



FRAKSINASI DAN KARAKTERISASI FRAKSI KITINOLITIK NON-KONVENSIONAL BERBASIS CHITIN-BINDING PROTEIN DARI *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD YANG DIDUGA SEBAGAI LYTIC POLYSACCHARIDE MONOOXYGENASE

RIKAH FUZIAH



**ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
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 “Fraksinasi dan Karakterisasi Fraksi Kitinolitik Non-Konvensional Berbasis *Chitin-Binding Protein* dari *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD yang Diduga sebagai *Lytic Polysaccharide Monooxygenase*.” 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

Rikah Fuziah
D1501251052



RINGKASAN

RIKAH FUZIAH. Fraksinasi dan Karakterisasi Fraksi Kitinolitik Non-Konvensional Berbasis *Chitin-Binding Protein* dari *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD yang Diduga sebagai *Lytic Polysaccharide Monooxygenase*. Dibimbing oleh CAHYO BUDIMAN, dan ZAKIAH WULANDARI.

Bacillus amyloliquefaciens SLBD (Ba-SLBD) merupakan isolat lokal yang diperoleh dari feses kuda dan diketahui memiliki kemampuan mendegradasi biomassa lignoselulosa. Karakteristik tersebut menunjukkan bahwa Ba-SLBD berpotensi memanfaatkan berbagai polisakarida struktural, termasuk kitin. Pada bakteri, degradasi kitin umumnya dikatalisis oleh kitinase dari famili *glycoside hydrolase* 18 (GH18). Namun, analisis *whole genome sequencing* (WGS) pada Ba-SLBD tidak mendeteksi keberadaan gen penyandi GH18 maupun kitinase hidrolitik konvensional lainnya. Sebaliknya, analisis genom mengidentifikasi satu gen yang awalnya dianotasi sebagai *chitin binding protein* (CBP) dan kemudian diklasifikasikan sebagai anggota keluarga *lytic polysaccharide monooxygenase auxiliary activity family* 10 (LMPO AA10). Temuan tersebut mengindikasikan adanya kemungkinan mekanisme degradasi kitin non-konvensional berbasis oksidatif pada Ba-SLBD yang belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan memperoleh fraksi murni CBP Ba-SLBD, mengevaluasi karakteristik aktivitas kitinolitik, dan menganalisis struktur serta potensi fungsi CBP Ba-SLBD melalui pendekatan bioinformatika.

Protein ekstraseluler dipisahkan menggunakan *anion-exchange chromatography* untuk memperoleh fraksi protein target, kemudian dikarakterisasi melalui analisis konsentrasi dan kadar protein, profil protein SDS-PAGE, uji aktivitas kitinolitik menggunakan substrat alami dan sintetik, uji aktivitas antifungi, serta analisis bioinformatika yang mencakup pemodelan struktur tiga dimensi, analisis sekuens, dan superimposisi struktur. Hasil analisis menunjukkan bahwa fraksi FP3 memiliki aktivitas kitinolitik tertinggi dan mengandung pita protein dominan berukuran ~21 kDa. Protein tersebut menunjukkan aktivitas optimum pada pH 7 dan suhu 50 °C serta tetap mempertahankan aktivitas relatif yang tinggi pada rentang pH 6–8 dan suhu 37–70 °C. Selain itu, ekstrak protein kasar Ba-SLBD juga menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Alternaria alternata*. Analisis bioinformatika menunjukkan bahwa protein target memiliki karakteristik struktural yang konsisten dengan anggota keluarga LPMO AA10, yang didukung oleh keberadaan motif *histidine brace*, konservasi residu pengikat tembaga, serta nilai *root mean square deviation* (RMSD) yang rendah terhadap struktur LPMO AA10 yang telah dikarakterisasi. Temuan ini menunjukkan bahwa aktivitas kitinolitik pada Ba-SLBD berkaitan dengan keberadaan LPMO AA10 meskipun gen penyandi kitinase GH18 tidak terdeteksi dalam analisis genom, sehingga mengindikasikan adanya sistem degradasi kitin non-konvensional berbasis oksidatif pada *B. amyloliquefaciens* SLBD. Namun, interpretasi tersebut masih terbatas karena pengujian aktivitas kitinolitik belum menggunakan substrat kitin kristalin yang lebih merepresentasikan substrat alami LPMO, sehingga mekanisme oksidatif yang diusulkan masih memerlukan verifikasi lebih lanjut.

Kata kunci: *Anion-exchange chromatography*, *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD, *chitin binding protein*, *lytic polysaccharide monooxygenase* AA10, pemodelan struktur



SUMMARY

RIKAH FUZIAH. Fractionation and Characterization of a Non-Conventional Chitinolytic Fraction Based on *Chitin-Binding Protein* from *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD Putatively Identified as a *Lytic Polysaccharide Monooxygenase*. Supervised by CAHYO BUDIMAN, and ZAKIAH WULANDARI.

Bacillus amyloliquefaciens SLBD (Ba-SLBD) is a local bacterial isolate obtained from horse feces and has been reported to possess lignocellulolytic activity. This characteristic suggests that Ba-SLBD has the potential to utilize various structural polysaccharides, including chitin. In bacteria, chitin degradation is generally catalyzed by chitinases belonging to the glycoside hydrolase family 18 (GH18). However, preliminary whole-genome sequencing (WGS) analysis of Ba-SLBD did not detect genes encoding GH18 or other conventional hydrolytic chitinases. Instead, genome analysis identified a single gene initially annotated as a *chitin-binding protein* (CBP), which was subsequently classified as a member of the AA10 *lytic polysaccharide monooxygenase* family (AA10 LPMO). These findings suggest the presence of a non-conventional oxidative chitin degradation mechanism in Ba-SLBD that has rarely been reported. Therefore, this study aimed to obtain a purified CBP fraction from Ba-SLBD, characterize its chitinolytic activity, and investigate its structural features and potential function using bioinformatics approaches.

Extracellular proteins were fractionated by anion-exchange chromatography to obtain the target protein fraction and subsequently characterized through protein concentration and protein content analyses, SDS-PAGE protein profiling, chitinolytic activity assays using both natural and synthetic substrates, antifungal activity assays, and bioinformatics analyses, including three-dimensional structural modeling, sequence analysis, and structural superimposition. The results showed that fraction FP3 exhibited the highest chitinolytic activity and contained a predominant protein band with an approximate molecular weight of 21 kDa. This protein exhibited optimum activity at pH 7 and 50 °C while maintaining relatively high activity over a pH range of 6–8 and a temperature range of 37–70 °C. In addition, the crude extracellular protein extract exhibited antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and *Alternaria alternata*. Bioinformatics analysis demonstrated that the target protein possessed structural characteristics consistent with those of AA10 LPMOs, as supported by the presence of the conserved histidine-brace motif, conservation of copper-binding residues, and a low root mean square deviation (RMSD) relative to structurally characterized AA10 LPMOs. These findings suggest that the chitinolytic activity observed in Ba-SLBD is likely associated with the presence of an AA10 LPMO despite the absence of detectable GH18 chitinase genes in the genome, thereby indicating the existence of a non-conventional oxidative chitin degradation system in *B. amyloliquefaciens* SLBD. Nevertheless, this interpretation remains limited because the chitinolytic activity assays were not performed using crystalline chitin, which more accurately represents the natural substrate of LPMOs. Consequently, the proposed oxidative mechanism requires further experimental verification.

Keywords: Anion-exchange chromatography, *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD, *chitin-binding protein*, *lytic polysaccharide monooxygenase* AA10, structural modelling.



@Hak cipta milik IPB University

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 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.



FRAKSINASI DAN KARAKTERISASI FRAKSI KITINOLITIK NON-KONVENSIONAL BERBASIS *CHITIN-BINDING PROTEIN* DARI *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD YANG DIDUGA SEBAGAI *LYTIC POLYSACCHARIDE MONOOXYGENASE*

RIKAH FUZIAH

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan

**ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tesis:
Prof. Dr. Epi Taufik, S.Pt., MVPH, M.Si.

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.



Judul Tesis : Fraksinasi dan Karakterisasi Fraksi Kitinolitik Non-Konvensional Berbasis *Chitin-Binding Protein* dari *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD yang Diduga sebagai *Lytic Polysaccharide Monooxygenase*
Nama : Rikah Fuziah
NIM : D1501251052

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Cahyo Budiman, S.Pt., M.Eng.

Pembimbing 2:
Dr. Zakiah Wulandari, S.T.P., M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi Ilmu Produksi dan Teknologi
Pternakan :
Prof. Dr. Ir. Cece Sumantri, M.Sc.
NIP 19591212 198603 1 004

Dekan Fakultas Peternakan :
Prof. Dr. Ir. Idat Galih Permana, M.Sc.Agr.
NIP 19670506 199103 1 001




Tanggal Ujian: 10 Agustus 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 SWT atas segala karunia-Nya sehingga tesis ini berhasil diselesaikan. Judul dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Januari sampai Maret 2026 ini ialah “Fraksinasi dan Karakterisasi Fraksi Kitinolitik Non-Konvensional Berbasis *Chitin-Binding Protein* dari *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD yang Diduga sebagai *Lytic Polysaccharide Monooxygenase*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, yaitu Dr. Cahyo Budiman, S.Pt., M.Eng., dan Dr. Zakiah Wulandari, S.T.P., M.Si., yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, saran, motivasi, masukan, serta dukungan yang tiada henti selama proses penelitian hingga penyusunan tesis ini berlangsung. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Universiti Malaysia Sabah atas dukungan pendanaan penelitian melalui Grant No. SDK-0335 sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada para dosen penguji dan moderator yaitu Prof. Dr. Epi Taufik, S.Pt., MVPH, M.Si., dan Dr. Sigid Prabowo, S.Pt., M.Sc. atas kritik, saran, dan masukan yang konstruktif dalam penyempurnaan tesis ini. Selanjutnya, penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh dosen dan sivitas akademika Program Studi Pascasarjana Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, IPB University, atas ilmu, inspirasi, motivasi, serta berbagai pengalaman akademik maupun non-akademik yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan atas dukungan seluruh pihak yang terlibat dalam penyusunan tesis ini, khususnya kepada:

1. Keluarga Tercinta – Ayah, Ibu, dan kedua adik penulis yang telah memberikan dukungan dan doa yang tiada henti.
2. Folded Protein Group dan rekan penelitian – Dr. Rafida Razali, Muhammad Amir Mohd Azman, Anna Robert, Nur Fitrah Laden, Alfi Fitria Syawalina, dan Khusnul Nursina atas kebersamaan, bantuan, kerja sama, serta dukungan yang diberikan selama pelaksanaan kegiatan di laboratorium.
3. Program Studi Pascasarjana Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan (ITP) – Prof. Dr. Ir. Cece Sumantri, M.Sc., Okta Siswanti, S.Pd. dan Dina Fitriani atas segala bantuan, arahan, serta dukungan dalam proses administrasi dan berbagai keperluan lainnya selama menempuh studi di program studi Pascasarjana ITP.
4. Sahabat, teman, rekan-rekan mahasiswa Program Sinergi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Angkatan 58, serta seluruh pihak yang telah menjadi bagian dari perjalanan penulis untuk berjuang bersama, saling mendukung, membantu, dan mengukir banyak cerita selama proses studi hingga penyusunan tesis ini berlangsung.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dan kontribusi yang telah diberikan oleh semua pihak. Penulis berharap semoga tugas akhir ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2026

Rikah Fuziah



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
1.5 Ruang Lingkup	4
METODE	5
2.1 Waktu dan Tempat	5
2.2 Alat dan Bahan	5
2.3 Prosedur Kerja	5
2.4 Rancangan Percobaan dan Analisis Data	9
HASIL DAN PEMBAHASAN	10
3.1 Kurva Pertumbuhan Ba-SLBD	10
3.2 Fraksinasi <i>Anion-Exchange Chromatography</i>	12
3.3 Konsentrasi dan Total Protein Fraksi Kromatografi Ba-SLBD	14
3.4 Profil Protein Fraksi Kromatografi Ba-SLBD	15
3.5 Aktivitas Kitinolitik Fraksi Kromatografi Ba-SLBD	17
3.6 Karakterisasi Aktivitas Kitinolitik Fraksi Kromatografi Ba-SLBD pada Variasi pH dan Suhu	20
3.7 Aktivitas Zona Hambat Ekstrak Protein Kasar Ba-SLBD terhadap Fungi Patogen	23
3.8 <i>Structural Homology Modelling</i> dan Analisis Bioinformatika	24
SIMPULAN DAN SARAN	29
4.1 Simpulan	29
4.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	37
RIWAYAT HIDUP	40

DAFTAR TABEL

1	Konsentrasi dan total protein fraksi kromatografi dari protein ekstraseluler Ba-SLBD	14
2	Aktivitas zona hambat ekstrak protein kasar Ba-SLBD terhadap <i>Rhizoctonia solani</i> dan <i>Alternaria alternata</i>	23

DAFTAR GAMBAR

1	Diagram alir penelitian	6
2	Kurva pertumbuhan Ba-SLBD	10
3	Konsentrasi dan total protein fraksi kromatografi Ba-SLBD	12
4	Profil protein fraksi <i>anion-exchange chromatography</i> Ba-SLBD	16
5	Aktivitas kitinolitik fraksi kromatografi Ba-SLBD menggunakan <i>crab shell powder</i> (a) dan <i>pNP-GlcNAc₂</i> (b)	18
6	Aktivitas relatif kitinolitik pada variasi pH (a) dan suhu (b)	21
7	Struktur tiga dimensi (a) dan situs aktif CBP Ba-SLBD (b)	25
8	<i>Structure-based sequence alignment</i> CBP Ba-SLBD dengan BaAA10 (PDB ID: 5IJU), BtLPMO10A (PDB ID: 5WSZ), dan SmAA10A (PDB ID: 2BEM)	26
9	Superimposisi struktur 3D CBP Ba-SLBD dengan 1 = BaAA10 (PDB ID: 5IJU), 2 = BtLPMO10A (PDB ID: 5WSZ), dan 3 = SmAA10A (PDB ID: 2BEM)	27

DAFTAR LAMPIRAN

1	Dokumentasi penelitian: (a) Bakteri Ba-SLBD, (b) Substrat <i>pNP-GlcNAc₂</i> , (c) Substrat <i>crab shell powder</i> , (d) Kultur Ba-SLBD, (e) Proses pertumbuhan Ba-SLBD, (f) Pengukuran <i>optical density</i> (OD)	38
2	Dokumentasi penelitian: (a) Sentrifugasi kultur Ba-SLBD, (b) Fraksinasi <i>anion-exchange chromatography</i> , (c) Proses analisis konsentrasi protein, (d) Proses analisis profil protein (SDS-PAGE), (e) Proses analisis aktivitas kitinolitik, (f) Analisis Bioinformatika	39