

UJI KUALITATIF DAN KUANTITATIF AKTIVITAS ENZIM EKSTRASELULER GLUKANASE, PROTEASE, DAN KITINASE DARI ISOLAT PSEUDOMONAS SP. DAN BACILLUS SP.

*QUALITATIVE AND QUANTITATIVE TESTING OF EXTRACELLULAR ENZYME
ACTIVITIES OF GLUCANASE, PROTEASE, AND CHITINASE FROM
PSEUDOMONAS SP. AND BACILLUS SP. ISOLATES.*

Bagas Daniel R¹, Wawan. A. Setiawan^{2*}, Ratdiana³.

¹Mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

³Research and Development PT Great Giant Pineapple

***Email Correspondence: wawan.a.setiawan@gmail.com**

Abstract

This study aimed to evaluate the activity of extracellular enzymes, namely glucanase, protease, and chitinase, both qualitatively and quantitatively, from bacterial isolates of Bacillus sp. and Pseudomonas sp. obtained during an Research program at PT GGP. Qualitative analysis was conducted by observing the formation of clear zones on selective media, while quantitative analysis was performed using spectrophotometric methods to determine enzyme activity expressed in U/mL. The results indicated that both bacterial isolates were capable of producing all three extracellular enzymes. In the glucanase assay, Bacillus sp. exhibited higher activity compared to Pseudomonas sp. Similarly, in the protease assay, the highest activity was also observed in Bacillus sp., whereas in the chitinase assay, Pseudomonas sp. showed relatively higher activity than the other isolates. Overall, the enzyme activity values obtained were considered high compared to previous studies, indicating the strong potential of both bacterial isolates as sources of industrial enzymes and as biological agents in biotechnology and sustainable agriculture.

Keywords: Bacillus, Chitinase, Enzyme, Glucanase, Protease, Pseudomonas.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas enzim ekstraseluler glukonase, protease, dan kitinase secara kualitatif dan kuantitatif dari isolat bakteri Bacillus sp. dan Pseudomonas sp. yang diperoleh selama kegiatan Penelitian di PT GGP. Pengujian kualitatif dilakukan dengan metode pembentukan zona bening pada media selektif, sedangkan pengujian kuantitatif dilakukan menggunakan metode spektrofotometri untuk menentukan aktivitas enzim dalam satuan U/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri mampu menghasilkan ketiga jenis enzim ekstraseluler tersebut. Pada uji glukonase, isolat Bacillus sp. menunjukkan aktivitas tertinggi dibandingkan Pseudomonas sp. Pada uji protease, aktivitas tertinggi juga ditunjukkan oleh isolat Bacillus sp., sementara pada uji kitinase, isolat Pseudomonas sp. memiliki aktivitas yang relatif lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Secara umum, nilai aktivitas enzim yang diperoleh tergolong tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya, yang menunjukkan potensi besar kedua isolat bakteri sebagai sumber enzim industri maupun agen hayati dalam bidang bioteknologi dan pertanian berkelanjutan.

Kata Kunci: Bacillus, Enzim, Glukanase, Kitinase, Protease, Pseudomonas.

PENDAHULUAN

Enzim Merupakan salah satu produk bioteknologi yang memiliki potensi besar dan banyak dimanfaatkan dalam berbagai sektor industri dan pertanian. Peningkatan penggunaan enzim dapat menggantikan fungsi bahan kimia sintetis yang sebelumnya banyak digunakan. Selain itu, pemanfaatan enzim mampu meningkatkan efisiensi proses produksi sehingga jumlah produk yang dihasilkan dapat bertambah. Permintaan terhadap enzim juga menunjukkan kecenderungan meningkat setiap tahun (Mubarik dkk., 2023).

Enzim hidrolitik merupakan enzim ekstraseluler yang berperan dalam menguraikan komponen penyusun sel jamur menguraikan komponen penyusun dinding sel jamur dan diketahui memiliki aktivitas mikoparasitik yang cukup tinggi. Enzim yang berperan penting di antaranya adalah protease, kitinase β -1,3-glukanase. Dinding sel jamur tersusun atas polimer kompleks seperti manan, protein, glukosa dan kitin yang berfungsi sebagai pelindung utama terhadap tekanan lingkungan. Beberapa mikroorganisme diketahui mampu mendegradasi dinding sel jamur melalui sekresi enzim seperti glukukanase, protease dan kitinase sehingga menjadi fokus penting dalam pengembangan aplikasi enzim (Aziz dkk., 2021).

Bacillus sp. Dikenal sebagai bakteri yang mampu menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler yang berperan dalam aktivitas penghambatan terhadap organisme lain. Seperti dinding sel jamur yang dapat diuraikan oleh enzim ekstraseluler seperti glukukanase, protease dan kitinase (Sukendi dkk., 2024).

Selain itu, Bacillus sp. Juga memiliki kemampuan menghidrolisis substrat berupa protein, selulosa dan amilum yang menunjukkan perannya dalam proses biodegradasi atau dekomposisi bahan organik di dalam tanah. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa bakteri Bacillus sp. Yang diisolasi dari tanah meliputi beberapa spesies seperti Bacillus anthracis, B. cereus, B. paranthracis, B. paramycoides, B. thuringiensis, B. lentus dan B. sphaericus (Priyanto dkk., 2024).

Beberapa spesies Pseudomonas sp juga., seperti Pseudomonas fluorescens, P. aeruginosa, P. putida, dan P. stutzeri diketahui memiliki kemampuan tinggi dalam menghambat pertumbuhan berbagai patogen jamur maupun bakteri. Aktivitas antagonistik bakteri Pseudomonas sp. Berkaitan dengan kemampuannya menghasilkan enzim kitinase yang dapat merusak dinding sel jamur patogen, misalnya Fusarium solani dan Alternaria alternata. Selain itu Genus Pseudomonas juga dilaporkan mampu menghasilkan berbagai enzim mikolitik seperti amilase, glukukanase, protease dan kitinase (Sarjan., 2025).

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai sumber produksi enzim ekstraseluler khususnya glukukanase, protease dan kitinase memiliki sejumlah keunggulan. Diantaranya adalah kemudahan produksi dalam skala besar, waktu produksi yang relatif singkat, serta kemudahan manipulasi secara genetik. Selain itu, produksi enzim dari mikroorganisme dapat dilakukan secara berkelanjutan dengan biaya relatif rendah karena pertumbuhan mikroorganisme berlangsung cepat dan mudah dikendalikan, sehingga kualitas enzim yang dihasilkan juga lebih konsisten (Sumilat dkk., 2021).

Oleh karena itu, diperlukan pengujian baik secara kualitatif maupun kuantitatif untuk mengetahui kemampuan isolat Bacillus sp. Dengan kode BDR 1 dan Pseudomonas sp. Dengan kode P1 Dalam menghasilkan enzim ekstraseluler glukukanase, protease dan kitinase.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Menganalisis kemampuan isolat BDR Dan P1 sp. Dalam menghasilkan enzim ekstraseluler glukukanase menggunakan metode Congored dan metode Mandels and Webber.
- b. Mengetahui Kemampuan Isolat BDR Dan P1 Dalam menghasilkan enzim ekstraseluler

protease menggunakan metode zona bening dan metode Kunitz yang dimodifikasi Walter (1994).

- c. Mengetahui kemampuan isolat BDR Dan P1 Dalam menghasilkan enzim ekstraseluler Kitinase menggunakan metode Congored dan metode Folders

Enzim ekstraseluler merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme ke lingkungan sekitarnya untuk menghidrolisis molekul kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi. Enzim hidrolitik seperti glukase, protease dan kitinase memiliki peranan penting dalam proses degradasi komponen tersebut merupakan struktur utama penyusun dinding sel patogen jamur sehingga enzim-enzim ini berperan dalam mekanisme antagonisme mikroa serta berpotensi dimanfaatkan sebagai agen hayati dan aplikasi bioteknologi.

Bakteri dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* diketahui memiliki kemampuan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler. Kedua genus ini banyak ditemukan di tanah dan lingkungan perakaran tanaman serta sering dilaporkan memiliki aktivitas hidrolitik yang tinggi. Kemampuan tersebut menjadikan kedua kelompok bakteri ini potensial untuk dikembangkan sebagai agen biokontrol maupun komponen dalam formulasi pupuk hayati cair. Aktivitas antagonistik bakteri terhadap patogen tidak hanya disebabkan oleh kompetisi nutrisi dan ruang, tetapi juga oleh kemampuannya menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi dinding sel patogen.

Produksi enzim ekstraseluler oleh bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain sifat genetik isolat, jenis dan konsentrasi substrat, pH, suhu, serta fase pertumbuhan mikroba. Pada fase eksponensial hingga fase stasioner, bakteri cenderung meningkatkan produksi metabolit sekunder termasuk enzim ekstraseluler sebagai respons terhadap keterbatasan nutrisi. Substrat seperti Carboxymethyl Cellulose (CMC), kasein dan kitin berperan sebagai inducer yang merangsang ekspresi gen penghasil enzim spesifik. Dengan adanya substrat yang sesuai, bakteri akan menghasilkan enzim untuk menghidrolisis senyawa kompleks menjadi glukosa, asam amino, maupun N-asetilglukosamin yang selanjutnya digunakan dalam proses metabolisme sel.

Untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim, diperlukan pengujian secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif dilakukan dengan mengamati terbentuknya zona bening pada media selektif yang mengandung substrat tertentu. Zona bening menunjukkan adanya aktivitas hidrolisis substrat oleh enzim yang dihasilkan bakteri. Besarnya aktivitas relatif dapat dihitung melalui nilai indeks enzim, yaitu perbandingan antara diameter zona bening dan diameter koloni. Sementara itu, uji kuantitatif dilakukan dengan mengukur jumlah produk hasil reaksi enzimatis menggunakan metode spektrofotometri, kemudian dikonversi menjadi satuan aktivitas enzim (U/mL). Pengujian kuantitatif memberikan gambaran yang lebih akurat mengenai kemampuan produksi enzim oleh masing-masing isolat.

Berdasarkan pendekatan tersebut, isolat *Bacillus* sp dengan kode BDR. 1 dan BDR 2 Dan *Pseudomonas* sp dengan Kode P1. Yang diuji dapat dibandingkan kemampuannya dalam menghasilkan enzim glukase, protease dan kitinase. Perbedaan nilai indeks dan aktivitas enzim menunjukkan adanya variasi potensi hidrolitik antar isolat. Isolat dengan aktivitas enzim yang lebih tinggi menunjukkan kemampuan degradasi substrat yang lebih optimal sehingga berpotensi lebih besar untuk dikembangkan sebagai agen hayati maupun sumber enzim industri.

Dengan demikian, pengujian kualitatif dan kuantitatif terhadap aktivitas enzim ekstraseluler glukase, protease dan kitinase dari isolat bakteri menjadi dasar ilmiah dalam menentukan isolat yang memiliki potensi terbaik untuk aplikasi lebih lanjut dalam bidang pertanian berkelanjutan dan bioteknologi.

TINJAUAN PUSTAKA

Isolat Bakteri

Bacillus sp.

Klasifikasi *Bacillus* sp. Menurut Mendrofa & Lase (2025), berikut

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Bacillaceae
Marga	: <i>Bacillus</i>
Jenis	: <i>Bacillus</i> sp.

Bacillus sp. Tergolong dalam kelas heterotrofik yang memiliki sifat uniseluler (bersel satu), dan masuk ke dalam mikroorganisme dekomposer. *Bacillus* sp. Berbentuk batang, dan menghasilkan endospora, merupakan bakteri mesofilik yang dapat tumbuh pada temperatur 20-40°C dan dapat hidup dalam pH 5-9 (Arohmah dkk., 2022).

Pseudomonas sp.

Klasifikasi *Pseudomonas* sp. Menurut Fittuqo & Nafidz (2025), Sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Pseudomonadales
Suku	: Pseudomonadaceae
Marga	: <i>Pseudomonas</i>
Jenis	: <i>Pseudomonas</i> sp.

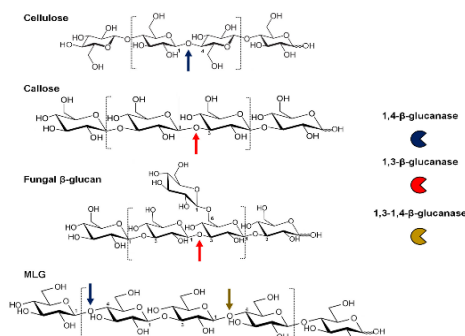
Pseudomonas sp. merupakan bakteri Gram negatif, memiliki karakteristik seperti batang (Rods) atau kokus (coccus). Motil memiliki flagel polar, aerob obligat, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa atau karbohidrat, tidak memiliki selubung (sheat) dan memiliki flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu aktif bergerak. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada suhu 4°C atau dibawah 43°C dan oksidase positif. *Pseudomonas* sp. Umumnya sering ditemukan pada tanah, tanaman dan air (Suardana dkk., 2025).

Enzim

Enzim Glukanase Metode

Enzim glukanase atau enzim β -glukanase merupakan enzim yang berfungsi menghidrolisis β -glukanase yang berfungsi menghidrolisis β -glukan, yaitu sebagai komponen utama penyusun dinding sel cendawan. β -glukanase bekerja dengan memutus ikatan β -glikosidik yang terdapat pada struktur β -glukan. Penggolongan enzim ini cukup beragam dan didasarkan pada jenis ikatan glikosidik yang dihidrolisis seperti pada gambar diatas. Sebagai contoh β -glukanase yang menghidrolisis ikatan β -1,3 dikenal dengan laminarinase, sedangkan enzim yang menghidrolisis ikatan β -1,4 dikenal dengan selulase. Dalam bidang industri, enzim β -glukanase dimanfaatkan dalam proses degradasi glukan, antara lain untuk meningkatkan kualitas dan nutrisi pakan ternak, memabantu penguraian

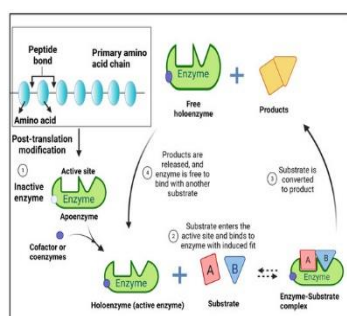
limbah industri pulp dan kertas, serta digunakan dalam industri biopolimer dan tekstil (Ambarsari dkk., 2023). Beberapa Mikroorganisme yang diketahui menghasilkan enzim glukukanase antara lain *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Candida*, *Scheffersomyces*, *Staphylococcus*, *Brucella*, *Ralstonia*, *Bacillus*, *Cupriavidus*, *Burkholderia*, *Ensifer*, *Streptococcus* dan *Xanthomonas* sp. (Bellag dkk., 2022).



Gambar 1. Struktur dan klasifikasi enzim glukukanase (Pauly dkk., 2022).

Enzim Protease

Protease merupakan enzim yang berperan dalam menghidrolisis ikatan peptida pada protein sehingga menghasilkan peptida atau asam amino dengan ukuran yang lebih kecil. Enzim ini memiliki berbagai aplikasi luas di berbagai sektor industri seperti industri pangan, farmasi, kesehatan, detergen, kulit dan tekstil, kosmetik, pengolahan limbah lingkungan, serta penelitian di bidang bioteknologi dan biologi molekuler. Dalam industri pangan, khususnya pada sektor jasa makanan, protease dimanfaatkan untuk melunakkan daging serta meningkatkan kualitas kedelai pada proses fermentasi pembuatan kecap. Di bidang kesehatan, protease berfungsi sebagai agen fibrinolitik yang dapat membantu mencegah terbentuknya pembekuan darah (trombus), sedangkan dalam industri detergen enzim ini digunakan untuk meningkatkan efektivitas pembersihan, terutama dalam menghilangkan noda berbasis protein seperti darah (Budiarti dkk., 2025). Adapun mekanisme reaksi enzim protease sebagai berikut:



Gambar 2. Mekanisme reaksi enzim protease (Badierah dkk., 2022).

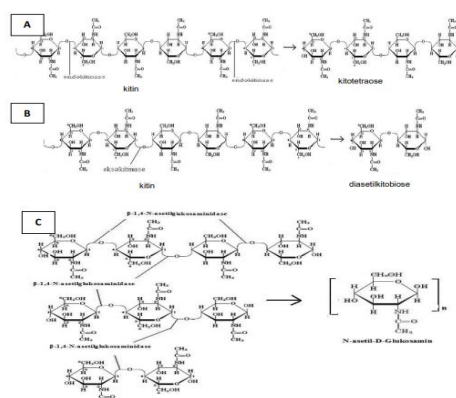
Enzim protease memiliki dua pengertian utama, yaitu proteinase dan peptidase. Proteinase merupakan enzim yang mengkatalisis hidrolisis molekul protein menjadi fragmen-fragmen yang lebih sederhana, sedangkan peptidase berperan dalam menghidrolisis polipeptida menjadi asam amino. Enzim proteolitik yang dihasilkan oleh mikroorganisme umumnya berupa protease yang mencakup aktivitas enzim proteinase dan peptidase. Beberapa Mikroorganisme yang diketahui menghasilkan enzim protease dan

dinyatakan aman untuk digunakan dalam pangan antara lain *Aspergillus niger*, *A. orizae*, *A. awamori*, *Mucor miehei*, *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, dan *Saccharomyces cerevisiae* (Komari dan Susilo, 2021).

Enzim Kitinase

Kitinase adalah enzim mampu menghidrolisis kitin, yaitu polimer yang tersusun dari unit β -1,4-N-asetil-D-glukosamin. Enzim ini memiliki berbagai manfaat dalam kehidupan manusia, khususnya di bidang medis, farmasi, industri, pangan serta pertanian, karena kemampuannya dalam menguraikan kitin menjadi N-asetilglukosamin. Berbagai mikroorganisme diketahui menghasilkan enzim hidrolitik, salah satunya adalah kitinase. Bakteri kitinolitik mampu mendegradasi kitin baik dalam kondisi aerob maupun anaerob dan dapat ditemukan di berbagai habitat. Di lingkungan laut, bakteri tersebut berperan penting dalam siklus nutrisi melalui proses penguraian kitin yang berasal dari cangkang arthropoda dan sumber lain (Puspita dkk., 2023), adapun contoh bakteri kitinolitik yang sering ditemukan yakni *Serratia*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Streptomyces* dan *Bacillus* sp. (Mendez-Trujillo dkk., 2025).

Reaksi pemecahan kitin melibatkan tiga langkah yakni, memecah polimer menjadi oligomer yang larut dalam air, memecah oligomer menjadi dimer dan akhirnya memecah dimer menjadi monomer (Igwaran dkk., 2024). Untuk ilustrasi terkait reaksi enzimatisnya dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 3. Mekanisme Enzim Kitinase Memecah kitin (Pauly dkk.,2022)

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2025 sampai dengan Februari 2026 di Laboratorium Research and Developmement, PT GGP, Lampung Tengah, Lampung.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan petri, gelas beaker, ose, erlenmeyer, tabung reaksi, bunsen, mikropipet dan tip, tube, neraca analitik, glass wool, corong, autoklaf, inkubator, laminar air flow, pinset, waterbath, gelas ukur, hot plate dan stirrer, shaker, sentrifus, dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Alumunium foil, Plastic wrap, kertas saring, Congored 0,1%, NaCl, Carboxymethyl Cellulose (CMC), akuades, ekstrak enzim kasar, reagen DNS, larutan standar glukosa, susu skim steril, kasein, buffer fosfat reagen Folin-ciocalteau, TCA, koloidal kitin, yeast extract, K₂HPO₄, MgSO₄·7H₂O, FeSO₄·7H₂O, CuSO₄·5H₂O, MnSO₄·5H₂O, CaCl₂·2H₂O, Nutrient Broth (NB), Nutrient

Agar (NA) dan Media King's B.

Sedangkan bakteri uji menggunakan isolate Bacillus sp. Dengan kode BDR1 dan 2 BDR 2, Dan Pseudomonas sp. Dengan kode P1.

Uji Kualitatif Enzim Glukanase

Media CMC agar dibuat dengan melarutkan 3 g agar dan 2 g CMC ke dalam 200 mL akuades, kemudian disterilkan dan dituangkan ke dalam 10 cawan petri. Isolat bakteri ditanam dengan metode titik dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah inkubasi, media disiram dengan larutan congo red 0,1% dan dibilas dengan akuades. Aktivitas glukanase, ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni, kemudian diukur luas zona beningnya.

Uji Kuantitatif Enzim Glukanase

Sebanyak 1 g CMC dilarutkan ke dalam akuades hingga homogen dan disterilkan. Isolat bakteri diinokulasikan sebanyak 1-2 ose ke dalam media dan diinkubasi selama 48 jam. Kultur disentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 3 menit. Sebanyak 1 mL supernatant ditambahkan 0,5 mL substrat CMC 1% dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2 mL reagen DNS, kemudian dipanaskan selama 5 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm menggunakan kurva standar glukosa.

Uji Kualitatif Enzim Protease

Media Skim Milk agar dibuat dengan melarutkan 1,5 g agar dan 1 g susu skim steril ke dalam 100 mL akuades, kemudian disterilkan tanpa mendidih. Media NB dibuat dengan melarutkan 2 g NB ke dalam 100 mL akuades. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam NB dan diinkubasi selama 24 jam hingga OD 1,8-2,0. Kultur cair dicelupkan ke dalam cakram kertas dan diletakkan pada media skim milk agar, kemudian diinkubasi selama 48 jam. Aktivitas protease ditunjukkan oleh zona bening di sekitar koloni.

Uji Kuantitatif Enzim Protease

Sebanyak 0,5 mL kultur NB diinokulasikan ke dalam media Skim Milk Broth dan diinkubasi selama 72 jam. Kultur disentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 1 menit. Supernatant sebanyak 0,25 mL dicampur dengan 0,25 Buffer Fosfat dan diinkubasi selama 5 menit, kemudian ditambahkan 0,25 substrat kasein 2% dan diinkubasi selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan. Ditambahkan TCA sebanyak 0,5 mL untuk menghentikan reaksi. Campuran di sentrifus 6.000 rpm selama 1 menit. Ambil 0,25 mL supernatant lalu ditambahkan 1 mL larutan Natrium Karbonat 0,5 M dan 0,6 mL larutan Folin Ciocalteu kemudian inkubasi selama 30 menit di ruangan gelap. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 660 nm.

Uji Kualitatif Enzim Kitinase

Media Kitin agar dibuat dari koloidal kitin 2 g, K₂HPO₄ 0,06 g, MgSO₄·7H₂O 0,20 g dan agar 3 g yang dilarutkan dalam 200 mL akuades dan disterilkan. Media NB dibuat dengan melarutkan 2 g NB ke dalam 100 mL akuades. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media NB dan diinkubasi selama 48 jam hingga OD 1,8-2,0. Kultur cair dicelupkan ke dalam cakram kertas, kemudian diletakkan pada media kitin agar dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah inkubasi, media disiram dengan congo red 0,1% dan dibilas dengan akuades zona bening yang terbentuk diukur sebagai indikator aktivitas kitinase.

Uji Kuantitatif Enzim Kitinase

Media cair kitinase dibuat dengan melarutkan koloidal kitin 1 g, yeast extract 0,5g, NaCl 0,1 g, K₂HPO₄ 0,1 g, MgSO₄·7H₂O 0,05 g, FeSO₄·7H₂O 0,001 g, CuSO₄·5H₂O 0,0001 g, MnSO₄·5H₂O 0,0001 g, dan CaCl₂·2H₂O 0,0001 g ke dalam 100 ml akuades. Isolat bakteri diinokulasikan dan diinkubasi selama 48 jam. Kultur disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 2-3 menit. Sebanyak 1 mL supernatant dicampur dengan 1 mL substrat koloidal kitin 0,4% dan diinkubasi selama 1 jam. Reagen DNS ditambahkan sebanyak 2 mL dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm.

Analisis Data

Untuk mengetahui hasil uji kualitatif dan kuantitatif aktivitas enzim, dilakukan perhitungan nilai indeks enzim dan nilai aktivitas enzim. Uji kualitatif dianalisis berdasarkan nilai indeks enzim yang diperoleh dari perbandingan antara diameter zona bening (zona hidrolisis) dengan diameter koloni mikroba, nilai indeks ini digunakan untuk menggambarkan kemampuan relatif isolat dalam menghasilkan enzim ekstraseluler.

Uji Kualitatif Enzim

Untuk mengetahui nilai indeks maka menggunakan rumus berikut:

$$\text{Nilai Indeks} = \frac{\text{Diameter Zona Bening}}{\text{Diameter Koloni}}$$

Nilai diameter zona bening dan nilai diameter koloni harus dicari tahu terlebih dahulu dengan pengukuran menggunakan penggaris.

Uji Kuantitatif Enzim

Uji kuantitatif enzim dianalisis berdasarkan nilai aktivitas enzim yang dihitung dari hasil pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer. Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi menjadi aktivitas enzim melalui perhitungan tertentu sesuai dengan metode yang digunakan untuk menentukan tingkat kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan enzim kuantitatif. Untuk rumus perhitungannya sebagai berikut

$$\frac{U}{\text{mL}} = \frac{X \times V}{t \times V_e}$$

Keterangan:

X = Jumlah Produk U/mL

V = Volume reaksi larutan yang bereaksi sebelum reaksi dihentikan (mL)

T = waktu inkubasi (lama reaksi enzim-substrat berlangsung sebelum reaksi dihentikan) (menit)

V_e = Volume enzim yang direaksikan

Aktivitas enzim dinatakan dalam satuan internasional yaitu U/mL, bahwa satuan unit aktivitas enzim menghas 1 µmol dihasilkan glukosa per menit selama masa pengujian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Enzim Glukanase

Berdasarkan hasil uji kualitatif enzim glukanase setelah diinkubasi didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Data uji kualitatif enzim glukanase

Nama Isolat	Ulangan (U)	Diameter Koloni (Cm)	Luas Zona Bening (Cm)	Diameter Koloni (Cm)	Nilai Indeks	Rerata
BDR 1	U1	4	5,5	1,5	0,38	0,32
	U2	4,3	5,7	1,4	0,33	
	U3	4,4	5,5	1,1	0,25	
BDR 2	U1	1,9	4,4	2,5	1,32	1,45
	U2	1,8	4,4	2,6	1,44	
	U3	1,7	4,4	2,7	1,59	
P1	U1	1,4	1,6	0,2	0,14	0,25
	U2	1,8	1,9	0,1	0,06	
	U3	1,1	1,7	0,6	0,55	



Gambar 4. Uji Kualitatif Enzim Glukanase: (A) Zona bening, (B) Koloni bakteri. (Dokumentasi Pribadi, 2026).

Uji kualitatif enzim glukanase dari isolat BDR Dan P1 Menghasilkan cawan membentuk zona bening. Zona bening pada media disebabkan nutrisi dalam media yang telah dikonsumsi oleh bakteri menjadi senyawa sederhana yaitu selobiosa menjadi glukosa. Zona bening pada media CMC setelah dituangi Congored disebabkan ikatan β -1,4-Glikosidik dengan Natrium Benzidiano-bis-naftilamin-4-sulfonat (merah kongo) yang berinteraksi kuat dalam media CMC (Suryanti dkk., 2023).

Berdasarkan hasil uji kualitatif aktivitas enzim glukanase dari isolat BDR 1, BDR 2 dan P1 Tinggi. Dengan nilai tertinggi dimiliki oleh isolat BDR. Dengan kode BDR 1 dan BDR 2 dengan rerata nilai indeks glukanase mencapai 3,34 dan 2,68 kemudian isolat P1 memiliki aktivitas enzim yang rendah dengan nilai rerata 1,29. Penilaian ini mengacu pada klasifikasi indeks menurut penelitian Hakim dan Kasiandari (2023), yang membagi nilai indeks menjadi tiga kategori yaitu apabila nilai indeks <1 indeks rendah, apabila $1 < x < 2$ indeks sedang, sedangkan nilai indeks >2 tinggi. Ketiga kelompok ini memiliki nilai indeks glukanase yang tinggi.

Caboxymethyl Cellulose (CMC) yang digunakan pada produksi Glukanase kasar berperan sebagai substrat sekaligus zat penginduksi (Inducer) untuk merangsang produksi enzim glukanase. Selain itu, CMC juga dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon yang kemudian diubah menjadi glukosa. Penambahan CMC atau inducer glukanase pada proses uji ini bertujuan untuk menginduksi atau merangsang sel mikroorganisme agar meningkatkan ekspresi gen serta produksi enzim glukanase (Hiola dkk., 2025).

Tabel 2. Data Uji Kuantitatif Enzim Glukanase

Nama Isolat	Ulangan (U)	Abs	Hasil Reaksi (U/mL)	Rata-rata (U/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)
BDR 1	U1	1.900	904.765	1.039.051	51.952
	U2	2.724	1.297.146		
	U3	1.922	915.241		
BDR 2	U1	0.921	441,95	422,42	21,12
	U2	0.775	372,4		
	U3	0.944	452,9		
P1	U1	1.530	785.575	755.717	37.785
	U2	1.551	738.576		
	U3	1.680	800.003		

Berdasarkan data diatas aktivitas enzim glukanase tertinggi dimiliki oleh isolat BDR 1 dengan nilai 51.952,5 U/mL, kemudian isolat P1. dengan nilai aktivitas enzim glukanase sebesar 37.785,8 U/mL dan terakhir isolat BDR 2 memiliki aktivitas enzim glukanase sebesar 21,12 U/mL. menurut penelitian yang dilakukan Amri & Adifa (2024) dengan rerata aktivitas enzim glukanase yang didapat sebesar 4,9-5,9 U/mL, sehingga hal ini menunjukkan Aktivitas enzim glukanase dari ketiga isolat tersebut cukup tinggi.

Berdasarkan hasil uji Kuantitatif enzim glukanase menggunakan supernatant menunjukkan bahwa isolat BDR 1, BDR 2 dan P1, Memiliki aktivitas enzim yang cukup tinggi jika dilihat dari nilai absorbansi. Glukanase mnghidrolisis selulosa pada CMC secara bertahap dengan memotong rantai panjang selulosa menjadi oligosakarida atau disakarida melalui aktivitas endoglukanase dan selobiohidrolase, kemudian senyawa tersebut diuraikan lebih lanjut menjadi monomer glukosa oleh enzim β -glukosidase (Saju dkk., 2022).

Aktivitas CMC-ase yang dihasilkan oleh isolat bakteri dipengaruhi oleh konsentrasi glukosa dalam kultur. Ketika ketersediaan glukosa pada media awal kultivasi terbatas, sel bakteri akan terstimulasi untuk memproduksi enzim yang diperlukan guna menghidrolisis CMC. Pada saat aktivitas enzim glukanse mencapai puncaknya, bakteri akan menghasilkan enzim tersebut secara maksimal ke lingkungan sekitarnya. Glukosa terbentuk sebagai produk akhir dari aktivitas gukanase tidak lagi dapat ditempati oleh substrat selulosa. Aktivitas glukanase umumnya mencapai kondisi optimum ketika sel berada pada fase stasioner, yaitu fase ketika laju pembelahan sel seimbang dengan laju kematian dan lisis sel, sehingga pada tahap ini produksi enzim glukanase berlangsung secara optimal (Nur dkk., 2024).

Uji Aktivitas Enzim Protease

Berdasarkan uji kualitatif enzim protease setelah diinkubasi didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 3. Data hasil uji Kualitatif Protease

Nama Isolat	Ulangan (U)	Diameter Koloni (Cm)	Luas Zona Bening (Cm)	Diameter Total (Cm)	Nilai Indeks	Rerata
BDR 1	U1	4	5,5	1,3	0,38	0,32
	U2	4,3	5,7	1,4	0,33	
	U3	4,4	5,5	1,1	0,25	
BDR 2	U1	1,9	4,4	2,5	1,32	1,45
	U2	1,8	4,4	2,6	1,44	
	U3	1,7	4,4	2,7	1,59	
P1.	U1	1,4	1,6	0,2	0,14	0,25
	U2	1,8	1,9	0,1	0,06	
	U3	1,1	1,7	0,6	0,55	



Gambar 5. Uji Kualitatif Protease, Keterangan: (A) Zona bening, (B) Koloni bakteri

Uji kualitatif protease dari isolat BDR Dan P1. Menghasilkan 9 cawan yang membentuk zona bening. Berdasarkan isolat Bacillus sp. Dengan kode BDR 1 memiliki rerata nilai Indeks Protease (IP) sebesar 1,40, kemudian isolat BDR2 sebesar 1,08 dan terakhir P1 sebesar 0,17. Berdasarkan nilai IP ketiga isolat tersebut memiliki aktivitas enzim yang bervariasi. Berdasarkan nilai IP, isolat BDR 1 dan BDR 2 memiliki aktivitas enzim sedang dan isolat Pseudomonas memiliki aktivitas enzim yang rendah. Hal ini didasarkan pada penelitian Elviantari dkk, (2026) menyatakan rentang nilai indeks protease dikelompokkan menjadi tiga yaitu rendah, sedang dan tinggi. Indeks proteolitik rendah memiliki rentang nilai kurang dari 1(<1), kemudian rentang sedang berkisar $1 < x < 3$ dan indeks proteolitik tinggi memiliki rentang nilai indeks $3 (>3)$.

Aktivitas proteolitik pada suatu bakteri dapat diidentifikasi secara kualitatif pada media padat yang mengandung protein melalui pengamatan pertumbuhan bakteri. Besarnya aktivitas proteolitik ditentukan oleh kemampuan bakteri dalam menguraikan polimer protein menjadi senyawa yang lebih sederhana berupa peptida atau asam amino. Aktivitas tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening (halo zone) di sekitar koloni bakteri pada media pertumbuhan selektif. Media yang digunakan dalam uji proteolitik ini adalah media selektif SMA yang mampu menghidrolisis protein menjadi asam amino (Fitriana & Asri, 2022). Zona bening pada media SMA terbentuk akibat pemecahan molekul protein oleh koloni bakteri. Media SMA mengandung susu skim yang berperan sebagai sumber protein,

khususnya kasein, yang berfungsi sebagai substrat enzim. Kasein merupakan salah satu protein utama dalam susu yang tersusun atas fosfoprotein yang dapat berikatan dengan kalsium dan membentuk garam kalsium yang disebut kalseinat. Protein yang terdapat dalam media SMA kemudian dihidrolisis oleh enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri sehingga menghasilkan zona bening di sekitar koloni. Enzim protease bakteri mengkatalisis proses degradasi protein dengan memutus ikatan CO-NH melalui penambahan molekul air ke dalam struktur protein, sehingga reaksi tersebut menghasilkan asam amino (Sutyanti dkk., 2025).

Tabel 4. Data hasil uji kuantitatif enzim proteases

Nama Isolat	Ulangan (U)	Abs	Hasil Reaksi (U/mL)	Rata-rata (U/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)
BDR 1	U1	0.364	131,6	293,1	88,0
	U2	1.068	383,1		
	U3	1,017	364,9		
BDR 2	U1	0.970	348,1	306,2	91,9
	U2	0.714	256,6		
	U3	0.875	314,1		
P1	U1	0.317	114,9	131,1	39,4
	U2	0.144	53,1		
	U3	0.627	225,6		

Hasil uji kuantitatif enzim protease yang disajikan pada tabel diatas menunjukkan beragam menunjukkan beragam variasi aktivitas enzim protease di masing-masing isolat. Aktivitas protease tertinggi dimiliki oleh isolat BDR 2 sebesar 91,9 U/mL kemudian isolat BDR 1 sebesar 88,0 dan terakhir isolat P1 dengan nilai sebesar 39,4 U/mL. menurut penelitian yang dilakukan oleh Fithriana & Maharani (2022), bakteri Rhizosphere proteolitik dari tanaman yang paling tinggi aktivitas protease nya sebesar 5,97 U/mL, sehingga isolat bakteri BDR dan P1 Memiliki nilai aktivitas enzim protease cukup tinggi, ketika sel telah memasuki fase stasioner akhir. pada fase ini, enzim terus diproduksi seiring dengan pertumbuhan sel hingga mencapai aktivitas maksimum menjelang fase stasioner. Selain itu, pada tahap tersebut terjadi akumulasi metabolit dan penurunan represi katabolit sehingga biosintesis enzim pada bakteri menjadi lebih aktif (Wijanarka dkk., 2021).

Pengujian aktivitas protease dilakukan dengan menggunakan beberapa bahan, antara lain kasein, TCA (Trichloroacetic acid), Na₂CO₃, serta reagen Folin-Ciocalteu. Kasein berperan sebagai substrat protein yang akan dihidrolisis oleh enzim protease menjadi peptida dan asam amino. Reaksi enzimatik kemudian dihentikan oleh TCA dengan cara mengendapkan protein yang tidak terhidrolisis. Setelah proses pemisahan produk hidrolisis oleh TCA, ditambahkan Na₂CO₃ yang berfungsi untuk mengoptimalkan pH pada reaksi pewarnaan. Selanjutnya, reagen Folin-Ciocalteu bereaksi dengan asam amino yang dihasilkan dari hidrolisis kasein oleh protease sehingga menghasilkan warna biru (Suryanti dkk., 2025).

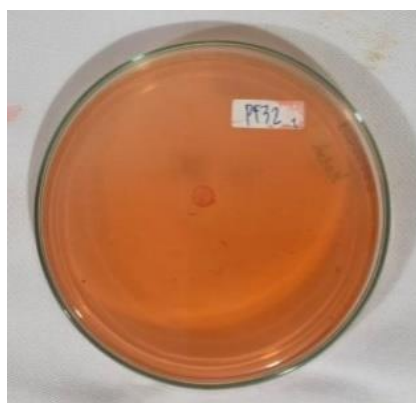
Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim protease, salah satunya adalah komposisi media yang digunakan sebagai sumber nutrisi. media Skim Milk Agar (SMA) mengandung berbagai nutrisi seperti kasein, kalsium, kalium, magnesium, fosfor dan unsur lainnya. Kasein secara alami merupakan fosfoprotein yang dapat berikatan dengan kalsium membentuk kalsium kalseinat. Terbentuknya zona bening pada media SMA di sekitar koloni bakteri menunjukkan

bahwa enzim protease mampu menghidrolisis molekul kasein pada substrat menjadi peptida sederhana dan asam amino. Enzim di hasilkan oleh bakteri dapat bersifat konstitutif, yaitu diproduksi secara terus-menerus di dalam sel, maupun bersifat induktif (inducible) yang produksinya di rangsang oleh keberadaan substrat tertentu dalam media (Muskananfola dkk., 2022).

Uji Aktivitas Enzim Kitinase

Tabel 5. Data hasil uji kualitatif kitinase

Nama Isolat	Ulangan (U) (Cm)	Diameter Koloni	Luas Zona Bening	Diameter total	Nilai Indeks	rerata
BDR 1	U1	4	5,5	1,5	0,38	0,32
	U2	4,3	5,7	1,4	0,33	
	U3	4,4	5,5	1,1	0,15	
BDR 2	U1	1,9	4,4	2,5	1,32	1,45
	U2	1,8	4,4	2,6	1,44	
	U3	1,7	4,4	2,7	1,59	
P1	U1	1,4	1,6	0,2	0,14	0,25
	U2	1,8	1,9	0,1	0,06	
	U3	1,1	1,7	0,6	0,55	



Gambar 6. Uji Kualitatif Kitinase, Keterangan: (A) Zona Bening, (B) Koloni Bakteri

Hasil uji Kualitatif kitinase berdasarkan tabel diatas menunjukkan kemampuan aktivitas kitinolitik yng berbeda dari isolat BDR dan P1. Isolat Bacillus sp. Dengan kode Bacillus 2 memiliki indeks kitinase tertinggi 1,45 kemudian Isolat BDR 1 sebesar 0,32 dan isolat P1. Sebesar 0,25. Isolat BDR 2 memiliki aktivitas enzim yang tinggi sedangkan Isolat BDR1 dan P1. tersebut memiliki aktivitas enzim kitinase yang rendah, hal ini menurut penelitian Aini dkk., (2024) menyatakan bahwa isolat dengan nilai indeks kitinolitik (IK) 1,5 atau lebih dianggap isolat potensial penghasil enzim kitinolitik dan sebagai isolat yang memiliki aktivitas kitinolitik yang kuat. Nilai IK yang semakin tinggi menunjukkan kemampuan bakteri semakin besar dalam menguraikan kitin, sehingga mencerminkan efisiensi mekanisme degradasi senyawa tersebut oleh mikroorgansime. Oleh karena itu, nilai IK mejadi indikator penting dlam mengevaluasi potensi bakteri (Marwan dkk., 2025).

Penentuan aktivitas enzim kitinase secara kualitatif didasarkan pada terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. luas zona bening tersebut akan meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi. Keberadaan zona bening diperjelas melalui pewarnaan

menggunakan Congored. Pewarna Congored ($C_{32}H_{22}N_6O_6S_2Na_2$) dapat berinteraksi secara spesifik dengan polisakarida yang memiliki ikatan β -1,4 glikosidik, seperti yang terdapat pada struktur kitin. Warna merah pada media menunjukkan adanya polisakarida yang belum terhidrolisis, sedangkan area yang tampak bening di sekitar koloni menandakan terjadinya degradasi kitin. Zona bening tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu menghasilkan enzim kitinase yang menguraikan kitin menjadi produk turunannya berupa N-asetilglukosamin (GlcNAc). Senyawa ini kemudian dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber energi, karbon dan nitrogen untuk mendukung pertumbuhan sel (Mulayan dkk., 2025).

Tabel 6. Data Hasil Uji Kuantitatif Enzim Kitinase

Nama Isolat	Ulangan (U)	Abs	Hasil Reaksi (U/mL)	Rata-rata	Aktivitas Enzim (U/mL)
BDR 1	U1	0.016	9,20	13,9	0,92
	U2	0.041	16,3		
	U3	0.040	16,0		
BDR 2	U1	0.021	10,6	12,8	0,85
	U2	0.024	11,4		
	U3	0.041	16,3		
P1	U1	0.044	17,2	14,4	0,96
	U2	0.032	13,7		
	U3	0.021	12,3		

Berdasarkan tabel diatas isolat P. Memiliki aktivitas enzim tertinggi sebesar 0,96 U/mL pada P1 diikuti oleh isolat BDR 1 sebesar 0,92 U/mL lalu terakhir isolat BDR 2 sebesar 0,85 U/mL. berdasarkan penelitian Puspita dkk., (2023), aktivitas kitinase *Bacillus* sp. Yang diberi berbagai perlakuan hanya memiliki nilai aktivitas enzim kitinase sebesar 0,0013 U/mL, Dan penelitian dari Aini (2024), memiliki aktivitas kitinase dari *Aktinobakteria* tertinggi sebesar 0,03 U/mL. sehingga nilai aktivitas kitinase dari ke tiga isolat yang di uji memiliki nilai aktivitas enzim yang cukup tinggi.

Menurut Ustadi (2023), produksi enzim kitinase umumnya terjadi pada fase eksponensial pertumbuhan mikroba, meskipun waktu yang dibutuhkan dapat berbeda pada setiap jenis mikroorganisme. Pada fase ini bakteri menghasilkan enzim ekstraseluler yang dilepaskan ke lingkungan untuk membantu proses penyerapan nutrisi. Enzim tersebut bekerja dengan menghidrolisis molekul polimer di sekitarnya menjadi senyawa yang lebih sederhana. Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi substrat, keberadaan inhibitor, suhu dan pH. Kondisi pH dan suhu yang sesuai akan memengaruhi produksi kitinase serta pembentukan N-asetilglukosamin (NAG). Kitinase yang dihasilkan oleh mikroorganisme ke dalam media kitin cair akan mendegradasi polimer kitin menjadi unit monomer GlcNAc atau NAG, yang selanjutnya dimanfaatkan bakteri sebagai sumber karbon dan nitrogen dalam proses metabolisme. Setelah proses tersebut berlangsung, kultur biasanya disentrifugasi untuk memisahkan sel dari cairan kultur sehingga diperoleh enzim kasar berupa supernatan yang kemudian dapat dimurnikan lebih lanjut

Kitin sendiri merupakan polisakarida yang bersifat kristalin dan sulit larut, sehingga memerlukan perlakuan khusus untuk mengubahnya menjadi bentuk yang lebih mudah diakses oleh enzim. Beberapa metode seperti homogenisasi tekanan tinggi, penggilingan ultrahalus dan pelarutan menggunakan asam kuat digunakan untuk mengubah kitin menjadi

kitin koloidal. Bentuk kitin koloidal memiliki luas permukaan yang lebih besar dan tingkat kristalinitas yang lebih rendah, sehingga lebih mudah dihidrolisis enzim kitinase. Sebaliknya kitin dalam bentuk bubuk yang tidak larut masih mempertahankan struktur kristalinnnya, sehingga lebih resisten terhadap degradasi enzimatik (Yang dkk., 2024). Sehingga Media yang mengandung koloidal kitin akan memudahkan bakteri untuk menghasilkan enzim kitinase ekstraseluler dan menyerap nutrisi untuk pertumbuhan bakteri (Khairah Dkk., 2023).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolat BDR Dan P1 mampu menghasilkan enzim ekstraseluler glukonase melalui zona bening yang terbentuk dan nilai aktivitas enzim yang diketahui dengan menggunakan metode Congrored dan metode Mandels dan Webber.
2. Isolat BDR dan P1 mampu menghasilkan enzim ekstraseluler protease melalui zona bening yang terbentuk dan nilai aktivitas enzim yang diketahui dengan menggunakan metode zona bening dan metode Kunitz yang dimodifikasi Walter (1994).
3. Isolat BDR dan P1. mampu menghasilkan enzim ekstraseluler protease melalui zona bening yang terbentuk dan nilai aktivitas enzim yang diketahui dengan menggunakan metode Congrored dan Metode Folders.

SARAN

Berdasarkan hasil uji aktivitas enzim yang telah dilakukan, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi potensi *Bacillus* sp. Dan *Pseudomonas* sp. Sebagai agen antagonis terhadap fungi patogen. Selain itu, diperlukan optimalisasi kondisi lingkungan yang mempengaruhi aktivitas enzim, seperti pH, suhu, konsentrasi substrat serta waktu inkubasi guna memperoleh kondisi optimum bagi aktivitas enzim yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri K & Adifa. 2024. Pengaruh Konsentrasi Substrat Bekatul dan Suhu Inkubasi Terhadap Aktivitas Selulase *Bacillus* sp. JGIT: Jurnal Greenation Ilmu Teknik. 1 (3): 129-136
- Aini F., Yusuf A. I., Maritsa H. U., Rianny H. 2024. Aktivitas Kitinase dari Aktinobakteria Sebagai Biokontrol *Ganoderma Boninse*. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. 23(2): 227-234
- Ambarsari I., Hanifitri A., Mubarik N. R. 2023. Pemodelan Protein dan Analisis Molecular Docking Enzim β -Glukanase Isolat *Bacillus subtilis* W3.15. Menara Perkebunan. 91(1): 59-71
- Arihman N. E., Sasdika A. H., Rachmanto T. A., Farahdiba U. 2022. Pengaruh pH dan Substrat Terhadap Nilai Kinetika Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas* sp. Dan *Bacillus* sp. Pada Pengolahan Limbah Cair batik. Envirotek: Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan. 14(20): 144-151
- Badierah R., E-Genadi H., Saleh A. K., Redwan E. M., El-Maradany Y., El-Fakhrani E. M. 2022. A Comprehensive Insight into Fungal Enzymes Structure, Classification, and Their Role in Mankind's Challenges. Journal of Fungi. 8(1): 23
- Bellag O. A., Benbelgace, F. F., Akhyar N., Alam M. Z., Salleh H. M. 2022. A Putative β -Glucosidase and An Endo-1,4- β -Glucanase from Pome Metagenomic DNA. Journal of Applied Biological Science. 16(1): 46-61
- Budiarti S. I., Inayah M. N., Alfisah R. K. 2025 Bakteri *Basil Berendospora* Asal Tanah Penghasil Protease. Jurnal Riset Sains dan Teknologi. 9(2): 3223-332

- Elviantari A., Putra K. E., Indriani I., Azzahra F. 2026. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Protetolitik dari Mesin Makanan Fermentasi Tradisional Asal Sumbawa. *Jurnal Tambora*. 10(1): 1-6
- Fittuqo M. S & Nafidz F. A. 2024 Efektivitas Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Penambahan Garam, Ragi, dan Kunyit Untuk penguraian Limbah Plastik. *Journal for Energetic Younster*. 2(1): 92-98
- Fitriana N & Asri M. T. 2022. Aktivitas Proteolitik pada Enzim Protease dari Bakteri Rhizosphere Tanaman Kedelai (*Glycine max L.*) di Trenggalek. *Lentera Bio: Berkala Ilmiah Biologi*. 11(1): 144-152
- Gunung Sewu & Asri M. T. 2022. Great Giant Pineapple (GGP). Diakses pada 8 Februari 2026 dari <https://www.gunungsewu.com/business/food/great-giant-pineapple-ggp/>.
- Hakim D. S & Kasiandari R. S. 2023. Identifikasi dan Seleksi Fungi Endofit Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Penghasil Enzim Selulase. *Berkala Ilmiah Biologi*. 14 (30): 23-31
- Hiola F., Adam A. T., Pakaya M. S., Aman L. O., Uno W. Z. 2025. Perbandingan Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dengan dan Tanpa Menggunakan Penginduksi Carboxymethyl Cellulose (CMC). *Jurnal Kolaboratif Sains*. 8(9): 5732-5737
- Igwaran A., Unuofin J. O., Majengbasan O. S., Moloantoa K. M., Khetsha Z. P., warere S. A., Daramola M. O. 2024. Chitinase: Expanding the Boundaries of Knowledge beyond Routinized Chitin Degradation. *Environmetnal Science and Pollution Research*. 31: 38045-38060
- Khairah M., Mubarik N. R., Manaf L. A. 2023. Bacterial Selection and Characterization of Chitinase Enzyme from Bacteria Controlling *Fusarium proliferatum*. *Biodiversitas*. 24(3): 1926-1933
- Komari N & Susilo T. B. 2021. *Enzimologi: Macam Fungsi dan Aplikasi Enzim*. CV Banyubening Cipta Sejahtera. Banjarbaru
- Marwan H., Anderson R. S., Mulyati S. 2025. Potensi *Bacillus* spp. Dari Rizosfer Tanaman Akasia Sebagai Agens Hayati *Fusarium* sp. Dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman. *Jurnal Agroecotania*. 8(2): 104-117
- Mendez-Trujillo V., Bakr R., Abdelmoteleb A., Gonzalez-Mendoza D., Hewdy O. 2025. The Potential of Beneficial Microbes for Sustainable Alternative Approaches to Control Phytopathogenic Disease. *Microbiology Research*. 16(5): 105
- Mendrofa Y. T & Lase N. K. 2025. Peranan Bakteri *Bacillus* sp, Sebagai Agen Biofertilizer dalam Meningkatkan Kesuburan Tanah dan Produktivitas Tanaman: Kajian Literatur. *Hidroponik: Jurnal Ilmu Pertanian dan Teknologi dalam Ilmu Tanaman*. 2(10): 79-85
- Mubarik N. R., Ningtyas N., Rahayuningsih M. 2023, Penapisan dan Karakterisasi Amilase dari Bakteri Asal Ekoenzim. *Jurnal Ilmu Pertanian (JIPI)*. 28(3): 441-448
- Mulayan J. S., Suryanti E., Chusniasih D. M., Rahmah N., Mulaydi S. P., Istiadi K. A. 2025. Aktivitas Penghambatan Bakteri Kitinolitik Asal Limbah Pengolahan Udang Lampung Terhadap *Fusarium* sp. Dan *Phytophora* sp. *JB&P: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*. 12(20): 206-215
- Muskananfolo M. R., Ayuningrum D., Amanina F. T. 2022. Isolasi dan Penapisan Aktinomisetes yang Berpotensi Menghasilkan Enzim Protease dari Tambak Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) di Kecamatan Tugu, Semarang. *Saintek: Indonesia Journal of Fisheries Science and Technology*. 18(40): 188-194

- Nur H. S., Lestari R. S., Imaningsih W. 2024. Karakterisasi Selulase Termotabil Isolat Bakteri Tanah Pertanian Pasang Surut. *Bioscientiae*. 21(10): 41-56
- Pauly M., Pierrot T., Ramirez. 2022. Emerging Roles β -Glucanase in Plant Development and Adaptive Response. *Plants*. 11(9): 1119
- Priyanto J. A., Wibowo M. A., Budiarti S. 2024 Karakterisasi Bakteri Tanah Penghasil Enzim Hidrolitik yang Diisolasi dari Pulau Muna, Sulawesi Tenggara. *Jurnal Sumberdaya HAYATI*. 10 (20): 55-60
- Puspitasari I. D., Pamungkas S. A., Ustadi U. 2023. Pengaruh pH, Suhu dan Jenis Subtrat Terhadap Aktivitas Kitinase *Bacillus* sp. RNT19. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 19(10): 29-39
- Saju Y. B. P Astuti R. I., Aribah D., Wahyudi A. T. 2022. Skrining dan Identifikasi Bakteri Laut Penghasil Enzim Selulase yang Berasosiasi dengan Spons. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 27(1): 70-75
- Sarjan M., Sudarsih R., Fauzih M. T., Permana P. D. 2025. Aplikasi Bioteknologi untuk Biokontrol Hama dan Tanaman Secara Ramah Lingkungan. *Journal of Multidisciplinary Science and Natural Reserve Management*. 3(1): 62-70
- Suardana I. W., Nataswara Y. A. D., Suartini I. G. A. A. 2025. Identifikasi Isolat Bakteri Gram Negatif dari Tonsil Babi Berdasarkan Morfologi dan Uji Biokimia. *Buletin veteriner Udayana*. 17(3): 833-842
- Sukendi., Elfina Y., Efriyeldi., Sutikno A. 2024. Uji Kemampuan *Bacillus* spp. Dalam Menghambat *Ganoderma boninense* Pat. Penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang Kelapa Sawit Secara In Vitro. *Agro Bali: Agricultural Journal*. 7(2): 579-590
- Sumilat D. A., Hengkebala S. I., Lintang R. S. J., Mangindaan R. E. P., Ginting E. L., Tumenbouw S. 2021, Karakteristik Morfologi dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri *Symbion Nudibranch*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 9(30): 83-94
- Suryanti E., Chusniasih D., Safitri E. 2023. Isolasi dan Uji Aktivitas Selulolitik Bakteri Asal Limbah Bagas. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 23(30): 386-395
- Suryanti E., Putri A., Asagalbadan M. A. 2025. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Asal Sumber Air Panas Way Belerang, Lampung. *BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*. 7(30): 239-246
- Ustadi., Harvinda Y., Putra M. M. P. 2023. Production, Purification and Characterization of Chitinase from *Micromonospora* sp. AR17. *Indonesia Journal of Biotechnology*. 28(10): 46-55
- Widiana A., Ukit., Islaamiyah G., Lugina N. S. 2022. Potensi Bakteri Endofit Limbah Daun Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi* Powell). Terhadap Aktivitas Enzim Selulase. *ORGANISM*. 2(2): 70-83
- Wijanarka., Cahyaningrum E., Luggani A. T. 2021. Isolasi dan Pengaruh Monosodium Glutamat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Proteolitik Limbah Cair Tahu. *Bioma*. 23(2): 84-90
- Yang W., Chen X., Pang L., Tian H., Yi Y., Xia B. 2024 Enhanced Degradation of Insoluble Chitin: Engineering High-Efficiency Chitinase Fusion Enzymes for Sustainable Applications. *Bioresource Technology*. 412: 131401