

PURIFIKASI PARSIAL ENZIM PEKTINASE DARI KONSORSIUM BAKTERI ASAM LAKTAT

SKRIPSI

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



Disusun oleh:

Siti Khodija

19106040013

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

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

PURIFIKASI PARSIAL ENZIM PEKTINASE DARI KONSORSIUM BAKTERI ASAM LAKTAT

SKRIPSI

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



Disusun oleh:

Siti Khodija

19106040013

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

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

HALAMAN 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-19/Un.02/DST/PP.00.9/01/2024

Tugas Akhir dengan judul : Purifikasi Parsial Enzim Pektinase dari Konsorsium Bakteri Asam Laktat

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : SITI KHODIJA
Nomor Induk Mahasiswa : 19106040013
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: 6594f52aca4e8



Penguji I

Nendyo Adhi Wibowo
SIGNED

Valid ID: 6594bed17e4ca



Penguji II

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

Valid ID: 6594e75ad8a74



Yogyakarta, 15 Desember 2023

UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 65975e40058f0

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Siti Khodija

NIM : 19106040013

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 dirujuki sumbernya.

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

Yogyakarta, 08 Desember 2023

Yang menyatakan.



Siti Khodija
NIM. 19106040013

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI

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 : Siti Khodija

NIM : 19106040013

Judul Skripsi : Purifikasi Parsial Enzim Pektinase dari Konsorsium Bakteri Asam Laktat

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.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Pembimbing 1

Yogyakarta, 13 Desember 2023
Pembimbing 2



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



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

HALAMAN MOTTO

وَلِلْآخِرَةِ خَيْرٌ لَّكَ مِنَ الْأُولَىٰ

“And the future will be better for you than the past”

(Q.S. Ad-Duhā: 4)

“Apapun yang menjadi takdirmu pasti akan mencari jalannya sendiri untuk menemukanmu”

(Ali bin Abi Thalib)

“It’s not always easy, but that’s life. Be strong because there are better days ahead”

(Mark Lee)

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

Diriku sendiri yang selalu bertahan dan semangat dalam setiap prosesnya.
Kedua orang tua tersayang dan adik tercinta yang senantiasa memberikan doa,
dukungan, dan motivasi.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbi'l'alamiin, puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “PURIFIKASI PARSIAL ENZIM PEKTINASE DARI KONSORSIUM BAKTERI ASAM LAKTAT”. Shalawat serta salam senantiasa terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan hidup sepanjang masa. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Bapak Prof. Dr. Phil. Al Makin, S.Ag., M.A. selaku Rektor UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi.
3. Ibu Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi.
4. Ibu Dias Idha Pramesti, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penasehat Akademik yang telah memberikan arahan akademik.
5. Ibu Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD. selaku dosen pembimbing I yang telah mendedikasikan waktu, tenaga, senantiasa sabar memberikan arahan, bimbingan, dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Nendyo Adhi Wibowo, M.Biotech. selaku pembimbing II yang telah mendedikasikan waktu, senantiasa sabar memberikan arahan, bimbingan, dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Ibu dan Bapak Dosen Pengajar Program Studi Biologi yang telah memberikan banyak ilmu selama perkuliahan berlangsung.

8. Keluarga tercinta, kedua orang tua dan adik yang senantiasa memberikan dukungan finansial, semangat, doa maupun motivasi.
9. Teman-teman laboratorium dan seperjuangan Prodi Biologi angkatan 2019 yang memberikan semangat dan dukungan. Terima kasih atas kenangan dan kebersamaannya.
10. Seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan, baik dari segi penulisan maupun penyajian. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini menjadi bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca umumnya.



Yogyakarta, 03 Desember 2023

Penulis

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Purifikasi Parsial Enzim Pektinase dari Konsorsium Bakteri Asam Laktat

Siti Khodija
19106040013

ABSTRAK

Pektinase merupakan enzim pendegradasi pektin yang sering diaplikasikan dalam berbagai industri pangan, seperti fermentasi kopi. Pektinase membantu menghilangkan lapisan lendir buah kopi dan meningkatkan cita rasa. Bakteri asam laktat (BAL) diketahui memiliki potensi sebagai penghasil pektinase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formulasi konsorsium BAL penghasil aktivitas enzim pektinase terbaik dan aktivitas spesifik pektinase yang dipurifikasi secara parsial. Kemampuan tiga isolat BAL diuji secara kualitatif dengan mengamati zona bening untuk mengetahui kemampuan pektinolitiknya. Isolat dengan indeks pektinolitik tertinggi dikombinasikan dalam volume lebih banyak dibandingkan dua isolat lainnya. Kombinasi konsorsium BAL terdiri dari tiga macam yaitu BAL F1 (1:1:1), BAL F2 (1:2:1), dan BAL F3 (1:1:2). Purifikasi parsial ekstrak enzim kasar dilakukan dengan metode presipitasi ammonium sulfat menggunakan tingkat saturasi 30% dan 70% kemudian didialisis. Aktivitas enzim pektinase ditentukan dengan metode asam dinitrosalisilat (DNS). Indeks pektinolitik isolat BAL01, BAL02, dan BAL03 masing-masing sebesar 3,62%, 5,17%, dan 7,27%. Kondisi awal pH media kultur mempengaruhi nilai OD pertumbuhan bakteri. Kadar gula reduksi enzim pektinase tertinggi pada konsorsium BAL F1 sebesar 345,36 µg/mL. Konsorsium BAL F1 menghasilkan aktivitas enzim tertinggi sebesar 1,92 U/mL. Kadar protein enzim pektinase tertinggi pada konsorsium BAL F2 sebesar 2,90 mg/mL. Aktivitas spesifik pektinase tertinggi dihasilkan konsorsium BAL F1 sebesar 2,66 U/mg protein, diikuti dengan BAL F3 sebesar 2,56 U/mg protein dan BAL F2 sebesar 1,87 U/mg protein. Konsorsium BAL F1 memiliki nilai OD tertinggi dan menunjukkan hasil terbaik dalam menghasilkan enzim pektinase dengan kadar gula reduksi, aktivitas enzim, dan aktivitas spesifik tertinggi.

Kata kunci: bakteri asam laktat, konsorsium, pektinase, purifikasi parsial

Partial Purification of Pectinase Enzyme from Lactic Acid Bacteria Consortium

Siti Khodija
19106040013

ABSTRACT

Pectinase is an enzyme that breaks down pectin and used in the food industry, including during coffee fermentation, to remove coffee mucilage and improve flavor. Lactic acid bacteria (LAB) have the potential to be used as pectinase producers. This study aims to determine the best LAB consortium formulation, producing high enzyme activity and specific activity of partially purified pectinase. The ability of LAB isolates to break down pectin was tested by observing the clear zone. The greatest pectinolytic index were combined in a larger quantity. The LAB consortium consisted of three different types: BAL F1 (1:1:1), BAL F2 (1:2:1), and BAL F3 (1:1:2). The crude enzyme was partially purified using the ammonium sulfate precipitation method, with saturation levels of 30% and 70%, followed by dialysis. The enzyme activity was determined using the dinitrosalicylic acid (DNS) method. The pectinolytic index of isolates BAL01, BAL02, and BAL03 were 3.62%, 5.17%, and 7.27%, respectively. The initial pH level of the culture medium has an impact on the OD value of bacterial growth. BAL F1 consortium showed the highest reducing sugar concentration at 345.36 $\mu\text{g/mL}$ and enzyme activity at 1.92 U/mL. BAL F2 consortium had the highest protein concentration at 2.90 mg/mL. The highest specific activity was produced by BAL F1 at 2.66 U/mg protein, followed by BAL F3 at 2.56 U/mg protein, and BAL F2 at 1.87 U/mg protein. BAL F1 consortium had the highest OD value and produced pectinase with the highest reducing sugar concentration, enzyme activity, and specific enzyme.

Keywords: consortium, lactic acid bacteria, partial purification, pectinase

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI.....	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Enzim dan Karakteristiknya.....	4
B. Karakteristik Enzim Pektinase dan Manfaatnya	5
C. Aplikasi Pektinase dalam Fermentasi Kopi	8
D. Peran Bakteri Asam Laktat dalam Fermentasi Kopi.....	9
E. Arti Penting Purifikasi Enzim	11
BAB III METODE PENELITIAN	15
A. Waktu dan Tempat Penelitian	15
B. Alat dan Bahan.....	15
C. Rancangan Penelitian	16

D. Prosedur Kerja.....	16
1. Peremajaan isolat BAL.....	16
2. Uji kualitatif aktivitas pektinolitik	16
3. Pembuatan konsorsium bakteri	17
4. Produksi enzim pektinase dan dinamika pertumbuhan bakteri	17
5. Ekstraksi enzim pektinase	18
6. Purifikasi parsial enzim pektinase	18
a. Presipitasi ammonium sulfat	18
b. Dialisis	18
7. Uji kuantitatif aktivitas enzim pektinase	19
8. Pengukuran kandungan protein	20
9. Penentuan aktivitas spesifik pektinase	20
E. Skema Pelaksanaan Penelitian	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Hasil	22
B. Pembahasan.....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	34
A. Kesimpulan	34
B. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rancangan Penelitian.....	16
Tabel 2. Kombinasi konsorsium BAL	17
Tabel 3. Aktivitas pektinase bakteri asam laktat.....	23
Tabel 4. Hasil purifikasi parsial enzim pektinase	26



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Klasifikasi enzim pektinase berdasarkan mekanisme kerjanya	6
Gambar 2. Cara kerja pektinase dan hasil produk pemecahannya	7
Gambar 3. Isolat BAL01, BAL02, dan BAL03	22
Gambar 4. Zona bening di sekitar koloni isolat BAL.	23
Gambar 5. Dinamika pertumbuhan konsorsium BAL	24
Gambar 6. Ekstrak enzim kasar dari konsorsium BAL.....	25
Gambar 7. Kadar gula reduksi enzim pektinase.....	26
Gambar 8. Aktivitas enzim pektinase	27
Gambar 9. Kadar protein enzim pektinase.....	28
Gambar 10. Aktivitas spesifik enzim pektinase.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji one-way ANOVA dan uji lanjut Duncan dinamika pertumbuhan konsorsium BAL F1	41
Lampiran 2. Uji one-way ANOVA dan uji lanjut Duncan dinamika pertumbuhan konsorsium BAL F2	42
Lampiran 3. Uji one-way ANOVA dan uji lanjut Duncan dinamika pertumbuhan konsorsium BALF3	43
Lampiran 4. Data absorbansi dan kurva standar glukosa.....	44
Lampiran 5. Data absorbansi dan kurva standar BSA	44
Lampiran 6. Uji Anova dan uji lanjut Duncan kadar gula reduksi, aktivitas enzim, kadar protein, dan aktivitas spesifik.....	45

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enzim merupakan katalisator alami yang dapat membantu mempercepat laju reaksi kimia tanpa berubah atau ikut bereaksi. Enzim memiliki spesifitas tinggi dan aktivitas yang bisa disesuaikan (Haile & Ayele, 2022). Hal tersebut yang mendorong meningkatnya penggunaan enzim di bidang industri. Enzim mulai dipertimbangkan untuk menggantikan bahan-bahan kimia dalam berbagai proses produksi karena enzim dinilai lebih ramah lingkungan dan tidak beracun (Okpara, 2022). Selain itu enzim juga memiliki keuntungan lain seperti mempercepat proses reaksi, menggunakan energi yang lebih rendah (*low energy*), dan biaya terjangkau (Singh *et al.*, 2016).

Pasar perdagangan enzim secara global dalam aplikasi industri diperkirakan mengalami peningkatan dari 5,57 miliar USD pada tahun 2021 menjadi sekitar 7,35 miliar USD pada tahun 2026 (Utami *et al.*, 2022). Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS, 2023), kebutuhan enzim di Indonesia juga meningkat dilihat dari impor enzim sebesar 22.137 ton pada tahun 2020 menjadi 22.906 ton pada tahun 2021. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa diperlukan upaya pengembangan untuk mendorong industri-industri di Indonesia memproduksi enzim sendiri.

Salah satu enzim yang digunakan dalam industri adalah pektinase. Pektinase merupakan enzim yang dapat mendegradasi pektin dan sering diaplikasikan pada industri pangan. Pektinase dapat dihasilkan oleh berbagai organisme seperti fungi, bakteri, kapang, serangga, nematoda, dan tumbuhan (Roy *et al.*, 2018). Pektinase dapat diaplikasikan dalam berbagai industri pangan maupun nonpangan, seperti klarifikasi jus buah, industri tekstil, pakan ternak, pengolahan limbah, dan fermentasi buah kopi (Haile *et al.*, 2022).

Pektinase digunakan dalam fermentasi buah kopi dengan memanfaatkan kultur starter mikroorganisme. Fermentasi kopi dengan menambahkan kultur starter diketahui telah berhasil mempercepat proses fermentasi lebih baik dibandingkan hanya dengan fermentasi alami. Konsorsium bakteri yang terdiri dari *Saccharomyces cerevisiae* (yeast), *Lactobacillus plantarum* (BAL), dan *Bacillus spaeiricus* dapat mempercepat fermentasi kopi Arabika dalam waktu 6-8 jam sementara buah kopi yang difermentasi secara alami membutuhkan waktu 16 jam. Konsorsium mikroorganisme pada kultur starter tersebut membantu menghilangkan lendir biji kopi dan meningkatkan cita rasa kopi (Siridevi *et al.*, 2019).

Bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas pektinolitik, antara lain seperti *Lactococcus* sp. (Molina *et al.*, 2022), *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lactis*, dan *Weissela cibaria* (Rodríguez *et al.*, 2019). *Lactobacillus plantarum* juga menunjukkan aktivitas degradasi pektin (Siridevi *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya yang dilakukan Rodríguez *et al.* (2019) menjelaskan bahwa bakteri asam laktat memiliki potensi mendegradasi pektin sehingga bisa dijadikan sebagai kultur starter yang dapat diformulasikan untuk produk pangan berbasis fermentasi buah. Namun, belum ada penjelasan mengenai kemampuan BAL jika dikonsorsiumkan.

Pemanfaatan pektinase dalam berbagai bidang industri menandakan bahwa kebutuhan enzim pektinase semakin meningkat. Konsorsium bakteri asam laktat memberikan kemungkinan baru untuk mengembangkan produksi enzim pektinase yang dapat diaplikasikan dalam fermentasi kopi. Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai produksi pektinase dari konsorsium bakteri asam laktat dan pemurnian enzimnya untuk mengetahui aktivitas pektinase secara spesifik sehingga dapat diaplikasikan di bidang industri.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut.

1. Berapa perbandingan konsorsium bakteri asam laktat yang menghasilkan aktivitas pektinase terbaik?
2. Bagaimana aktivitas spesifik enzim yang didapatkan dari purifikasi parsial enzim pektinase?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Menentukan perbandingan konsorsium bakteri asam laktat yang menghasilkan aktivitas pektinase terbaik.
2. Mengetahui aktivitas spesifik enzim yang didapatkan dari purifikasi parsial enzim pektinase.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai perbandingan isolat bakteri asam laktat, proses purifikasi parsial, dan aktivitas spesifik enzim pektinase dari konsorsium bakteri asam laktat sehingga dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang industri.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Konsorsium BAL F1 dengan perbandingan isolat 1:1:1 dapat menghasilkan enzim pektinase dengan nilai aktivitas enzim tertinggi yaitu sebesar 1,92 U/mL.
2. Aktivitas spesifik enzim pektinase tertinggi dihasilkan konsorsium BAL F1 sebesar 2,66 U/mg protein, diikuti dengan BAL F3 sebesar 2,56 U/mg protein dan BAL F2 sebesar 1,87 U/mg protein.

B. Saran

Beberapa saran dari penelitian ini adalah:

1. Identifikasi isolat BAL secara molekuler perlu dilakukan untuk mengetahui spesies BAL
2. Enzim pektinase hasil purifikasi parsial diperlukan analisis berat molekul (*molecular mass*) menggunakan elektroforesis SDS-PAGE untuk mengkarakterisasi enzim pektinase yang didapatkan.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahzadeh, R., Pazhang, M., Najavand, S., Fallahzadeh-Mamaghani, V., & Amani-Ghadim, A. R. (2020). Screening of pectinase-producing bacteria from farmlands and optimization of enzyme production from selected strain by RSM. *Folia Microbiologica*, *65*, 705–719. <https://doi.org/10.1007/s12223-020-00776-7>
- Alqahtani, Y. S., More, S. S., Keerthana, R., Shaikh, I. A., Anusha, K. J., 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), 1–10. <https://doi.org/10.3390/molecules27134195>
- Avallone, S., Brillouet, J. M., Guyot, B., Olguin, E., & Guiraud, J. P. (2002). Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. *International Journal of Food Science and Technology*, *37*, 191–198.
- Badan Pusat Statistik. (2023). *Ekspor dan Impor*. Diakses 20 Maret 2023 dari Website Badan Pusat Statistik: <https://www.bps.go.id/exim/>
- Bajpai, P. (2014). Purification of Xylanases. In *Xylanolytic Press* (pp. 53–61). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801020-4.00006-8>
- Boleng, D. T. (2015). *Bakteriologi: Konsep-Konsep Dasar*. UMM Press.
- Deepachandi, B., Weerasinghe, S., Andrahennadi, T. P., Karunaweera, N. D., Wickramarachchi, N., Soysa, P., & Siriwardana, Y. (2020). Quantification of soluble or insoluble fractions of Leishmania parasite proteins in microvolume applications: A simplification to standard Lowry assay. *International Journal of Analytical Chemistry*, *2020*(6129132). <https://doi.org/10.1155/2020/6129132>
- Elhalis, H., Cox, J., & Zhao, J. (2023). Coffee fermentation: Expedition from traditional to controlled process and perspectives for industrialization. *Applied Food Research*, *3*(1), 100253. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100253>
- Fitri, Tawali, A. B., & Laga, A. (2021). The effect of soaking time on mucilage removal from the coffee bean using pectinase enzyme. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* *205*, 807, 022053. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/807/2/022053>
- Ganeshprasad, D. N., Ali, K., Ghramh, H. A., Al-shehri, B. M., & Sneharani, A. H. (2022). Purification and characterization of pectinase from gut-associated *Klebsiella oxytoca* af-G4 of dwarf honey bee, *Apis florea*. *Journal of King Saud University - Science*, *34*(8), 102301.

<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102301>

- Garg, G., Singh, A., Kaur, A., Singh, R., Kaur, J., & Mahajan, R. (2016). Microbial pectinases: an ecofriendly tool of nature for industries. *3 Biotech*, *6*(47), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0371-4>
- Haile, M., & Kang, W. H. (2019). Isolation, identification, and characterization of pectinolytic yeasts for starter culture in coffee fermentation. *Microorganisms*, *7*(401). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100401>
- Haile, S., & Ayele, A. (2022). Pectinase from microorganisms and its industrial applications. *The Scientific World Journal*, *2022*(1881305). <https://doi.org/10.1155/2022/1881305>
- Haile, S., Masi, C., & Tafesse, M. (2022). Isolation and characterization of pectinase - producing bacteria (*Serratia marcescens*) from avocado peel waste for juice clarification. *BMC Microbiology*, *22*(145), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02536-8>
- Handayani, R. (2018). Fermentasi jali menggunakan bakteri selulolitik dan bakteri asam laktat untuk pembuatan tepung. *Jurnal Biologi Indonesia*, *14*(1), 81–89. <https://doi.org/10.47349/jbi/14012018/81>
- Jalil, M. T. M., & Ibrahim, D. (2021). Partial purification and characterisation of pectinase produced by *Aspergillus niger* LFP-1 grown on pomelo peels as a substrate. *Tropical Life Sciences Research*, *32*(1), 1–22. <https://doi.org/10.21315/tlsr2021.32.1.1>
- 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>
- 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. Conf. Series: Earth and Environmental Science*, *947*(012041). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/947/1/012041>
- Molina, G. E. ., Shetty, R., Xiao, H., Watjen, A. P., Tovar, M., & Bang-berthelsen, C. H. (2022). Development of a novel lactic acid bacteria starter culture approach : From insect microbiome to plant-based fermentations. *LWT - Food Science and Technology*, *167*(July). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113797>
- 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*, 10(1), 15–21. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2021.101.15-21>
- Murthy, P. S., & Naidu, M. M. (2011). Improvement of Robusta coffee fermentation with microbial enzymes. *European J. Appl. Sci*, 3(4), 130–139.
- Neto, D. P. de C., Pereira, G. V. de M., Finco, A. M. O., Letti, L. A. ., da Silva, B. J. G., Vandenberghe, L. P. S., & Soccol, C. R. (2018). Efficient coffee beans mucilage layer removal using lactic acid fermentation in a stirred-tank bioreactor: Kinetic, metabolic and sensorial studies. *Food Bioscience*, 26, 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.005>
- Okonji, R. E., Itakorode, B. O., Ovumedia, J. O., & Adedeji, O. S. (2019). Purification and biochemical characterization of pectinase produced by *Aspergillus fumigatus* isolated from soil of decomposing plant materials. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 7(03), 1–8. <https://doi.org/10.7324/JABB.2019.70301>
- Okpara, M. O. (2022). Microbial enzymes and their applications in food industry : A mini-review. *Advances in Enzyme Research*, 10, 23–47. <https://doi.org/10.4236/aer.2022.101002>
- Oktavia, Y., Lestari, S. D., Lestari, S., Herpandi, & Jannah, M. (2018). Optimasi waktu inkubasi produksi protease dan amilase isolat bakteri asal terasi ikan teri *Stolephorus* sp. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 10(3), 719–726. <https://doi.org/10.29244/jitkt.v10i3.18840>
- Oumer, O. J. (2017). Pectinase : substrate, production and their biotechnological applications. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*, 2(3), 1007–1014. <https://doi.org/10.22161/ijeab/2.3.1>
- Oumer, O. J., & Abate, D. (2018). Screening and molecular identification of pectinase producing microbes from coffee pulp. *BioMed Research International*, 2018(2961767). <https://doi.org/10.1155/2018/2961767>
- Pereira, Gilberto V. de Melo, Vale, A. da S., Neto, D. P. de C., Muynarsk, E. S. M., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2020). Lactic acid bacteria: what coffee industry should know? *Current Opinion in Food Science*, 31, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.004>
- Pereira, Gilberto Vinicius de Melo, Neto, D. P. de C., Medeiros, A. B. P., Soccol, V. T., Neto, E., Woiciechowski, A. L., & Soccol, C. R. (2016). Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(7), 1689–1695. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13142>
- Priadi, G., Setiyoningrum, F., & Afiati, F. (2018). Enzim β -galaktosidase dari *Leuconostoc mesenteroides* indigenus: ekstraksi, purifikasi parsial dan

karakterisasi. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 4(2), 184–189. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m040215>

- Rahmi, H., Hariyanti, Ariyanti, R. P., & Devi, W. (2020). Analisis hasil fraksinasi protease dan lipase yang berasal dari saluran pencernaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 7(2), 194–202. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v7i2.3994>
- Ratzke, C., & Gore, J. (2018). Modifying and reacting the environmental pH can drive bacterial interactions. *PLoS Biol*, 16(3), e2004248. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2004248>
- Rodríguez, L. G. R., Mohamed, F., Bleckwedel, J., Medina, R., Vuyst, L. De, Hebert, E. M., & Mozzi, F. (2019). Diversity and functional properties of lactic acid bacteria isolated from wild fruits and flowers present in Northern Argentina. *Front. Microbiol*, 10(1091). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01091>
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., M, B. K., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2015). *Harper's Illustrated Biochemistry* (30th ed.). McGraw-Hill Education.
- Roy, K., Dey, S., Uddin, K., Barua, R., & Hossain, T. (2018). Extracellular pectinase from a novel bacterium *Chryseobacterium indologenes* strain SD and its application in fruit juice clarification. *Enzyme Research*, 2018(3859752). <https://doi.org/10.1155/2018/3859752>
- Saanu, A. B. (2017). Activity of mutagenic strain of *Leuconostoc mesenteroides* isolated from orange and banana fruit waste. *J. Appl. Microbiol Biochem*, 1(2:7), 1–6. <https://doi.org/10.21767/2576-1412.100007>
- Saryono, Devi, S., Nugroho, T. T., Fadhila, W. F., Lorenita, L., Nasution, F. S., & Suraya, N. (2023). Amylase enzyme production with variation of carbon sources and molecular identification of thermophilic fungus *Aspergillus* sp . LBKURCC304 from Bukik Gadang, West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, 24(2), 1200–1205. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240261>
- Satapathy, S., Rout, J. R., Kerry, R. G., Thatoi, H., & Sahoo, S. L. (2020). Biochemical prospects of various microbial pectinase and pectin: an approachable concept in pharmaceutical bioprocessing. *Front. Nutr*, 7(117), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00117>
- Shrestha, S., Khatiwada, J. R., Zhang, X., Chio, C., Kognou, A. L. M., Chen, F., Han, S., Chen, X., & Qin, W. (2021). Screening and molecular identification of novel pectinolytic bacteria from forest soil. *Fermentation*, 7(40), 1–11. <https://doi.org/10.3390/fermentation7010040>
- Shrestha, S., Rahman, M. S., & Qin, W. (2021). New insights in pectinase

- production development and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(24), 9069–9087. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11705-0>
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Kumar, P. (2016). Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6(174), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0485-8>
- Siridevi, G. B., Havare, D., Basavaraj, K., & Murthy, P. S. (2019). Coffee starter microbiome and in-silico approach to improve Arabica coffee. *LWT - Food Science and Technology*, 114(108382). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108382>
- 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>
- Vijayaraghavan, P., Raj, S. R. F., & Vincent, S. G. P. (2016). Industrial Enzymes : Recovery and Purification Challenges. In *Agro-Industrial Wastes as Feedstock for Enzyme Production*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802392-1.00004-6>
- Wang, S., Lian, Z., Wang, L., Yang, X., & Liu, Y. (2015). Preliminary investigations on a polygalacturonase from *Aspergillus fumigatus* in Chinese Pu'er tea fermentation. *Bioresources and Bioprocessing*, 2(33). <https://doi.org/10.1186/s40643-015-0061-9>
- Westphal, A. H., & Berkel, W. J. H. Van. (2021). Techniques for Enzyme Purification. In *Biocatalysis for Practitioners: Techniques, Reactions and Applications* (pp. 3–31). Wiley-VCH GmbH. <https://doi.org/10.1002/9783527824465.ch1>
- Wibowo, N. A., Mangunwardoyo, W., Santoso, T. J., & Yasman. (2021). Effect of fermentation on sensory quality of Liberica coffee beans inoculated with bacteria from saliva *Arctictis binturong* Raffles, 1821. *Biodiversitas*, 22(9), 3922–3928. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220938>
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2009). *Prescott's Principles of Microbiology* (1st ed.). McGraw-Hill Higher Education.
- Wingfield, P. T. (2015). Overview of the purification of recombinant proteins. *Current Protocols in Protein Science*, 80(1), 6.1.1-6.1.35. <https://doi.org/10.1002/0471140864.ps0601s80>
- Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., & Walker, B. (2018). Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*,

8(10). <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0536-0>

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(1), 97–112. <https://doi.org/10.26858/jptp.v9i1.34584>

Yulianti, S. E., & Astuti, D. I. (2021). Fermentation of tofu using consortium of lactic acid bacteria isolated from tofu whey as biocoagulant and bioperservation. *Annales Bogorienses*, 25(1), 15–27. <https://doi.org/10.14203/ann.bogor.2021.v25.n1.15-27>

Zhang, G., Li, S., Xu, Y., Wang, J., Wang, F., Xin, Y., Shen, Z., Zhang, H., Ma, M., & Liu, 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), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12896-019-0526-6>