

**EKSTRAKSI DAN PURIFIKASI PARSIAL ENZIM
PEKTINASE DARI KONSORSIUM BAKTERI
PEKTINOLITIK**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Sarjana S-1 Program Studi Biologi



Disusun oleh:

Fadhiela Rachmawati

19106040039

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2023**

**EKSTRAKSI DAN PURIFIKASI PARSIAL ENZIM
PEKTINASE DARI KONSORSIUM BAKTERI
PEKTINOLITIK**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Sarjana S-1 Program Studi Biologi



Disusun oleh:

Fadhiela Rachmawati

19106040039

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2023**

LAMPIRAN PENGESAHAN



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-18/Un.02/DST/PP.00.9/01/2024

Tugas Akhir dengan judul : Ekstraksi dan Purifikasi Parsial Enzim Pektinase dari Konsorsium Bakteri Pektinolitik

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : FADHIELA RACHMAWATI
Nomor Induk Mahasiswa : 19106040039
Telah diujikan pada : Jumat, 15 Desember 2023
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang
Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD.
SIGNED

Valid ID: 6594f54c7c6c2



Penguji I
Nendyo Adhi Wibowo
SIGNED

Valid ID: 6594c4f09e7c7



Penguji II
Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid ID: 6594e73eeacbe



Yogyakarta, 15 Desember 2023
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 65975e6c6c30a

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Fadhiela Rachmawati

NIM : 19106040039

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian penulis sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuk sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 8 Desember 2023

Yang menyatakan,



Fadhiela Rachmawati
NIM. 19106040039

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/ TUGAS AKHIR

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Fadhiela Rachmawati
NIM : 19106040039
Judul Skripsi : Ekstraksi dan Purifikasi Parsial Enzim Pektinase dari Konsorsium Bakteri Pektinolitik

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing 1



Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD
NIP. 19790127 200901 2 004

Yogyakarta, 13 Desember 2023
Pembimbing 2



Dr. Nendyo Adhi Wibowo, M.Biotech.
NIP. 19790109 201403 1 001

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai kesanggupannya”

Q.S. Al-Baqarah 286

“Nulla Tenaci Invia Est Via”

“Bagi orang yang mau berjuang tidak ada jalan yang tidak mungkin”

Unknown

“Ora et labora”

“Berdoa dan bekerja”

Unknown



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orangtua saya yang selalu memperjuangkan dan memberikan yang terbaik untuk anak-anaknya. Skripsi ini sebagai bentuk dedikasi saya terhadap Ayah tercinta Agus Basthomi, S.H. yang selalu berjuang untuk saya sampai sekarang dan kepada Ibu tercinta Dwi Retnani yang selalu mencurahkan doa dan memberikan motivasi untuk saya. Skripsi ini sebagai tanda bahwa perjuangan kedua orangtua saya tidak sia-sia. Kepada saudara saya Adik Novansyah Putra Ramadhani yang selalu menghibur dan mendukung saya untuk segera menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih atas segala doa dan dukungan yang telah diberikan oleh keluarga tercinta.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, atas Rahmat serta karunia Allah SWT. Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas izin, rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan Tugas Akhir (TA) yang berjudul “Ekstraksi dan Purifikasi Parsial Enzim Pektinase dari Konsorsium Bakteri Pektinolitik”.

Tujuan penulisan Tugas Akhir ini untuk memenuhi salah satu persyaratan mendapatkan gelar Kesarjanaan, pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Selama proses penelitian hingga penyusunan Tugas Akhir ini banyak sekali hambatan yang penulis hadapi, namun berkat bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulisan Tugas Akhir ini dapat diselesaikan. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orangtua tercinta dan saudara tersayang yang selalu memberikan doa, perhatian dan dukungan secara moril ataupun materil sehingga Tugas Akhir ini terselesaikan.
2. Bapak Prof. Dr. Phil. Al Makin, S.Ag., M.A. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
3. Ibu Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi.
4. Ibu Najda Rifqiyati, S.Si, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
5. Ibu Dias Idha Pramesti, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penasehat Akademik yang telah memberikan arahan akademik.
6. Ibu Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD. selaku dosen pembimbing I yang telah mendedikasikan waktu, arahan, tenaga, bimbingan, dan motivasi.
7. Bapak Dr. Nendyo Adhi Wibowo, M.Biotech. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan waktu, arahan, bimbingan, dan motivasi.

8. Seluruh dosen Program Studi Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Univeritas Islam Negeri Sunan Kalijaga, yang telah memberikan ilmu teori maupun praktik serta tidak dapat disebutkan namanya satu persatu oleh penulis.
9. Semua teman-teman laboran di BRIN dan mahasiswa Prodi Biologi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, semoga Allah SWT membalas semua kebaikan dan bantuan yang diberikan kepada peneliti. Allah SWT adalah satu-satunya pemilik kesempurnaan, penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Tugas Akhir ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca sangat diharapkan. Penulis berharap laporan Tugas Akhir ini bermanfaat bagi pembaca. Aamiin.

Salam

Yogyakarta, 12 Desember 2023

Penulis

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

EKSTRAKSI DAN PURIFIKASI PARSIAL ENZIM PEKTINASE DARI KONSORSIUM BAKTERI PEKTINOLITIK

Fadhiela Rachmawati
19106040039

ABSTRAK

Pektinase merupakan enzim yang dapat mendegradasi pektin dan sering diaplikasikan pada berbagai bidang industri. Pektinase sebagian besar dihasilkan oleh mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim pektinase yang telah dimurnikan secara parsial. Isolat bakteri diperoleh dari lendir hasil fermentasi biji kopi liberika yaitu If+, 2c+, dan 3s+. Indeks pektinolitik diamati berdasarkan adanya zona bening. Isolat dikombinasikan dengan tiga macam formula yaitu F1 (1:1:1), F2 (1:1:2) dan F3 (1:2:1). Purifikasi parsial menggunakan metode pengendapan ammonium sulfat dan dilanjutkan dengan dialisis. Aktivitas enzim ditentukan dengan metode DNS. Kadar protein ditentukan dengan metode Lowry. Indeks kualitatif bakteri pektinolitik dengan kode isolat If+, 2c+, dan 3s+ masing-masing sebesar 14,56%, 6,26%, dan 6,74%. Kondisi pH diketahui berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Namun, pertumbuhan mikroorganisme mampu memodulasi pH. Konsorsium bakteri pektinolitik tumbuh optimal pada jam ke-12. Tingkat kejenuhan ammonium sulfat yang digunakan mempengaruhi aktivitas enzim pektinase. Pemurnian secara parsial dengan saturasi 70% menurunkan kadar protein masing-masing konsorsium F1, F2, dan F3 secara berurutan sebesar 0,23 mg/mL, 0,23 mg/mL, 0,26 mg/mL diikuti dengan kenaikan kadar gula reduksi sebesar 30,9 µg/mL, 29,7 µg/mL dan 28,0 µg/mL yang sejalan dengan kenaikan aktivitas enzim pektinase masing-masing konsorsium secara berurutan sebesar 7,65 U/mg, 7,33 U/mg, dan 6,21 U/mg. Konsorsium FI menunjukkan aktivitas terbaik dengan kadar gula reduksi dan aktivitas enzim tertinggi.

Kata kunci: aktivitas, bakteri, konsorsium, pektinase, purifikasi

**EXTRACTION AND PARTIAL PURIFICATION OF PECTINASE ENZYME
FROM A CONSORTIUM OF PECTINOLYTIC BACTERIA**

Fadhiela Rachmawati
19106040039

ABSTRACT

Pectinase is an enzyme that can degrade pectin and is often applied in various industrial fields. Pectinase is mostly produced by microorganisms. This study aims to determine the activity of pectinase enzymes that have been partially purified. Bacterial isolates were obtained from slime fermented from Liberika coffee beans, namely If+, 2c+, and 3s+. The pectinolytic index was observed based on the presence of a clear zone. Isolates were combined with three kinds of formulas namely F1 (1:1:1), F2 (1:1:2), and F3 (1:2:1). Partial purification using ammonium sulfate precipitation method and followed by dialysis. Enzyme activity was determined by the DNS method. Protein content was determined by the Lowry method. The qualitative index of pectinolytic bacteria with isolate codes If+, 2c+ and 3s+ was 14,56%, 6,26%, and 6,74%, respectively. The pH condition is known to affect microbial growth. However, microbial growth can modulate pH. The pectinolytic bacterial consortium grew optimally at the 12th hour. The level of ammonium sulfate saturation used affects the activity of the pectinase enzyme. Partial purification with 70% saturation decreased the protein content of each consortium F1, F2, and F3 by 0,23 mg/mL, 0,23 mg/mL, and 0,26 mg/mL respectively followed by an increase in reduced sugar content of 30,9 µg/mL, 29,7 µg/mL, and 28,0 µg/mL which is in line with the increase in pectinase enzyme activity of each consortium by 7,65 U/mg, 7,33 U/mg, and 6,21 U/mg respectively. The F1 consortium showed the best activity with the highest reducing sugar content and enzyme activity.

Keywords: activity, bacteria, consortium, pectinase, purification

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACK	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan	2
D. Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Enzim Pektinase	4
B. Bakteri Pektinolitik	7
C. Teknik Konsorsium	8
D. Purifikasi Parsial Enzim	9
BAB III METODE PENELITIAN	11
A. Lokasi dan Waktu Penelitian	11
B. Alat dan Bahan	11
C. Rancangan Penelitian	12
D. Prosedur Kerja	12
1. Peremajaan Bakteri.....	12
2. Uji Aktivitas Pektinolitik secara Kualitatif	12

3. Pembuatan Konsorsium Bakteri	13
4. Produksi Enzim dan Dinamika Pertumbuhan.....	13
5. Ekstraksi Enzim Pektinase	14
6. Uji Aktivitas Pektinolitik secara Kuantitatif	14
7. Purifikasi Parsial Enzim Pektinase	15
8. Penentuan Kandungan Protein	16
9. Penentuan Aktivitas Spesifik.....	17
E. Tahapan Penelitian	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	18
A. Hasil.....	18
B. Pembahasan	24
BAB V PENUTUP	28
A. Kesimpulan.....	28
B. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rancangan Penelitian	12
Tabel 2. Formula konsorsium bakteri pektinolitik	13
Tabel 3. Hasil uji kualitatif aktivitas pektinolitik dan nilai indeks pektinolitik	18
Tabel 4. Hasil purifikasi parsial enzim pektinase.....	21



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Klasifikasi Enzim Pektinase	5
Gambar 2.	Cara Kerja Enzim Pektinase	7
Gambar 3.	Isolat Bakteri Pektinolitik.....	8
Gambar 4.	Hasil Uji Aktivitas Enzim Pektinase secara Kualitatif	18
Gambar 5.	Grafik Dinamika Pertumbuhan Bakteri.....	19
Gambar 6.	Hasil Purifikasi Enzim Pektinase	21
Gambar 7.	Grafik Kadar Gula Reduksi	22
Gambar 8.	Grafik Aktivitas Enzim Pektinase	22
Gambar 9.	Grafik Kadar Protein	23
Gambar 10.	Grafik Aktivitas Spesifik Enzim Pektinase	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji ANOVA dan Uji Lanjut Duncan Kadar Gula Reduksi	32
Lampiran 2. Uji ANOVA dan Uji Lanjut Duncan Aktivitas Enzim.....	33
Lampiran 3. Uji ANOVA dan Uji Lanjut Duncan Kadar Protein	34
Lampiran 4. Uji ANOVA dan Uji Lanjut Duncan Aktivitas Spesifik Enzim..	35
Lampiran 5. Curriculum Vitae	36



BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penerapan enzim terus mengalami peningkatan seiring berkembangnya sektor industri makanan dan minuman. Hal ini dikarenakan enzim adalah biokatalis alami yang memiliki kelebihan yaitu efisien, selektif, dan tidak memiliki efek samping (Oumer & Abate, 2018). Laporan pasar global khusus enzim, Pasar enzim industri global sebesar \$5,57 miliar pada tahun 2022 dengan tingkat pertumbuhan tahunan gabungan sebesar 7,1%. Pasar enzim industri global diperkirakan akan tumbuh menjadi sekitar \$7,35 miliar pada tingkat pertumbuhan tahunan gabungan 2026 sebesar 7,1% (Anggraini *et al.*, 2022).

Sumber enzim dapat diperoleh dari berbagai jenis organisme baik prokariot maupun eukariot. Sebagian besar enzim dalam penggunaan industri adalah protein ekstraseluler baik dari sumber jamur (misalnya spesies *Aspergillus*) atau sumber bakteri (misalnya spesies *Bacillus*) (Robinson, 2015). Enzim pektinase merupakan salah satu enzim yang ramah lingkungan dan memiliki sifat fungsional yang mirip dengan zat kimia. Pektinase tidak hanya dihasilkan oleh mikroorganisme tetapi juga dihasilkan tanaman (Shet *et al.*, 2018). Enzim pektinase adalah salah satu contoh enzim yang dihasilkan mikroorganisme penyumbang terbesar dalam industri global yaitu sebesar 25% dan hal ini terus mengalami peningkatan (Haile *et al.*, 2021).

Enzim pektinase dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri diantaranya untuk penggosokan kapas, pengolahan air limbah, ekstraksi minyak nabati, fermentasi teh dan kopi, pemutihan kertas, minuman beralkohol, dan industri makanan (Kaur *et al.*, 2017). Studi yang dilakukan (Oumer & Abate, 2017) menunjukkan enzim pektinase yang dihasilkan oleh bakteri pektinolitik dapat membantu fermentasi dalam menghilangkan lapisan lendir dari biji kopi dan mampu meningkatkan fermentasi teh dari sifat

pembentuk busa teh (Oumer & Abate, 2017).

Bakteri pektinolitik yang berpotensi mampu menghasilkan pektinase yaitu *Streptomyces sp.* (S-5), *Cellulomonas sp.* (S-10), *Streptomyces sp.* (S-14), dan *Bacillus sp.* (S-17) yang telah berhasil diisolasi dari tanah hutan boreal di Thunder Bay, Ontario (Shrestha *et al.*, 2021). Enzim pektinase dari *Bacillus subtilis* strain Btk 27 dilaporkan mampu menghilangkan lapisan lendir pada kopi Robusta pasca fermentasi selama 24 jam (Oumer & Abate, 2017). Penelitian Wibowo *et al.* (2021) melaporkan bahwa fermentasi kopi menggunakan konsorsium 4 bakteri pektinolitik dari saliva *Arctictis binturong* Raffles menunjukkan potensi dalam meningkatkan kualitas sensorik pada kopi Liberika.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji dan mengembangkan potensi enzim pektinase yang diproduksi dari konsorsium bakteri pektinolitik yang diisolasi dari cairan hasil fermentasi kopi Liberika. Pengembangan enzim pektinase yang berasal dari bakteri pektinolitik perlu dilakukan secara berkelanjutan mengingat semakin meningkat kebutuhan enzim yang diaplikasikan dalam sektor industri saat ini.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Berapakah perbandingan konsorsium bakteri pektinolitik terbaik dalam menghasilkan enzim pektinase?
2. Bagaimana aktivitas spesifik enzim dari purifikasi parsial enzim pektinase?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui perbandingan konsorsium bakteri pektinolitik terbaik dalam menghasilkan enzim pektinase.
2. Mengetahui aktivitas spesifik enzim dari purifikasi parsial enzim

pektinase.

D. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Dapat mengetahui perbandingan konsorsium bakteri pektinolitik terbaik dalam menghasilkan enzim pektinase serta mengetahui aktivitas spesifik ekstrak enzim pektinase dari purifikasi parsial sebagai bentuk pengembangan berkelanjutan.
2. Memberikan pengetahuan tentang produksi enzim pektinase dari bakteri pektinolitik sebagai bentuk pengembangan untuk industri global.
3. Memanfaatkan potensi mikroorganismenya dalam produksi enzim pektinase.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah:

1. Konsentrasi terbaik dalam menghasilkan enzim pektinase menggunakan formula konsorsium F1 (1:1:1).
2. Aktivitas spesifik enzim pektinase hasil purifikasi parsial masing-masing konsorsium F1 (1:1:1), F2 (1:1:2), dan F3 (1:2:1) secara berurutan sebesar 7,65 U/mg, 7,33 U/mg, dan 6,21 U/mg dengan aktivitas terbaik yaitu pada F1.

B. Saran

Saran dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukannya identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri pektinolitik yang digunakan pada penelitian ini agar lebih mudah dikaji.
2. Perlu adanya pemurnian secara kompleks untuk membandingkan aktivitas enzim pektinase baik saat *crude enzyme*, parsial, maupun murni.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR PUSTAKA

- Aaisha, G.A., dan Barate, D.L. (2016). Isolation and Identification of Pectinolytic Bacteria from Soil Samples of Akola Region, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 5(1): 514-521.
- Alqahtani, Y. S., More, S. S., Keerthana., Shaikh, I. A., Anusha., More, V. S., Niyonzima, F. N., Muddapur, U. M., Khan, A. A. (2022). Production and Purification of Pectinase from *Bacillus subtilis* 15A-B92 and Its Biotechnological Applications. *Molecules* 27 (13), 4195. <https://doi.org/10.3390/molecules27134195>
- Anggraeni, P. U., Fahrurrozi., & Meryandini, A. (2022). Production and Immobilization Pectinase from *Bacillus* sp. 2P11 using Alginate Beads. *Journal of Biodiversity.* 23 (8): 3961-3965. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230813>
- Asri, A. C., Zulaika, E. (2016). Sinergisme Antar Isolat Azotobacter Dikonsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS.*
- Awaliyah, K., Anastasya, A., Nursan., Risnawati. (2016). Isolasi Protein dan WesternBlot. Kediri.
- El-Sayed, M.H., (2015). Thermoalkali-Stable Pectinase from *Bacillus subtilis* Strain NVFO 19 Isolated from Agricultural Waste Dump Soil. 2015. *Current Research in Microbiology and Technology* 3 (6) : 805-815.
- Ferdaus, F., Wijayanti, M. O., Retnonigtyas, E. S., Irawati, W. (2008). Pengaruh pH, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Asam Laktat dari Kulit Pisang. *Journal Widya Mandala* 7 (1) : 1-14.
- Haile S, Ayele A. (2022). Pectinase from microorganisms and its industrial applications. *Sci World J* 2022. 1881305.
- Haile, S., Masi, C., & Tafesse, M. (2022). Isolation And Characterization Of Pectinase-Producing Bacteria (*Serratia marcescens*) From Avocado Peel Wastes For Juice Clarification. *BMC Mircobiology*, 22 (145), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02536-8>
- Hapsari, M. W., Anggraeni, N., Kusumaningtias, N. 2021. Isolasi, Purifikasi Parsial dan Karakterisasi Enzim L-Asparaginase dari Bawang Putih (*Alliumsativum*). Universitas Nasional Karangturi.
- Hmid, I., Elothmani, D., Hanine, H., & Oukabli, A. (2016). Effects Of Enzymatic Clarification Of Pomegranate Juice By Protease And Pectinase Treatments.

J Bio Innov, 5(4), 506–515.

- Jaishankar, J., & Srivastava, P. (2017). Molecular Basis of Stationary Phase Survival and Applications. *Frontiers of Microbiology*, 8 (2000), 1-12. <https://doi/10.3389/fmicb.2017.02000>
- Kaur, S. J., & Gupta, V. K. (2017). Production of Pectinolytic Enzymes Pectinase and Pectin Lyase by *Bacillus subtilis* SAV-21 in solid state fermentation. *Ann Microbiol.* 67 : 333-342.
- Koshy, M., & De, S. (2019). Effect of *Bacillus tequilensis* SALBT crude extract with pectinase activity on demucilage of coffee beans and juice clarification. *Journal of Basic Microbiology*, 59(12), 1185–1194. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900321>
- Kusiyanto, G., Purwatiningsih, & Muzakhar, G. (2019). Skrining dan Identifikasi Bakteri Pektinolitik Endosimbion dalam Sistem Pencernaan Serangga Penggerek Kopi (*Hypothenemus hampei* Ferr.). *Journal of Tropical Biology.* 7 (2) : 44-51
- Lam, H. H., Nguyen, T. M. T., Do, T. A. S., Dinh, T. H., & Dang-Bao, T. (2021). Quantification of total sugars and reducing sugars of dragon fruit-derived Sugar samples by UV-Vis spectrophotometric method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 947, 1–6. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/947/1/012041>
- Mohandas, A., Raveendran, S., Parameswaran, B., Abraham, A., Athira, R. S. R., Mathew, A. K., et al. (2018). Production of Pectinase from *Bacillus sonorensis* MPTD1. *Food Technol Biotechnol.* 56 : 110-6
- Mulluye, K., Kebede, A., & Bussa, N. (2021). Production and Optimization of Pectinase from Pectinolytic Fungi Cultivated on Mango peels and Pectin Subjected to Submerged Fermentation. *Biology, Medicine & Natural Product Chemistry.* 15-21.
- Ningsih, N. P., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2018). Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh *Lactobacillus brevis* dari Es Pisang Ijo. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains.* 233-240.
- Oumer, O. J., & Abate, D. (2017). Characterization of Pectinase from *Bacillus subtilis* strain Btk 27 and its Potential in Removal of Mucilage from Coffee Beans. *Enzymes Res.* 1-7. <https://doi.org/10.1155/2017/7686904>
- Oumer, O. J., & Abate, D. (2018). Screening and molecular identification of pectinase producing microbes from coffee pulp. *BioMed Research International*, 2018, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2018/2961767>
- Patidar, M. K., Nighojkar, S., Kumar, A., Nighojkar, A. (2018). Pectinolytic

enzymes solid state fermentation, assay methods and applications in fruit juice industries : a review. *3 Biotech*, 2018, 8 (199).

- Phutela, U., Dhuna, V., Sandhu, S., & Chadha, B, S. (2004). Pectinase and Polygalacturonase Production by A Thermophilic *Aspergillus fumigatus* Isolated from Decomposing Orange Peels. *Brazilian Journal of Microbiology*. 36 : 63-69
- Purwanto MGM (2016) The Role and Efficiency of Ammonium Sulphate Precipitation In Purification Process of Papain Crude Extract. *Procedia Chem*18: 127-131.
- Rahmi, H., Hariyanti., Putri, R., Wulandari, D. 2020. Analisis Hasil Fraksinasi Protease dan Lipase yang Berasal dari Saluran Pencernaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*).
- Ratzke, C & Gore, J. (2018). Modifying and Reacting to The Environmental pH Can Drive Bacterial Interactions. *PLOS Biology* 16 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2004248>
- Robinson, P. K. 2015. Enzim : Prinsip dan Aplikasi Bioteknologi. Universitas Central Lancashire.
- Roy, K., Dey, S., Uddin, M. K., Barua, R., & Hossain, M. T. (2018). Extracellular Pectinase from a Novel Bacterium *Chryseobacterium indologenes* Strain SD and Its Application in Fruit Juice Clarification. *Enzyme Research*, 2018,1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/3859752>
- Shet, A. R., Desai, S. V., & Achappa, S. (2018). Pectinolytic Enzymes : Classification, Production, Purification, and Applications. *Life Science Informatics Publications*, 2018, 337-344.
- Shmeis, R. M. A. (2018). Water Chemistry and Microbiology. *Comprehensive Analytical Chemistry*. 18 : 1-56.
- Shrestha, S., Khatiwada, J. R., Zhang, X., Chio, C., Kognou, A. L. M., Chen, F., Qin, W. (2021). Screening and molecular identification of novel pectinolytic bacteria from forest soil. *Fermentation*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.3390/fermentation7010040>
- Shrestha, S., Qin, W., & Rahman, M. S. (2021). New Insight in Pectinase Production Development and Industrial Applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org.10.1007/s00253-021-11705-0>
- Sridevi, K., Raagini, P.S., Sumanth, M., dan Vijaylaksmi, K., 2016. Isolation and Screening of Pectinolytic Bacteria from the Mango Fruit Yards. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5 (1) : 738-748

- Thani, M., Kamal, M., Taip., Sulaiman, A., & Omar, R. (2019). Effect of Enzyme Concentrations on Total Reducing Sugar from Leftover Croissants and Doughnuts via Enzymatic Hydrolysis. *Journal Food Research*. 3 (4) : 313-316. <https://doi.org/10.26656/fr>
- Tripathi, R., Singh, J., Bharti, R. K., Thakur, I. S. (2014). Isolation, Purification and Characterization of Lipase from *Microbacterium* sp. and Its Application in Biodiesel Production. *Energy Procedia* 54 (2014) 518-529. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.07.293>
- Utami, A. P., Fahrurrozi, & Meryandini, A. (2022). Production and immobilization pectinase from *Bacillus* sp. 2P11 using alginate beads. *Biodiversitas*, 23(8), 3960-3966. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230813>
- Utami, R., Widowati, E., Rahayu, A. (2015). Screening dan Karakterisasi Pektinesterase Sebagai Enzim Potensial dalam Klarifikasi Sari Buah Jeruk Keprok Garut (*Citrus nobilis* var. *chrysocarpa*). *Agritech*. 35 (4) : 422-433
- Valentina, F., Yuliani., & Lisdiana, L. (2018). Potensi Konsorsium Dua Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar Var. Papua patippi dalam Menghasilkan Hormon Indole - 3 - Acetic Acid (IAA). *Lentera Bio*. 20-27.
- Wibowo, N. A., Mangunwardoyo, W., Santoso, T. J., & Yasman. (2021). Effect of fermentation on sensory quality of Liberica coffe beans inoculated with bacteria from saliva *Arctictis binturong* Raffles, 1821. *Biodiversitas*, 22(9), 3922-3928. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220938>
- Widowati, E., Utami, R., Nurhartadi, E., & Fenny. (2020). Karakterisasi Bakteri Pektinolitik dari Limbah Kulit Jeruk dan Karakterisasi Pektinase yang Dihasilkan serta Studi Aplikasinya Untuk Penjernihan Sari Buah Jeruk Pontianak. *Journal of Tropical AgriFood*. 2(1) : 34-44. <https://doi.org/10.35941/jtaf.2.1.2020.3937.34-44>
- Yanti, A. D. A., Jamaluddin., Sukainah, A. (2023). Optimasi dan Karakterisasi Pektinase dari Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. 9 : 97-112. <https://doi.org/10.26858/jtp.v9i1.34584>
- Zhang, G., Li, S., Xu, Y., Wang, J., Wang, F., Xin, Y., Zhang, H. (2019). Production of alkaline pectinase : a case study investigating the use of tobacco stalk with the newly isolated strain *Bacillus tequilensis* CAS-MEI 2-33. *BMC Biotechnology*, 19(45), 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12896-019-0526-6>
- Zheng, L., Xu, Y., Li, Q., & Zhu, B. (2021). Pectinolytic lyase : a comprehensive review of sources, category, property, structure, and catalytic mechanism of pectate lyase and pectin lyases. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(79)