

PEMURNIAN PARSIAL SELULASE *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 ASAL TANAH BEKAS TAMBANG EMAS DAN DETEKSI GEN PENYANDI SELULASENYA

FATMILA AMIRAH RADWA



**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Pemurnian Parsial Selulase *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 asal Tanah Bekas Tambang Emas dan Deteksi Gen Penyandi Selulasenya” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2026

Fatmila Amirah Radwa
G3501251025



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



RINGKASAN

FATMILA AMIRAH RADWA. Pemurnian Parsial Selulase *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 asal Tanah Bekas Tambang Emas dan Deteksi Gen Penyandi Selulasenya. Dibimbing oleh NISA RACHMANIA MUBARIK dan POPI ASRI KURNIATIN.

Enzim merupakan biokatalis yang dapat mengakselerasi proses konversi substrat menjadi produk dengan mekanisme penurunan energi aktivasi. Kerja katalitiknya yang spesifik memungkinkan enzim mempercepat jalannya reaksi kimia tanpa menghasilkan produk samping yang tidak diharapkan. Selain itu, efisiensi katalitiknya dalam menghidrolisis substrat dapat menurunkan konsumsi energi dan penggunaan bahan-bahan kimia toksik sehingga lebih ramah lingkungan. Selulase menjadi salah satu kelompok enzim hidrolitik yang penggunaannya terus mengalami peningkatan seiring berkembangnya sektor bioteknologi modern. Pemanfaatan selulase mencakup aplikasinya dalam industri tekstil, *pulp* dan kertas, pangan dan pakan, hingga sektor pengolahan limbah organik untuk mengonversi biomassa menjadi sumber energi terbarukan.

Eksplorasi mikroorganisme penghasil selulase telah dilakukan pada berbagai area, seperti hutan mangrove, tanah hutan hujan tropis, hingga pada tumpukan serasah atau hasil samping pertanian. Upaya isolasi biokatalis dari area konvensional tersebut kerap melaporkan keterbatasan stabilitas ketika digunakan langsung pada kondisi lingkungan yang tidak terkontrol dengan fluktuasi pH, suhu, dan keberadaan senyawa lainnya yang berpotensi menginhibisi efisiensi katalitik enzim. Upaya bioprospeksi isolat dan biokatalis dalam beberapa tahun terakhir mulai bergeser pada area marginal, termasuk lahan bekas aktivitas pertambangan, yang mampu menyeleksi mikroba adaptif. *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 merupakan bakteri hasil isolasi asal tanah bekas lahan tambang emas yang diketahui memiliki aktivitas selulolitik pada media basal dengan penambahan substrat *carboxymethyl cellulose* (CMC) 1 %. Karakterisasi aktivitas enzimnya masih terbatas pada ekstrak enzim kasar (*crude extract*). Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan melakukan karakterisasi dan identifikasi molekuler isolat, melakukan pemurnian parsial enzim, melakukan karakterisasi parameter penting selulase hasil pemurnian, serta deteksi gen penyandi selulase pada *Bacillus* sp. TSUS3.4.1.

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan utama yang meliputi konfirmasi karakteristik *Bacillus* sp. TSUS3.4.1, produksi dan pemurnian selulase, karakterisasi parameter penting dan kinetika enzim, serta analisis molekuler yang melingkupi identifikasi taksonomi dan deteksi gen penyandi selulasenya. Peremajaan isolat dilakukan untuk mengonfirmasi karakter makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp. TSUS3.4.1. Uji patogenisitas pada agar-agar darah dilakukan untuk mengetahui aktivitas hemolitiknya. Produksi selulase dilakukan pada kondisi kultur optimum, yaitu inkubasi goyang selama 27 jam pada suhu 37 °C. Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan bagian pelet dan supernatan yang berisi enzim ekstraseluler. Selulase ekstrak kasar selanjutnya dipekatkan menggunakan garam amonium sulfat dengan rentang kejenuhan 0–20% hingga 60–70%. Nilai kejenuhan pemekatan terbaik dengan aktivitas tertinggi digunakan untuk produksi lanjutan hingga tahap pemurnian dengan metode dialisis. Karakterisasi parameter



optimum enzim dilakukan pada berbagai variasi pH, suhu, dan pengujian profil stabilitas enzim. Parameter kinetika enzim meliputi nilai K_m dan V_{maks} dilakukan dengan pengujian aktivitas selulase pada konsentrasi substrat 0,1 hingga 1,2 %. Identifikasi molekuler melalui amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan untuk menganalisis kekerabatannya. Desain primer spesifik dilakukan untuk mendeteksi keberadaan gen penyandi selulase pada genom bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat TSUS3.4.1 merupakan bakteri basil Gram-positif dengan keberadaan endospora, mengindikasikan bahwa isolat ini kemungkinan besar merupakan bagian dari genus *Bacillus*. Hasil ini kemudian dikonfirmasi oleh hasil sekuensing amplifikasi gen 16S rRNA yang menunjukkan kedekatan evolusioner dengan *Bacillus stercoris* galur D7XPN1 melalui konstruksi pohon filogenetik. Aktivitas hemolitik tidak terdeteksi pada isolat mengindikasikan TSUS3.4.1 tidak mensekresikan toksin yang dapat melisis eritrosit. Kondisi optimum untuk presipitasi enzim berada pada kejenuhan amonium sulfat 40% dengan peningkatan aktivitas spesifik senilai 7,70 kali relatif terhadap enzim ekstrak kasar. Metode dialisis sebagai tahapan pemurnian lanjutan efektif menghilangkan sisa garam amonium sulfat dan protein nontarget dengan peningkatan nilai kemurnian sebesar 5,60 kali lipat. Selulase *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 memiliki aktivitas selulase optimum pada pH 7 dan suhu 50 °C. Pengujian stabilitas termal menunjukkan enzim masih mampu mempertahankan 82,89% aktivitasnya setelah inkubasi selama 120 menit dengan waktu paruh pada fase ini ialah 443 menit.

Analisis parameter kinetika enzim dengan plot Lineweaver-Burk menghasilkan konstanta Michaelis-Menten (K_m) senilai 4,9 mg/mL yang merepresentasikan afinitas enzim terhadap substrat. Nilai V_{maks} selulase ialah 0,072 $\mu\text{mol/mL/menit}$ yang merepresentasikan laju hidrolisis maksimum yang dapat dicapai. Pensejajaran sekuens penyandi selulase berhasil merancang pasangan primer yang dapat mengamplifikasi gen penyandi selulase dengan pita berukuran sekitar 1500 pasang basa. Analisis BLAST-P dan konstruksi pohon filogenetik pada tingkat asam amino mengonfirmasi bahwa fragmen gen yang teramplifikasi mengodekan protein homolog endoglukanase EglS. Penelitian ini berhasil melakukan karakterisasi dan identifikasi *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 yang memiliki kedekatan evolusioner tertinggi dengan *Bacillus stercoris* galur D7XPN1, meningkatkan aktivitas katalitik selulase *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 melalui rangkaian pemurnian parsial, melakukan karakterisasi pH, suhu, dan profil stabilitas enzim, serta deteksi gen *eglS* sebagai penyandi protein selulase EglS.

Kata kunci: bakteri selulolitik, biodegradasi, hidrolisis, material organik, pascatambang



SUMMARY

FATMILA AMIRAH RADWA. Partial Purification of Cellulase *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 from Gold Mine Soil and Its Gene Detection. Supervised by NISA RACHMANIA MUBARIK and POPI ASRI KURNIATIN.

Enzymes are biocatalysts that can accelerate the process of converting substrates into products by lowering its activation energy. Their specific catalytic action allows enzymes to speed up the course of chemical reactions without producing undesirable by-products. In addition, their catalytic efficiency in hydrolyzing substrates potentially reduce energy consumption and the use of toxic chemicals, making processes more sustainable and environmentally friendly. Cellulase is one of the groups of hydrolytic enzymes whose demand continues to increase along with the development of the modern biotechnology sector. Application of cellulase range from textile, pulp and paper, food and feed industries, to organic waste processing sector for converting biomass into renewable energy sources.

Exploration of cellulase-producing microorganisms has been conducted in various habitats, such as mangrove forests, tropical rainforest soils, and agricultural by-products. However, biocatalyst isolation attempts from conventional areas often report limited stability when exposed to uncontrolled environmental conditions involving fluctuations in pH value, temperature, and the presence of other compounds that have the potential to inhibit the catalytic efficiency of enzymes. Consequently, bioprospecting efforts to explore isolates and biocatalysts in recent years have begun to shift to marginal areas, including former mining sites, that are able to select adaptive microbes. *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 was isolated from former gold mine soil known to exhibit cellulolytic activity in a basal medium with the addition of 1% *carboxymethyl cellulose* (CMC). Prior characterization of its enzyme activity was limited to crude extract enzyme. Therefore, this research aims to characterize and molecularly identify the isolate, perform enzyme partial purification, characterization of important parameters of the purified cellulase, and detection of cellulase-encoding genes in *Bacillus* sp. TSUS3.4.1.

This research has been conducted in four main stages encompassing the confirmation of isolate characteristics, cellulase production and partial purification, evaluation of enzyme optimum catalytic conditions and kinetic parameters, and molecular analysis involving taxonomic identification alongside detection of its cellulase-encoding gene. The isolate was subcultured to verify the macroscopic and microscopic characters of *Bacillus* sp. TSUS3.4.1. Pathogenicity assay was conducted on blood agar to determine its hemolytic activity. Cellulase production was performed under optimal culture conditions in a shaking incubator for 27 hours at a temperature of 37 °C. Centrifugation was conducted to separate the pellet and supernatant parts containing extracellular enzymes. The crude cellulase extract was then precipitated using ammonium sulfate at saturation levels ranging from 0–20% to 60–70%. The optimal fraction with the highest activity was subjected to further purification using dialysis method. Cellulase characterization was performed across various pH levels and temperatures, followed by thermal stability profiling. Enzyme kinetic parameters including K_m and V_{maks} were determined by evaluating cellulase activity at substrate concentrations ranging from 0.1 to 1.2 %. Molecular



identification through amplification of the 16S rRNA gene was performed to analyze phylogenetic relationship. A specific primer pair was design to detect the presence of cellulase-coding genes in the bacterial genome.

TSUS3.4.1 is a Gram-positive endospore-forming bacil bacteria, indicating that this isolate belongs to the genus *Bacillus*. These results were later confirmed by the results of 16S rRNA gene sequencing which revealed evolutionary closeness to *Bacillus stercoris* strain D7XPN1 through phylogenetic tree construction. Undetected hemolytic activity of the isolates indicates that TSUS3.4.1 does not secrete hemolysin toxins. Optimum enzyme precipitation occurred at 40% ammonium sulfate saturation, resulting in a 7.7-fold increase in specific activity compared to the crude extract enzymes. The dialysis method as a subsequent purification step effectively removed residual salts from precipitation with an increase in purity value of 5.6-fold. Cellulase from *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 has optimum activity at pH value of 7 and 50 °C. Thermal stability assays demonstrated that the enzyme able to maintain 82.89% of its activity after 120 minutes of incubation with a half-life time of 443 minutes in this stable phase.

Analysis of enzyme kinetic parameters using Lineweaver-Burk plot yielded a Michaelis-Menten constant (K_m) value of 4.9 mg/mL, representing the affinity of the enzyme to the substrate. The V_{max} value of cellulase was 0.072 $\mu\text{mol/mL/min}$, representing the maximum hydrolysis rate that can be achieved. Alignment of cellulase-encoding sequences allowed the design of specific primers to amplify a cellulase-encoding gene with a band size of approximately 1.500 base pairs. BLAST-P analysis and phylogenetic tree construction at the amino acid level confirmed that the amplified gene fragment encodes EglS endoglucanase-homologous protein. In conclusion, this study reports successful characterization and molecular idenfication of *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 to be closely related to *Bacillus stercoris* strain D7XPN1, enhancement of the catalytic activity of the TSUS3.4.1 cellulase through a series of partial purification, characterization of the pH, temperature, and stability profile of the enzyme, also detection of *eglS* as cellulase-encoding gene of EglS protein.

Keywords: biodegradation, cellulolytic bacteria, hydrolysis, organic matter, post-mining



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PEMURNIAN PARSIAL SELULASE *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 ASAL TANAH BEKAS TAMBANG EMAS DAN DETEKSI GEN PENYANDI SELULASENYA

FATMILA AMIRAH RADWA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Mikrobiologi

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:
Dr. Alina Akhdiya, S. Si., M. Si



Judul Tesis : Pemurnian Parsial Selulase *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 asal Tanah
Bekas Tambang Emas dan Deteksi Gen Penyandi Selulasenya
Nama : Fatmila Amirah Radwa
NIM : G3501251025

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr. Dra. Nisa Rachmania Mubarik, M. Si

Pembimbing 2:

Dr. Popi Asri Kurniatin, S. Si., Apt., M. Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M. S.
NIP. 196203271987032001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam :

Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP. 197807232007011001

Tanggal Ujian:
31 Juli 2026

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Desember 2025 sampai bulan Juni 2026 ini ialah biprospeksi enzim mikrob asal lahan marginal dengan judul “Pemurnian Parsial Selulase *Bacillus* sp. TSUS3.4.1 asal Tanah Bekas Tambang Emas dan Deteksi Gen Penyandi Selulasenya”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Ibu Dr. Dra. Nisa Rachmania Mubarik, M. Si selaku ketua komisi pembimbing, Ibu Dr. Popi Asri Kurniatin, S. Si, Apt., M. Si selaku anggota komisi pembimbing, yang keduanya telah banyak memberi arahan, saran, dan motivasi selama proses perkuliahan, penelitian, hingga penyusunan tugas akhir. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada moderator seminar, Ibu Prof. Dr. Ir. Ulfah Juniarti, M. Agr, penguji luar komisi pembimbing, Ibu Dr. Alina Akhdiya, S. Si., M. Si, perwakilan kepala program studi, Ibu Prof. Dr. Dra. Triadiati, M. Si., atas saran dan masukan yang membangun dalam penyusunan karya ilmiah. Penulis turut mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M. S. selaku Ketua Program Studi Magister Mikrobiologi beserta seluruh dosen pengampu mata kuliah yang telah memberikan ilmu dan wawasan selama masa perkuliahan hingga penyusunan tugas akhir. Ucapan terima kasih turut disampaikan kepada seluruh tenaga pendidik Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi dan Laboratorium Biokimia, Departemen Biokimia atas bantuannya selama penelitian. Terima kasih turut penulis sampaikan kepada Institut Pertanian Bogor yang telah menyediakan beasiswa SINERGI 2024 sehingga penulis berkesempatan mengikuti pendidikan lanjutan magister langsung setelah menyelesaikan program sarjana.

Ungkapan terima kasih dan rasa sayang tak terhingga juga disampaikan kepada Achmad Rumi Ramadhan, Lelawati, Suhailah Aliya Ronimah, Zhahirah Aqila Balqis, serta seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya yang terus memotivasi penulis dalam menyelesaikan studi magister ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang tulus kepada Kania Dewi Shiyam, Annisa Fitria, dan segenap rekan program SINERGI 2024 lainnya, Raudhina Fadla Rizky dan rekan Mahasiswa Biologi Institut Pertanian Bogor angkatan 58 lainnya, serta segenap angkatan Program Studi Magister Mikrobiologi 2024 yang terus menemani, memberikan bantuan, dan mendorong semangat dalam tiap tahapan penyelesaian studi dan penyusunan tugas akhir.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2026

Fatmila Amirah Radwa



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Kebaruan (<i>novelty</i>)	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Selulosa	4
2.2 Selulase	5
2.3 Bakteri Selulolitik asal Lahan Marginal	6
2.4 Presipitasi Protein dan Pemurnian Enzim	7
2.5 Gen Penyandi Selulase dan Implikasinya pada Struktur Enzim	8
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alur Penelitian	11
3.3 Alat dan Bahan	11
3.4 Peremajaan dan Pengamatan Morfologi Koloni dan Sel <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1	12
3.5 Identifikasi Isolat berdasarkan Gen 16S rRNA	12
3.6 Produksi Selulase Ekstraseluler	13
3.7 Pemurnian Selulase TSUS3.4.1	13
3.8 Pengujian Aktivitas Selulase	14
3.9 Pengukuran Kadar Protein Selulase	14
3.10 Penentuan Aktivitas Optimum Selulase	14
3.11 Penentuan Nilai K_m dan V_{maks} Selulase	15
3.12 Desain Primer dan Deteksi Gen Penyandi Selulase	15
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Konfirmasi Karakteristik Morfologi dan Sel <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1	16
4.2 Konfirmasi Molekuler <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 berdasarkan Gen 16S rRNA	17
4.3 Pemurnian Selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1	17
4.4 Aktivitas Selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 pada Berbagai pH dan Suhu	18
4.5 Kinetika Selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 berdasarkan Nilai K_m dan V_{maks}	20
4.6 Gen Penyandi Selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1	20
4.7 Pembahasan	22



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

V	SIMPULAN DAN SARAN	28
5.1	Simpulan	28
5.2	Saran	28
	DAFTAR PUSTAKA	29
	LAMPIRAN	37
	RIWAYAT HIDUP	44



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



DAFTAR TABEL

1	Gen penyandi selulase yang berhasil diidentifikasi pada berbagai mikroorganisme	10
2	Hasil analisis BLAST-N gen 16S rRNA <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 dengan sekuens kerabat terdekat pada database NCBI	17
3	Hasil tahapan pemurnian selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1	18
4	Sekuens homolog penyandi selulase yang digunakan dalam pensejajaran dan perancangan primer	21
5	Spesifikasi hasil desain primer sekuens penyandi selulase	21

DAFTAR GAMBAR

1	Struktur kimia unit selobiosa dalam rantai selulosa	4
2	Struktur selulase yang terdiri atas <i>carbohydrate-binding module</i> (CBM/CBD), <i>linker</i> , dan <i>catalytic domain</i> (CD)	6
3	Variasi topologi selulase	9
4	Alur penelitian	11
5	Morfologi koloni dan sel bakteri	16
6	Aktivitas hemolitik pada media agar-agar darah setelah inkubasi 48 jam	16
7	Amplifikasi gen 16S rRNA dan konstruksi pohon filogenetik <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1	17
8	Aktivitas spesifik enzim selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 yang diendapkan menggunakan amonium sulfat pada berbagai saturasi	18
9	Aktivitas selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 pada berbagai pH	19
10	Aktivitas selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 pada berbagai suhu	19
11	Aktivitas sisa enzim selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 pada pH 7 dan suhu 50 °C selama 4 jam	20
12	Kurva Lineweaver-Burk selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1	20
13	Simulasi penempelan primer desain <i>forward</i> dan <i>reverse</i> secara <i>in silico</i> pada <i>template</i> gen target penyandi selulase pada genom <i>Bacillus stercoris</i> D7XPN1.	21
14	Hasil amplifikasi gen penyandi selulase menunjukkan ampikon dengan pita berukuran sekitar 1500 pasang basa	22
15	Konstruksi pohon filogenetik sekuens asam amino selulase <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 dengan sekuens protein homolog hasil BLAST-P dari berbagai bakteri referensi	22

DAFTAR LAMPIRAN

1	Komposisi media basal dengan penambahan substrat CMC dalam 100mL	39
---	--	----

2	Tabel penggunaan garam untuk presipitasi protein menggunakan amonium sulfat	39
3	Komposisi reagen <i>dinitrosalicylic acid</i> (DNS) dalam 1000 mL akuades steril	39
4	Prosedur pengujian aktivitas selulase	40
5	Kurva standar glukosa	40
6	Komposisi reagen Bradford 5X	41
7	Kurva standar protein	41
8	Hasil fraksinasi selulase dengan berbagai konsentrasi amonium sulfat	42
9	Aktivitas selulase hasil dialisis pada berbagai pH	42
10	Aktivitas selulase hasil dialisis pada berbagai suhu	42
11	Aktivitas selulase hasil dialisis selama 4 jam masa inkubasi	43
12	Aktivitas residu selulase selama 4 jam masa inkubasi	43
13	Aktivitas spesifik selulase pada berbagai konsentrasi substrat	44
14	Sekuens asam amino protein EglS <i>Bacillus</i> sp. TSUS3.4.1 hasil deduksi nukleotida menggunakan Expassy Translate Tool	45