa} \times \text{faktor pengenceran} \times 1000}{V \times \text{BM glukosa} \times t}$$

Keterangan:

Aktivitas selulase = Aktivitas enzim selulase sampel (U/ml)

Faktor pengenceran = faktor pengenceran enzim (1/5)

V = volume enzim (0,1 ml)

BM glukosa = Berat molekul glukosa (180,2 gr/mol)

t = waktu inkubasi selama 30 menit

Penentuan Kadar Protein

Aktivitas spesifik enzim adalah jumlah unit enzim per protein. Kadar protein diukur dengan menggunakan metode Lowry. Supernatan sebanyak 0,5 mL ditempatkan pada sebuah tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan Reagen Lowry D sebanyak 1 mL lalu digojok dan diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit di tempat yang tidak terkena cahaya. Larutan yang telah diinkubasi, ditambahkan dengan 0,1 mL Reagen Lowry E lalu segera digojok dan diinkubasi kembali selama 30 menit pada suhu ruang di tempat yang tidak terkena cahaya. Aquades sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan pada larutan tersebut, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm menggunakan spektrofotometer. Kandungan protein ditentukan berdasarkan kurva standar Bovine Serum Albumin (BSA) yang dibuat dengan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 mg/mL. Aktivitas spesifik selulase dapat ditentukan dari:

Aktivitas spesifik selulase =

$$\frac{\text{Aktivitas selulase (U/mL)}}{\text{Kadar protein (mg/mL)}}$$

Penentuan aktivitas enzim dan kadar protein dilakukan setiap 4 jam sekali selama 24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali untuk memenuhi kaidah ilmiah, kemudian diambil nilai rata-rata (Lowry, 1951 dalam Yogyaswari, 2016).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan SPSS 23. Data diuji normalitas dan homogenitasnya. Asumsi normalitas dan homogenitas diterima, dan dilanjutkan dengan uji Anova dengan taraf signifikan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Enzim Selulase

Selulase termasuk enzim induktif dengan induser berupa selulosa yang terdapat dalam *carboxymethyl cellulose* (CMC). Produksi selulase oleh *S. marcescens* membutuhkan adanya induser dalam media fermentasinya. Induser tersebut yang akan menginduksi pembentukan selulase pada sel mikroba. Menurut Adri *et al.* (2013), jumlah enzim yang ada di dalam sel tidak tetap, dan tergantung pada indusernya. Jumlahnya akan bertambah beberapa kali lipat apabila dalam medium mengandung substrat yang menginduksi. Senyawa induser yang diperlukan umumnya berupa substrat enzim tersebut. Adanya selulosa tersebut membuat sintesis selulase dapat berjalan. Produksi enzim dipengaruhi oleh adanya sumber nutrisi yang diberikan kepada mikroorganisme salah satunya adalah sumber nitrogen. Sumber nitrogen berupa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ yang ditambahkan pada

medium ini akan digunakan untuk pembentukan asam amino penyusun enzim.

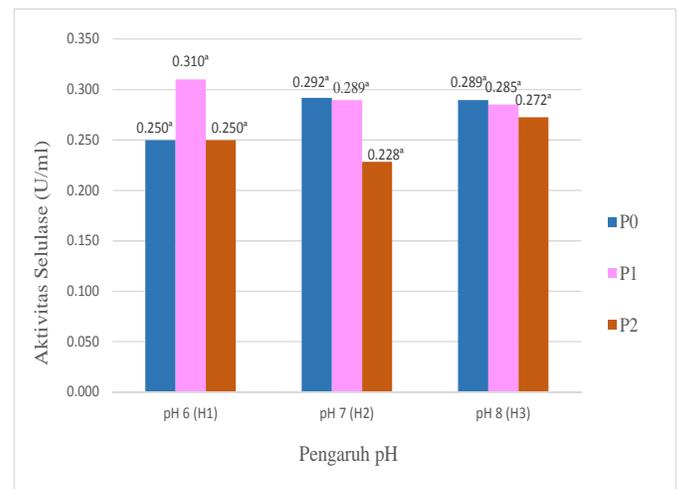
Hasil penelitian menunjukkan aktivitas selulase paling tinggi yaitu 0,310 U/mL terdapat pada perlakuan kombinasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,75% dengan pH 6 (P_1H_1). Aktivitas selulase paling tinggi untuk perlakuan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0% (P_0) yaitu 0,292 U/mL dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 % (P_2) yaitu 0,272 U/mL dengan kombinasi pH berturut-turut pH 7 dan pH 8 (Gambar 1.).

Perlakuan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,75% (P_1) mempunyai aktivitas paling tinggi ketika dikombinasikan dengan pH 6 (H_1) yang disebabkan oleh sumber nitrogen yang tersedia kadarnya sesuai dengan kebutuhan *S. marcescens* bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan Sethi *et al.* (2013) yang menemukan bahwa amonium sulfat dengan konsentrasi 0,5% merupakan sumber nitrogen terbaik untuk meningkatkan aktivitas selulase. Perbedaan kondisi ini diduga karena jenis bakteri yang digunakan berbeda, sehingga kebutuhan akan sumber nitrogen anorganik (amonium sulfat) berbeda pula. Selain itu, substrat yang digunakan juga dapat mempengaruhi kerja bakteri sehingga berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.

Aktivitas tertinggi terdapat pada pH 6. Kondisi ini sesuai dengan penelitian Fawzya *et al.* (2014) bahwa selulase dari *S.marcescens* SGS 1609 yang diproduksi dalam medium cair mengandung CMC sebagai substrat, memiliki pH optimum 6. Dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya Fawzya *et al.* (2013), menjelaskan bahwa pH optimum enzim sedikit bergeser dari 7 menjadi 6, sedangkan suhu optimum enzim sama, yaitu 50 °C. Kondisi yang sama dijelaskan dalam penelitian Juhasz *et al.* (2004) yang meneliti pengaruh pH terhadap aktivitas selulase *Trichoderma reesei* RUT C30 bahwa aktivitas selulase tertinggi diperoleh pada

pH 6. Namun, selama tahap akhir fermentasi, terjadi deaktivasi selulase.

Berdasarkan analisa sidik ragam (ANOVA) terhadap aktivitas selulase menunjukkan bahwa penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (P_0 , P_1 dan P_3) pada medium produksi tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan konsentrasi berbeda belum optimum untuk meningkatkan aktivitas selulase. Hal ini diduga bahwa, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ lebih banyak digunakan untuk mendukung proses pertumbuhan ataupun untuk pembentukan protein struktural dan pembentukan organela dalam sel.



Gambar 1. Grafik aktivitas selulase *S. marcescens* dengan perlakuan variasi konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan pH pada waktu inkubasi 12 jam .

Hasil analisa sidik ragam (ANOVA) juga menunjukkan bahwa pengaruh pH 6, 7, 8 tidak berbeda nyata, yang menunjukkan bahwa variasi pH 6, 7, 8 belum optimum untuk meningkatkan aktivitas selulase. Hal ini diduga bahwa adanya perubahan pH akibat berubahnya ion enzim atau ion

substrat, sehingga pembentukan kompleks enzim-substrat tidak optimum, akibatnya aktivitas enzim juga tidak optimum (Alam *et al.*, 2013).

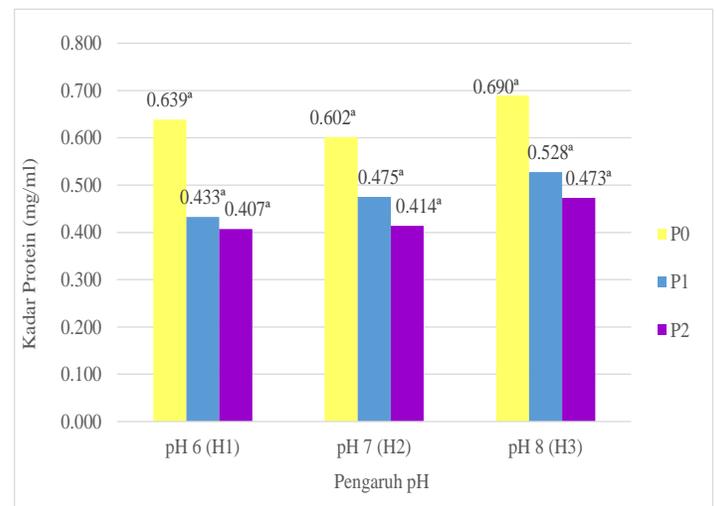
Kadar Protein

Penentuan kadar protein dalam penelitian ini dilakukan analisa secara kuantitatif dengan metode Lowry berdasarkan kurva standart BSA (*Bovine Serum Albumin*). Kadar protein harus diketahui agar dapat menentukan aktivitas spesifik enzim terkait per milligram protein (Pierce, 2005).

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam (*ANOVA*) menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan pH berbeda tidak nyata. Hal ini menunjukkan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan kombinasi pH belum optimum untuk meningkatkan kadar protein yang dihasilkan *S. marcescens*. Kadar protein *S. marcescens* tertinggi selama inkubasi 12 jam yaitu 0,690 mg/mL, yang terjadi pada perlakuan kombinasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0% dan pH 8 (P₀H₃), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya (Gambar 2.). Kadar protein paling tinggi pada perlakuan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,75% (P₁) yaitu 0,528 mg/mL dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1% (P₂) yang memiliki nilai 0,473 mg/mL, dimana keduanya dikombinasikan dengan pH 8.

Kadar protein *S. marcescens* dari ketiga perlakuan pH (6, 7, 8) memiliki nilai yang tinggi pada konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0%, hal ini terjadi karena terdapat sumber nitrogen lain yaitu yeast ekstrak. Menurut Widyastoety *et al.* (2003), yeast ekstrak merupakan sumber nitrogen yang berperan dalam proses fisiologis, seperti pembentukan protein, asam nukleat, dan koenzim. Selain itu juga berperan dalam pertumbuhan sel serta menjaga dan memelihara kemampuan sel untuk membentuk enzim.

Menurut Pierce (2005), kandungan protein di dalam enzim sangat berpengaruh terhadap daya katalitik enzim tersebut. Adanya peningkatan protein dalam suatu enzim, maka daya katalitiknya juga akan meningkat. Keberadaan protein lain juga dapat menyebabkan nilai kadar protein menjadi naik. Protein yang terlarut juga dapat terbaca pada pengukuran yang menyebabkan nilai kadar protein menjadi naik (Murray *et al.*, 2003).



Gambar 2. Diagram batang kadar protein *S. marcescens* dengan perlakuan variasi konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan pH pada waktu inkubasi 12 Jam.

Kadar protein yang tinggi dengan aktivitas spesifik enzim yang rendah menunjukkan bahwa, protein yang terukur tidak hanya protein dari enzim selulase, melainkan terdapat protein dari enzim lain atau protein struktural bakteri. Menurut Raharjo (2004 dalam Yogyaswari 2016), bakteri *Bacillus* sp. dapat menghasilkan enzim ekstraseluler selain selulase yaitu

protease untuk menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi asam amino.

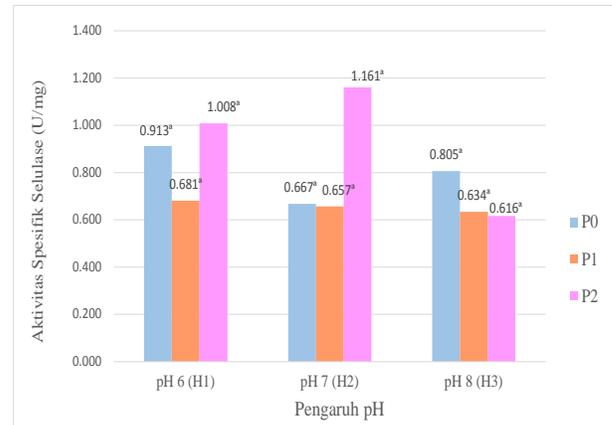
Aktivitas Spesifik Selulase

Penentuan aktivitas spesifik selulase dapat diperoleh dengan cara membagi hasil aktivitas enzim dengan kadar proteinnya. Satuan dari aktivitas spesifik enzim yaitu jumlah unit enzim per mg pada kondisi optimum. Aktivitas spesifik enzim merupakan suatu ukuran kemurnian yang ukuran nilainya akan meningkat selama proses pemurnian (Wijaya, 2002).

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam (*ANOVA*) menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan pH berbeda tidak nyata. Hal ini menunjukkan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan kombinasi pH belum optimum untuk meningkatkan aktivitas spesifik selulase *Serratia marcescens*. Aktivitas spesifik selulase tertinggi selama inkubasi 12 jam yaitu 1,161 U/mg, pada perlakuan kombinasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1% dan pH 7 (P_2H_2), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Aktivitas spesifik selulase paling tinggi pada perlakuan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0% (P_1) memiliki nilai 0,913 U/mg dan pada perlakuan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,75% (P_1) sebesar 0,681 U/mg, dimana keduanya diperoleh dengan kombinasi pH 6, tetapi juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan pH lainnya (Gambar 3.).

Fitrahmayani (2010 dalam Deviani *et al.* 2014) menjelaskan bahwa aktivitas spesifik enzim menunjukkan suatu ukuran kemurnian enzim atau dapat digunakan sebagai indikasi ada tidaknya inhibitor enzim atau represor sintesis enzim di dalam media produksi enzim. Apabila kadar protein tinggi, tetapi aktivitas spesifik

rendah, maka ini menunjukkan selain adanya protein lain, konsentrasi inhibitor dalam media produksi enzim tinggi. Kadar protein tinggi juga dapat diakibatkan karena protein yang terukur termasuk protein struktural bakteri dan protein yang terkandung dalam medium.



Gambar 3. Diagram batang aktivitas spesifik selulase *S. marcescens* dengan perlakuan variasi konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan pH pada waktu inkubasi 12 Jam .

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa kombinasi antara penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ konsentrasi (0%, 0,75% dan 1%) dengan pH (6, 7 dan 8) belum optimum untuk meningkatkan aktivitas spesifik selulase *S. marcescens*.

DAFTAR PUSTAKA

Adri, W., Mardiah, E., dan Afrizal, 2013, Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan Kemampuannya Menghidrolisis Jerami Padi, *Jurnal Kimia Unand (ISSN No. 2303-3401)*,2(2), 103-108.

Alam, S. M., P. R. Sarjono dan A. L. N. Aminin. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika*. 21(2):48-53.

Arifwan, Erwin dan R. Kartika. 2016. Pembuatan Bioetanol dari Singkong Karet (*Manihot glaziovii* Muell) dengan Hidrolisis Enzimatik dan Difermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Atomik*. 1(1):10-12.

Deviani, S., Y. Haryani, dan J. Christine. 2014. Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik dari Air Muara Daerah Aliran Sungai Siak Wilayah Kabupaten Bengkalis. *JOM FMIPA*. 1(2):78-88.

Fawzya, Y.N., Putri, S., Noriko, N. and Patantis, G. 2013. Identification of SGS 1609 Cellulolytic Bacteria Isolated from *Sargassum spec.* and Characterization of the Cellulase Produced. Squalen, *Bulletin Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*.

_____, A. Latifa, dan N. Noriko. 2014. Pemanfaatan Limbah Pengolahan Agar sebagai Komponen Medium Produksi Selulase dari Mikroba. *JPB Perikanan*. 9(1):51-60.

Hart, H., L.E. Craine and D.J Hart. 2003. Kimia Organik: Suatu kuliah Singkat. *Alih bahasa*: Sri Andari. Erlangga, Jakarta.
Juhasz, T., Z. Szengyel, N. Szijarto and K. Reczey. 2004. Effect of pH on Cellulase

Production of *Trichoderma reesei* RUT C30. *Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 113(4):201-211.

Kovács, K. 2009. Production of Cellulolytic Enzymes with *Trichoderma Atroviride* Mutants for The Biomass-To-Bioethanol Process. *Tesis*.

Murray, R.K., Granner, D.K, Mayes, P.A., dan Rodwell, V.W. 2003. Biokimia Harper. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Pelczar, Michael J. dan ECS. Chan. 2008. Dasar-dasar mikrobiologi. UI Press, Jakarta.

Pierce. 2005. Protein Assay: Technical Handbook, Pierce Biotechnology. Inc. USA.

Putera, R.D.H. 2012. Ekstraksi Serat Selulosa Dari Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes*) dengan Variasi Pelarut, *Skripsi*. Universitas Indonesia, Depok.

Saropah, D. Ayu, A. Jannah dan A. Munatin. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. *Journal of Chemistry*. 1(2):34-45.

Sethi, Sonia, A. Datta, B. Lal Gupta and S. Gupta. 2013. Optimization of Cellulose Production from Bacteria Isolated From Soil. *Research Article Hindawi Publishing Corporation*.1-7.

Taruna, H., A. Rita, S. Tania dan A. Sri. 2010. Studi Awal Pemanfaatan Limbah Kertas HVS sebagai Bahan Baku dalam Proses Pembuatan Etanol. Universitas Indonesia, Jakarta.

Waluyo, I. 2004. Mikrobiologi Umum. UMM Press, Malang.

Widayanti, N.P., W.R. Rita, Y. Ciawi. 2013. Pengaruh Konsentrasi Ammonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄) Sebagai Sumber Nitrogen Terhadap Produksi Bioetanol Berbahan Baku *Glacilaria* Sp. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Udayana. *Jurnal Kimia* 7 (1):1-10.

Wijanarka, E. Kusdiyantini and S. Parman. 2016. Screening Cellulolytic Bacteria from the Digestive Tract Snail (*Achatina fulica*) and Test the Ability of Cellulase Activity. Departement of Biology, Faculty of Science and Mathematics, Diponegoro University. *Journal of Biology & Biology Education* 8 (3): 385-391.

Wijaya, S. 2002. Isolasi Kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum*. *Jurnal Ilmu Dasar*. 3: 30-35.

Yogyaswari. S. 2016. Eksplorasi Bakteri Selulolitik Dari Cairan Rumen Sapi Peranakan Fries Holland (Pfh) Dan Limousin Peranakan Ongole (Limpo). Skripsi. Universitas Diponegoro, Semarang.

