

**PERBANDINGAN METODE UJI GULA PEREDUKSI DALAM PENENTUAN  
AKTIVITAS  $\alpha$ -L-ARABINOFURANOSIDASE DENGAN SUBSTRAT  
JANUR KELAPA (*COCOS NUCIFERA*)**

**Y. H. Pratiwi, O. Ratnayani, dan I N. Wirajana\***

*Progam Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana*

*\*Email: nengah\_wirajana@unud.ac.id*

---

**ABSTRAK**

Pengujian gula pereduksi umumnya dilakukan dengan reagen asam 2,3-dinitrosalisilat (DNS) dan Nelson-Somogyi (NS) dalam penentuan aktivitas enzim pendegradasi polisakarida. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan metode uji gula pereduksi DNS dan NS dalam penentuan aktivitas  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase (AbfA) termostabil, dengan substrat janur kelapa (*Cocos nucifera*). Enzim AbfA diperoleh dari *Saccharomyces cerevisiae* rekombinan yang dikultivasi selama 3 hari pada suhu inkubasi 30 °C. Penentuan aktivitas enzim AbfA dilakukan pada kondisi pH 6, suhu 70 °C dan waktu inkubasi 15 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penentuan aktivitas enzim AbfA dengan metode NS lebih teliti atau memiliki standar deviasi yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan metode DNS, namun kurva kalibrasi larutan standar metode DNS lebih linear dibandingkan metode NS.

**Kata kunci** :  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase, 3,5-dinitrosalisilat (DNS), Nelson-Somogyi (NS).

**ABSTRACT**

The 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) and Nelson-Somogyi (NS) assays for reducing sugars are commonly used to measure the activity of polysaccharide degrading enzymes. The aim of this study was to compare the DNS and NS assay methods for reducing sugars for the determination of thermostable  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase (AbfA) activity, with substrate of the young coconut leaf (*Cocos nucifera*). The AbfA enzyme was obtained from recombinant *S. cerevisiae* which cultivated for 3 days at 30 °C incubation temperature. The measurement of the AbfA enzyme activity was made under the following conditions, namely pH 6, temperature 70 °C and incubation time 15 minutes. The research results showed that the measurement of the AbfA enzyme activity with the NS method was more accurate or the standard deviation much smaller than the DNS method, but the standard solution calibration curve of the DNS method was more linear than the NS method.

**Keywords** :  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase, 3,5-dinitrosalicylic (DNS), Nelson-Somogyi (NS)

**PENDAHULUAN**

Hemiselulase diaplikasikan dalam proses sakarifikasi, peningkatan kualitas kertas, industri obat dan degradasi limbah pertanian (Liao *et al.*, 2014; Patel *et al.*, 2015). Enzim  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase (EC 3.2.1.55) merupakan salah satu hemiselulase yang berperan dalam biokonversi lignoselulosa menjadi oligosakarida dan monosakaridanya. Enzim ini merupakan ekso enzim yang dapat memotong ikatan pada ujung non-pereduksi  $\alpha$ -L-1,2-,  $\alpha$ -L-1,3- dan  $\alpha$ -L-1,5-arabinofuranosidik serta berperan pada hidrolisis substrat oligosakarida dan polisakarida. Penelitian tentang  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase ini diperlukan karena berperan penting sebagai enzim kunci

pendegradasi xilan dalam hemiselulosa, sehingga banyak diteliti dalam beberapa tahun belakangan (Patel, *et al.*, 2015).

Gen penyandi  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase termostabil yang berasal dari bakteri *Geobacillus thermoleovorans* IT-08 telah berhasil diklon ke sel inang *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ /pTP510 (Puspaningsih, 2004). Studi selanjutnya, gen  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase termostabil dalam sel inang *E. coli* DH5 $\alpha$ /pTP510 disubkloning ke dalam sel inang ragi *Saccharomyces cerevisiae* strain BJ1824. Ragi rekombinan tersebut diberi nama *S. cerevisiae* BJ1824/pYHM1-Af, sedangkan  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase yang dihasilkan dari *S. cerevisiae* rekombinan tersebut selanjutnya

diberi nama enzim AbfA (Wirajana *et al.*, 2016).

Janur kelapa (*Cocos nucifera*) mengandung hemiselulosa 19,27% (Tirono, 2011), yang limbahnya banyak ditemukan di Bali. Enzim AbfA sebagai salah satu hemiselulase diduga memiliki aktivitas terhadap substrat hemiselulosa dalam janur kelapa. Penentuan aktivitas enzim AbfA dengan substrat janur kelapa perlu dilakukan untuk mengetahui potensi enzim ini dalam degradasi limbah biomassa yang ramah lingkungan.

Penentuan aktivitas enzim AbfA dilakukan berdasarkan kemampuan enzim tersebut dalam mengurai substrat, yang dalam penelitian ini adalah polisakarida hemiselulosa dalam janur kelapa menjadi struktur hemiselulosa yang terdegradasi dan monosakarida dalam bentuk gula pereduksi pada satuan waktu tertentu. Metode yang paling sering digunakan dalam penentuan gula pereduksi produk reaksi enzimatik dari enzim-enzim pendegradasi polisakarida adalah metode Bailey (1992). Metode ini menggunakan reagen asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS). Metode DNS prinsipnya adalah gula pereduksi akan bereaksi dengan reagen DNS membentuk senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan. Metode lain yang digunakan dalam penentuan gula pereduksi adalah metode klasik Nelson-Somogyi (NS) yang menggunakan arsen molibdat dalam penggunaannya. Metode NS memiliki prinsip gula pereduksi dalam sampel akan mereduksi ion  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi ion  $\text{Cu}^+$  ketika dipanaskan. Ion  $\text{Cu}^+$  yang terbentuk akan mereduksi senyawa arsen molibdat membentuk kompleks berwarna biru kehijauan (Somogyi, 1952).

Metode NS memiliki harga pereaksinya yang lebih murah dibandingkan dengan DNS dan belum pernah digunakan dalam pengukuran aktivitas enzim AbfA. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan metode DNS dan NS dalam penentuan aktivitas  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase termostabil dari *S. cerevisiae* rekombinan dengan substrat janur kelapa (*Cocos nucifera*).

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain: 3,5-Dinitrosalisicylic acid (DNS), natrium hidroksida (NaOH), kalium natrium tartrat ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), fenol, natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), natrium sulfat anhidrat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), tembaga (II) sulfat pentahidrat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), ammonium molibdat tetrahidrat ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), di-natrium arsenat heptahidrat ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Bahan-bahan untuk media ragi : *yeast nitrogen base without amino acids* (YNB), histidin, leusin, triptofan, *yeast extract*, *bacto-peptone*, dekstrosa, *bacto-agar*, laktosa, janur kelapa (*Cocos nucifera*) yang berasal dari limbah canang.

### Peralatan

Spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific Genesys*), pH meter, inkubator, hot plate stirer, *inkubator shaker*, *autoclave*, mikro sentrifugasi, *laminar air flow cabinet*, spatula, mikro pipet, tip kuning (200  $\mu\text{L}$ ), tip biru (1000  $\mu\text{L}$ ), tabung mikro 1,5 mL (Eppendorf), alat-alat gelas, jarum ose dan neraca analitik.

## CARA KERJA

### Produksi Enzim AbfA

*S. cerevisiae* rekombinan dari stok gliserol diremajakan pada media padat YNBD (*yeast nitrogen base without amino acids* 0,67% b/v, histidin, leusin, triptofan, dekstrosa 1% b/v, dan *bacto-agar* 2% b/v) dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C. Koloni tunggal yang tumbuh dipindahkan ke media cair YPD (*yeast extract* 1% b/v, *bacto-peptone* 2% b/v, dan dekstrosa 2% b/v) dan dikultivasi selama 2 hari pada suhu 30°C serta digoyang dengan shaker pada kecepatan 120 rpm. Selanjutnya 200  $\mu\text{L}$  kultur sel yang tumbuh dipindahkan ke media cair YPD (*yeast extract* 1% b/v, *bacto-peptone* 2% b/v, *bacto-agar* 2% b/v, dekstrosa 1% b/v, dan laktosa 1% b/v) dan dikultivasi selama 4 hari pada suhu 30°C serta digoyang dengan shaker pada kecepatan 120 rpm untuk produksi enzim AbfA. Enzim AbfA yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah enzim AbfA ekstraseluler dan *cell associated*.

### Penentuan Gula Pereduksi dengan Metode DNS

Sampel (t15 DNS) disiapkan dengan mereaksikan 0,5 mL enzim dan 0,05 gram substrat (serbuk janur kelapa) dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 2 mL buffer fosfat pH 6 0,1 M. Campuran diinkubasi pada suhu 70°C selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan glukosa induk 10 mg/mL dan 2,0 mL pereaksi DNS. Tabung reaksi ditutup dengan alumunium foil, lalu diinkubasi pada suhu 90 °C selama 15 menit. Kemudian campuran larutan ditambah dengan 1,0 mL kalium natrium tartrat 40% dan didiamkan pada suhu ruang selama 20 menit. Selanjutnya, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 1 menit. Supernatan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Perlakuan yang sama dilakukan pada blanko dan standar (t0 DNS), namun tanpa dilakukan inkubasi. Rincian prosedur di atas ditunjukkan pada Tabel 1. Perhitungan kadar gula pereduksi yang terbentuk pada waktu inkubasi 15 menit dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis dengan metode standar internal.

### Penentuan Gula Pereduksi dengan metode NS

Sampel (t15 NS) disiapkan dengan mereaksikan 0,25 mL enzim dan 0,05 gram substrat alami janur kelapa dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 2,5 mL buffer fosfat pH 6 0,1 M. Campuran diinkubasi pada suhu 70 °C selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan glukosa induk 10 mg/mL dan 0,5 mL pereaksi Nelson. Tabung reaksi ditutup dengan alumunium foil, lalu diinkubasi pada suhu 100 °C selama 20 menit. Kemudian campuran larutan didiamkan pada suhu ruang selama 20 menit dan ditambah dengan 0,5 mL arsen molibdat.

Campuran larutan diencerkan dengan menambahkan akuades 0,75 mL kemudian dikocok hingga homogen. Selanjutnya, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 1 menit. Supernatan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Perlakuan yang sama dilakukan pada blanko dan standar (t0 NS), namun tanpa dilakukan inkubasi. Rincian prosedur di atas ditunjukkan pada Tabel 2. Perhitungan kadar gula pereduksi yang terbentuk pada waktu inkubasi 15 menit dilakukan secara

spektrofotometri UV-Vis dengan metode standar internal.

Tabel 1. Rincian Komponen dalam Penentuan Gula Pereduksi dengan Metode DNS

Komponen	Blanko DNS	Standar t0 DNS	Sampel t15 DNS
Enzim (mL)	0,5	0,5	0,5
Substrat (g)	0,05	0,05	0,05
Buffer pH 6 (mL)	2,5	2,0	2,0
Glukosa 10 mg/mL)	0	0,5	0,5
Pereaksi DNS (mL)	2,0	2,0	2,0
Inkubasi (menit)	0	0	15

Tabel 2. Rincian Komponen dalam Penentuan Gula Pereduksi dengan metode NS

Komponen	Blanko NS	Standar t0 NS	Sampel t15 NS
Enzim (mL)	0,25	0,25	0,25
Substrat (g)	0,05	0,05	0,05
Buffer pH 6 (mL)	3,0	2,5	2,5
Glukosa 10 (mg/mL)	0	0,5	0,5
Pereaksi Nelson (mL)	0,5	0,5	0,5
Arsen molibdat (mL)	0,5	0,5	0,5
Aquades (mL)	0,75	0,75	0,75
Inkubasi (menit)	0	0	15

### Perhitungan Aktivitas Enzim

Absorbansi hasil pengukuran dikorelasikan dengan kadar gula pereduksi atau diasumsikan sebagai glukosa yang dihasilkan terhadap waktu inkubasi merupakan aktivitas enzim tersebut. Aktivitas enzim AbfA dinyatakan dalam satuan Unit per mL, dengan satu Unit (U) enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1,0  $\mu\text{mol}$  glukosa yang dihasilkan tiap menit pada kondisi pengujian (suhu 70 °C dan pH 6,0). Perhitungan aktivitas enzim AbfA diperoleh dari kadar gula pereduksi yang terbentuk pada waktu inkubasi reaksi enzimatik selama 15 menit dan ditunjukkan dengan persamaan berikut.

1 Unit = 1  $\mu$ mol glukosa/menit

$$\frac{= 0,001 \text{ mmol} \times 180 \text{ g/mol}}{\text{menit}} = 0,18 \text{ mg glukosa/menit}$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/ml)} &= \frac{x \text{ mg glukosa}}{\frac{0,18 \text{ mg glukosa/menit}}{\mu\text{mol/menit}} \cdot \text{Volume enzim} \cdot \text{waktu inkubasi}} \\ &= \frac{x \text{ mg glukosa}}{0,18 \text{ mg glukosa} \cdot \text{Volume enzim} \cdot 15} \cdot \frac{\mu\text{mol glukosa}}{\text{mL menit}} \end{aligned}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode DNS dan metode NS merupakan dua metode yang sering digunakan dalam penentuan gula pereduksi seperti glukosa, galaktosa, laktosa dan maltosa. Prinsip metode DNS adalah gula pereduksi akan bereaksi dengan reagen DNS membentuk senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan. Sedangkan metode NS memiliki prinsip yaitu gula pereduksi mereduksi ion  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi ion  $\text{Cu}^+$ , kemudian ion  $\text{Cu}^+$  akan mereduksi senyawa arsen molibdat membentuk kompleks berwarna biru kehijauan. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang yang sama, yaitu 540 nm.

Perbandingan metode DNS dan metode NS dalam pengukuran aktivitas enzim AbfA pada penelitian ini dilakukan pada kondisi optimum enzim (pH 6, suhu 70°C) (Wirajana, 2016). Perbandingan aktivitas enzim AbfA dengan metode DNS dan metode NS terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa enzim AbfA yang diukur dengan metode DNS memiliki aktivitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan aktivitas enzim yang diukur dengan metode NS, karena volume enzim yang digunakan pada metode DNS dua kali lebih besar daripada metode NS (0,50 mL dalam metode DNS dan 0,25 dalam metode NS). Penggunaan volume enzim yang berbeda karena alasan teknis. Prosedur pengukuran aktivitas enzim dengan metode NS mengharuskan perbandingan antara pereaksi NS dengan glukosa adalah 1:1, dan enzim yang digunakan harus lebih sedikit dari pereaksi agar semua gula pereduksi hasil hidrolisis substrat janur kelapa dapat bereaksi sempurna dengan pereaksi NS. Apabila enzim

yang ditambahkan lebih banyak daripada pereaksi NS, maka kemungkinan tidak semua gula pereduksi yang terbentuk dapat terukur absorbansinya. Sehingga, apabila volume enzim yang digunakan sama, maka kemungkinan aktivitas enzimnya tidak jauh berbeda. Menurut Gusakov (2011) metode DNS yang digunakan dalam penentuan aktivitas selulase memberikan nilai aktivitas 40-50% lebih tinggi dibandingkan metode NS.

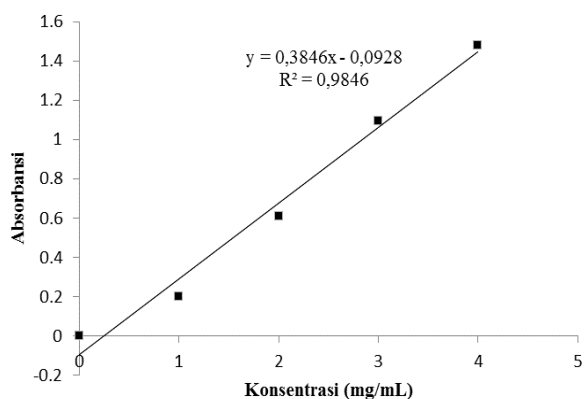
Tabel 3. Perbandingan aktivitas enzim AbfA dengan metode DNS dan metode NS

Metode	Ulangan	Aktivitas AbfA (U/mL)	Aktivitas AbfA rata-rata (U/mL)
DNS	I	1,0385	0,6114 $\pm$ 0,3699
	II	0,4052	
	III	0,3904	
NS	I	0,3704	0,3679 $\pm$ 0,0142
	II	0,3807	
	III	0,3526	

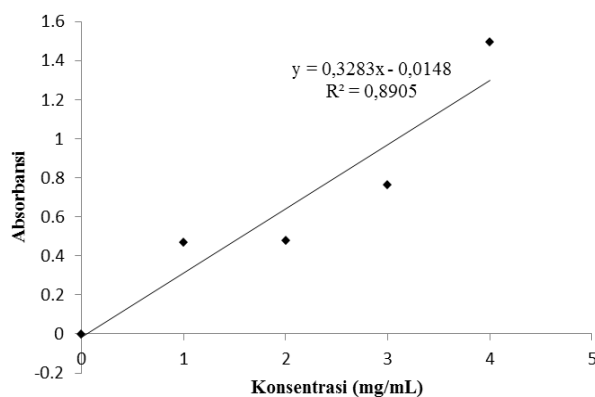
Aktivitas enzim yang ditentukan dengan metode DNS pada penelitian ini diperoleh sebesar 0,6114 $\pm$ 0,3699 U/mL, sedangkan aktivitas enzim yang diukur dengan metode NS adalah 0,3679 $\pm$ 0,0142 U/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa standar deviasi dari aktivitas enzim dengan metode DNS jauh lebih besar daripada standar deviasi aktivitas enzim dengan metode NS. Standar deviasi menunjukkan kedekatan suatu nilai dengan rata-ratanya dan dapat digunakan untuk menentukan baik buruknya representasi dari keseluruhan data. Nilai standar deviasi yang kecil menunjukkan bahwa representasi data baik karena semua data mendekati nilai rata-rata, begitu pula sebaliknya. Aktivitas enzim yang diperoleh dengan metode NS lebih teliti dibandingkan dengan aktivitas enzim dengan metode DNS.

Apabila dibandingkan dari segi linearitas, kurva kalibrasi larutan standar metode DNS lebih linear dibandingkan metode NS (Gambar 1 dan 2). Linearitas ini ditunjukkan oleh nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang terdapat dalam masing-masing kurva. Koefisien determinasi kurva larutan standar dengan metode DNS 0,9846, sedangkan koefisien determinasi kurva larutan standar dengan metode NS adalah 0,8905. Nilai  $R^2$  ini menunjukkan bahwa pengaruh

faktor pengganggu lebih besar terdapat pada metode NS ( $\pm 11\%$ ) dibandingkan metode DNS ( $\pm 2\%$ ). Menurut Bruell and Saddler (1985), metode NS dikenal lebih sensitif terhadap faktor pengganggu, sehingga dapat menurunkan nilai aktivitas enzim. Metode NS telah diketahui memberikan nilai aktivitas yang lebih rendah dibandingkan DNS.



**Gambar 1.** Kurva larutan standar glukosa dengan metode DNS.



**Gambar 2.** Kurva larutan standar glukosa dengan metode NS.

Metode DNS lebih banyak digunakan dalam pengukuran aktivitas enzim yang produknya berupa gula pereduksi, meskipun harga pereaksinya relatif lebih mahal dibandingkan pereaksi dalam metode NS. Hal ini karena reagen yang digunakan dalam metode NS bersifat lebih toksik dan lebih sensitif terhadap faktor pengganggu dibandingkan pada metode DNS (Bailey, 1992). DNS memiliki tingkat ketelitian lebih tinggi sehingga dapat mengukur gula pereduksi dalam konsentrasi kecil. Dalam preparasi pembuatannya, metode DNS lebih

mudah dan lebih praktis dibandingkan metode NS (Irawati, 2016).

Perbandingan metode DNS dan metode NS yang ditinjau dari nilai aktivitas enzim, standar deviasi, linearitas kurva standar dan preparasi pereaksi menunjukkan bahwa kedua metode ini memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Kedua metode ini dapat digunakan dalam pengukuran konsentrasi gula pereduksi dalam penentuan aktivitas enzim AbfA. Namun, apabila ditinjau dari segi kestabilan pereaksi, metode NS lebih disarankan karena pereaksi ini dapat disimpan dalam jangka waktu lama tanpa mengubah substansi yang ada dalam pereaksi tersebut.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa penentuan aktivitas enzim AbfA dengan metode NS lebih teliti (standar deviasi yang jauh lebih kecil,  $0,3679 \pm 0,0142$  U/mL) dibandingkan dengan metode DNS ( $0,6114 \pm 0,3699$  U/mL), namun kurva kalibrasi larutan standar metode DNS lebih linear dibandingkan dengan metode NS.

### Saran

Penentuan aktivitas enzim AbfA dengan substrat janur kelapa perlu dilakukan pada berbagai variasi kondisi pH, suhu, waktu inkubasi, konsentrasi substrat dan konsentrasi enzim dengan metode DNS dan metode Nelson-Somogyi untuk diperoleh kondisi yang optimum.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Koordinator Program Studi Kimia Fakultas MIPA dan Kepala UPT Laboratorium Forensik Universitas Udayana beserta seluruh staf atas bantuan dan fasilitas yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bailey, M.J., Biely, P., and Poutanen, K., 1992, Interlaboratory Testing of Methods for Assay Of Xylanase Activity, *J. of Biotechnol.*, 23: 257-270.

- Bruell, C. and Saddler, J. N., 1985, Enzyme Microbiology Technol., *J. Biochemistry*, 7: 327-332.
- Gusakov, A.V., Kondratyeva, E.G., and Sinitsyn, A.P., 2011, Comparison of Two Methods for Assaying Reducing Sugars in the Determination of Carbohydrase Activities, *International Journal of Analytical Chemistry*, 1-4.
- Irawati, R., 2016, Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh *Bacillus circulans*. *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Liao, Hanpeng, Li, Shuixian, Wei, Zhong, Shen, Qirong dan Xu, Yangchun, 2014, Insights Into High-Efficiency Lignocellulolytic Enzyme Production by *Penicillium oxalicum* GZ-2 Induced by a Complex Substrate, *Biotechnology For Biofuels*, 7:162.
- Patel, H., Chapla, D., Divecha, J., dan Shah, A., 2015, Improved Yield of  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase by Newly Isolated *Aspergillus niger* ADH-11 and Synergistic Effect of Crude Enzyme on Saccharification of Maize Stover, *Bioresources and Bioprocessing*, 2: 11.
- Puspaningsih, N. N. T., 2004, Pencirian Enzim Xilanolitik dan Kloning Gen Penyandi Xilosidase dari *Bacillus thermoleovorans* IT-08, *Disertasi*, Institut Pertanian Bogor.
- Somogyi, M. J., 1952, Notes on Sugar Determination, *Journal of Biological Chemistry*, 195: 19–23.
- Tirono dan Ali, 2011, Efek Suhu Pada Proses Pengarangan Terhadap Nilai Kalor Arang Tempurung Kelapa (*Coconut Shell Charcoal*), Universitas Islam Negeri, Malang.
- Wang, N.S., 2009, *Biochemical Engineering Laboratory: Glucose Assay by Dinitrosalicylic Colorimetric Method*, University of Maryland, Maryland.
- Wirajana, I.N., Kimura, T., Sakka, K., Wasito, E.B., Kusuma, E.K., & Puspaningsih, N.N.T., 2016, Secretion of *Geobacillus thermoleovorans* IT-08  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase (AbfA) in *Saccharomyces cerevisiae* by Fusion with HM-1 Signal Peptide, *Procedia Chemistry* 18: 69 – 74.