

# LAMPIRAN



Lampiran 01. Aktivitas enzim inulinase, kadar protein, aktivitas spesifik inulinase dan berat kering sel isolat khamir rhizosfer umbi dahlia (*Dahlia Variabilis Willd.*)

Tabel 02. Aktivitas inulinase tiap 6 jam sekali dari isolat khamir rhizosfer umbi dahlia selama 30 jam

Isolat	t (jam)	Optical Density (OD)		Kadar Fruktosa		Xs-Xb	Aktivitas inulinase (10 <sup>4</sup> IU/ml)
		Kontrol (Ys)	Sampel (Yb)	Kontrol (Xs)	Sampel (Xb)		
Sp.1	0	0.2924	0.2967	1.1788	1.1953	0.0164	0.3655
	6	0.3187	0.3467	1.2801	1.3878	0.1077	2.3947
	12	0.2006	0.2441	0.8260	0.9931	0.1671	3.7136
	18	0.3098	0.3467	1.2456	1.3878	0.1421	3.1598
	24	0.2218	0.2291	0.9075	0.9355	0.0280	0.6236
	30	0.2676	0.2757	1.0834	1.1146	0.0312	0.6935
Sp.2	0	0.3279	0.3325	1.3152	1.3333	0.0178	0.3968
	6	0.2006	0.2218	0.8260	0.9075	0.0814	1.8103
	12	0.3010	0.3279	1.2119	1.3152	0.1033	2.2958
	18	0.2441	0.3974	0.9931	1.5845	0.5913	13.1415
	24	0.2441	0.2518	0.9931	1.0227	0.0295	0.6567
	30	0.2365	0.2441	0.9641	0.9931	0.0290	0.6453
Sp.4	0	0.3010	0.3010	1.2119	1.2119	0	0
	6	0.3013	0.3098	1.2119	1.2456	0.0337	0.7496
	12	0.2076	0.2365	0.8527	0.9641	0.1113	2.4746
	18	0.3094	0.3467	1.2456	1.3878	0.1421	3.1598
	24	0.2837	0.2923	1.1464	1.1788	0.0324	0.7205
	30	0.2757	0.2839	1.1146	1.1464	0.0318	0.7067

Tabel 03. Kadar protein tiap 6 jam dari isolat khamir rhizozfer umbi dahlia selama 30 jam

Isolat	t (Jam)	OD	Kadar Protein (mg/ml)
YD.1			
	0	0.3187	1.3459
	6	0.3872	1.6259
	12	0.3279	1.3833
	18	0.3467	1.4606
	24	0.2441	1.0407
	30	0.3010	1.2734
YD.2			
	0	0.275724	1.1699
	6	0.327902	1.3833
	12	0.19382	0.8349
	18	0.21467	0.9202
	24	0.356547	1.5005
	30	0.080922	0.3732
YD.3			
	0	0.327902	1.3833
	6	0.327902	1.3833
	12	0.327902	1.3833
	18	0.148742	0.6506
	24	0.275724	1.1699
	30	0.173925	0.7536

Tabel 04. Aktivitas spesifik inulinase tiap 6 jam dari isolat khamir rhizozfer umbi dahlia selama 30 jam.

Isolat	t (Jam)	Aktivitas Enzim U/ml ( $10^{-4}$ )	Kadar Protein mg/ml	Aktivitas Spesifik U/mg( $10^{-4}$ )
YD.1				
	0	0.3655	1.3459	0.2716
	6	2.3947	1.6259	1.4728
	12	3.7136	1.3833	2.6845
	18	3.1598	1.4605	2.1634
	24	0.6236	1.0406	0.5992
	30	0.6935	1.2734	0.5446
YD.2				
	0	0.3968	1.1699	0.3392
	6	1.8103	1.3833	1.3087
	12	2.2958	0.8349	2.7498
	18	13.1415	0.9202	14.2813
	24	0.6567	1.5004	0.4376
	30	0.6453	0.37317	1.7293
YD.3				
	0	0	1.3833	0
	6	0.7496	1.3833	0.5419
	12	2.4746	1.3833	1.7889
	18	3.1598	0.6505	4.857
	24	0.7205	1.1699	0.6158
	30	0.7067	0.7535	0.9379

Tabel 05. Berat sel kering tiap 6 jam dari isolat khamir rhizosfer umbi dahlia selama 30 jam.

Isolat	T (Jam)	Berat kering (gram)		Berat Sel Kering gram/ml
		Awal	Akhir	
YD.1				
	0	0.9591	0.9600	0.0002
	6	0.9590	0.9605	0.0009
	12	0.9693	0.9724	0.0021
	18	0.8634	0.8694	0.0035
	24	0.9810	0.9870	0.0032
	30	0.8633	0.8657	0.0016
YD.2				
	0	0.9574	0.9576	0.0001
	6	0.9720	0.9731	0.0006
	12	0.9556	0.9573	0.0011
	18	0.9603	0.9647	0.0029
	24	0.8896	0.8956	0.0027
	30	0.9614	0.9639	0.0017
YD.3				
	0	0.9623	0.9628	0.0003
	6	0.9888	0.9894	0.0004
	12	0.9544	0.9578	0.0021
	18	0.9640	0.9671	0.0016
	24	0.9745	0.9767	0.0015
	30	0.9592	0.9600	0.0005

Lampiran 02. Pembuatan media isolasi, karakteristik morfologi dan produksi inulinase

### Media yang diperkaya

Komposisi per Liter (1000 ml)

▪ MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	0,05 g
▪ KCL.....	0,05 g
▪ KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,1 g
▪ FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	0,01 g
▪ NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,2 g
▪ Yeast ekstrak.....	0,25 g
▪ NaNO <sub>3</sub> /KNO <sub>3</sub> .....	0,15 g
▪ Inulin.....	0,25 g
▪ Akuades.....	100 ml

Semua bahan – bahan tersebut dicampur dan dilarutkan hingga homogen dalam akuades sampai volume 1ml. lalu di autoklav pada tekanan 2 atm, suhu 121°C selama 15 menit.

### Media PDA (Potato Dextrosa Agar)

Komposisi per Liter (1000 ml)

▪ Agar.....	20 g
▪ Glukosa.....	20 g
▪ Potato .....	200 ml
▪ Akuades.....	1L

Semua bahan –bahan tersebut dicampur dan dilarutkan hingga homogen dalam akuades sampai volume 1L, lalu diautoklav selama 15 menit pada tekanan 2 atm, pada suhu 121°C.

### Media YMA (Yeast Malt Extract Agar)

Komposisi per 100ml

- Agar..... 2 g
- Glukosa..... 1 g
- Pepton..... 0,5 g
- Yeast Extract..... 0,3 g
- Malt Extract..... 0,3 g

Semua bahan – bahan dicampur dan dilarutkan dalam aquadest steril hingga volume 100ml. Dicampur hingga tercampur dan mendidih. Kemudian di autoklav pada suhu 121 C dan tekan 1 atm selama 15 menit.

### Gorodkows Agar

Komposisi per 100ml

- Glukosa..... 0.1gr
- Pepton ..... 1 gr
- Agar ..... 2 gr
- NaCl..... 0.5 gr

Bahan – bahan dicampur dan dilarutkan dalam aquadest steril hingga volume 100ml. Dicampur hingga tercampur dan mendidih. Kemudian di autoklav pada suhu 121 C dan tekana 1 atm selama 15 menit.

## Lampiran 03. Pembuatan larutan fruktosa standar

**Pembutan larutan fruktosa standar**

Komposisi per 100ml

- Fruktosa.....100 mg
- Akuades.....100 ml

Dibuat larutan fruktosa dengan konsentrasi 1 mg/ml dengan cara melarutkan 100mg fruktosa ke dalam 100 ml akuades dengan cara dipanaskan hingga semua fruktosa terlarutkan. Dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 mg/ml dengan cara:

Table 06. Pembuatan larutan glukosa standar dengan konsentrasi yang berbeda

Tabung	Larutan Fruktosa (ml)	Akuades (ml)	Fruktosa (mg/ml)
1	0,0	1,0	0,0
2	0,2	0,8	0,2
3	0,4	0,6	0,4
4	0,6	0,4	0,6
5	0,8	0,2	0,8
6	1,0	0,0	1,0

## Lampiran 04. Pembuatan larutan pereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat(DNS)

**Reagen DNS**

Komposisi

- Asam 3,5-Dinitro salisilat (DNS)..... 0,5g
- NaOH 2N..... 50ml



- Garam Rochele..... 75g
- Akuades..... 250 ml

DNS dilarutkan dalam NaOH, lalu ditambahkan garam rochele dan ditambah air 50 ml, lalu diencerkan sampai volume 250ml.

Lampiran 05. Pembuatan larutan "bovine serum Albumin" (BSA) standar

### Larutan "Bovine Serum Albumin" (BSA)

Komposisi

- BSA (Bovine Serum Albumin)..... 0,03 g
- Buffer sitrat pH 6,0; 0,01 M ..... 100 ml
- Akuades..... 100 ml

Dibuat larutan BSA dengan konsentrasi 0,3 mg/ml dengan cara melarutkan 0,03 g BSA ke dalam larutan buffer sitrat 0,01 M; pH 6,0 yang sebelumnya telah didinginkan pada suhu 10° C selama 24 jam hingga mencapai volume 100 ml. Dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 0,06; 0,12; 0,18; 0,24; 0,30 mg/ml dengan cara:

Tabel 07. Pembuatan larutan BSA standar dengan konsentrasi yang berbeda

Tabung	Larutan BSA (ml)	Akuades (ml)	Protein (mg/ml)
1	0,0	1,0	0,00
2	0,2	0,8	0,06
3	0,4	0,6	0,12
4	0,6	0,4	0,18
5	0,8	0,2	0,24
6	1,0	0,0	0,30

Lampiran 06. Pembuatan larutan penentu kandungan protein (metode Lowry-Folin)

**Larutan Pereaksi Penentu Kandungan Protein**

**Pereaksi A**

Komposisi

- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (anhidrat)..... 10g
- NaOH 0.1N..... 1000 ml

Dilarutkan 10 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (anhidrat) ke dalam NaOH 0.1 N hingga mencapai 1000ml.

**Pereaksi B**

Komposisi

- K/Na tartrat..... 2 g
- Akuades..... 100 ml

Dilarutkan 1 g K/Na tartrat ke dalam akuades hingga volume mencapai 50ml.

**Pereaksi C**

Komposisi

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ..... 1g
- Akuades..... 100ml

Dilarutkan 1 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ke dalam akuades hingga volume mencapai 100ml.

**Pereaksi D**

Komposisi

Pereaksi A	15ml
Pereaksi B	0,75 ml
Pereaksi C	0,75 ml

Dicampurkan antara 15 ml pereaksi A, 0,75 ml pereaksi B, 0,75 Pereaksi C.  
dibuat pada saat akan di gunakan

### **Pereaksi E**

Komposisi

Folin ciocalteu 2 N..... 5 ml

Akuades

Diencerkan 5 ml pereaksi folin ciocalteu 2 N ke dalam akuades hingga volume mencapai 50 ml.

Lampiran 07. Pembuatan larutan penyangga "buffer" asetat.

### **Larutan penyangga (buffer) asetat**

Komposisi

- Asam asetat glasial ..... 6 ml
- Natrium Asetat ( $\text{NH}_3\text{COONA}$ ) ..... 8,2 gr
- Akuades

Larutan X

Dilartankan 6 ml asam asetat galsial kedalam akuades hingga volume mencapai 1000 ml

Larutan Y

Dilartkan 8,2 gr Natrium asetat ( $\text{NH}_3\text{COONA}$ ) ke dalam akuades hingga volume mencapai 1000 ml

Buffer Asetat pH 4,5

Larutan X sebanyak 28 ml dicampur dengan 22 ml larutan Y. kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume 1000 ml.

Lampiran 08. Pembuatan larutan antibiotik Chloramphenicol 50 ppm

**Larutan antibiotik Chloramphenicol 50 ppm**

Komposisi

- Chloramphenicol ..... 50 mg
- Akuades

Dilarutkan kedalam Akuades 50 mg Chloramphenicol hingga volume mencapai 1000 ml, kemudian di autoklav pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.



## Lampiran 09. Kurva larutan fruktosa standar

## Pembuatan kurva larutan fruktosa standar

Table 08. Analisis regresi dan korelasi larutan fruktosa standar

X	Y	X <sup>2</sup>	XY	Y <sup>2</sup>
0.2	0.0809	0.04	0.0169	0.0065
0.4	0.2147	0.16	0.0859	0.0461
0.6	0.2924	0.36	0.1754	0.0855
0.8	0.3187	0.64	0.2250	0.1016
1.0	0.5686	1.00	0.5686	0.3233
$\Sigma X=3.0$ X=0.6	$\Sigma Y=1.4753$ Y=0.2459	$\Sigma X^2=2.2$	$\Sigma XY=1.1018$	$\Sigma Y^2=0.5630$

Persamaan kurva

$$Y = a + bX$$

$$b = \frac{n \cdot \Sigma XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y}{n \cdot \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

$$= \frac{5 \cdot (1.1018) - (3) \cdot (1.4753)}{5 \cdot 2.2 - 9} = 0.5202$$

$$Y = a + bX$$

$$a = Y - bX$$

$$a = 0.2459 - (0.5202 \cdot 0.5)$$

$$= -0.0142$$

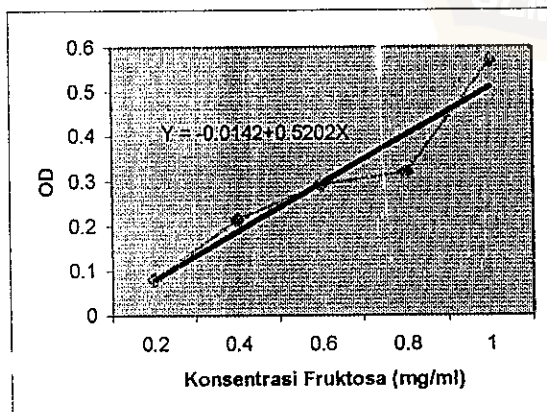
$$Y = -0.0142 + 0.5202 X$$

$$\delta X^2 = n \cdot \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2 = 5 \cdot 2.2 - 9 = 4.2$$

$$\delta Y^2 = n \cdot \Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2 = 5 \cdot 0.5630 - 2.9506 = 1.2015$$

$$\delta XY = n \cdot \Sigma XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y = 5 \cdot 1.1018 - 3.0 \cdot 1.4753 = 2.1849$$

$$r = \frac{\delta XY}{(\delta X^2)^{1/2} \cdot (\delta Y^2)^{1/2}} = 0.97$$



Gambar 08. Kurva larutan fruktosa standar

## Lampiran 10. Kurva larutan "bovine serum albumin" (BSA) standar

## Pembuatan kurva larutan "bovine serum albumin" (BSA) standar

Table 09. Analisis regresi dan korelasi larutan "bovine serum albumin" (BSA) standar

X	Y	X <sup>2</sup>	XY	Y <sup>2</sup>
0.06	0.0223	0.0036	0.001338	0.0004973
0.12	0.0555	0.0144	0.006660	0.0030803
0.18	0.0655	0.0324	0.011790	0.0042903
0.24	0.0970	0.0579	0.023280	0.0094090
0.30	0.1482	0.0900	0.044460	0.0219632
$\Sigma X=0.9$ X=0.18	$\Sigma Y=0.3885$ Y=0.0777	$\Sigma X^2=0.1983$	$\Sigma XY=0.087528$	$\Sigma Y^2=0.03924$

Persamaan kurva

$$Y = a + bX$$

$$b = \frac{n \cdot \Sigma XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y}{n \cdot \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

$$5 \cdot (0.087528) - (0.9) \cdot (0.3885) = 0.489$$

$$5 \cdot 0.1983 - 0.81$$

$$Y = a + bX$$

$$a = Y - bX$$

$$a = 0.0777 - (0.484793388 \cdot 0.18)$$

$$= -0.01032$$

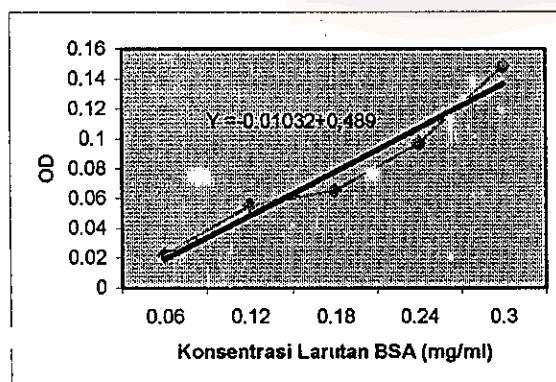
$$Y = -0.01032 + 0.489X$$

$$\delta X^2 = n \cdot \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2 = 5 \cdot 0.1983 - 0.81 = 0.1815$$

$$\delta Y^2 = n \cdot \Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2 = 5 \cdot 0.03924 - 0.15093225 = 0.04526$$

$$\delta XY = n \cdot \Sigma XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y = 5 \cdot 0.087528 - 0.9 \cdot 0.3885 = 0.09069$$

$$r = \frac{\delta XY}{(\delta X^2)^{1/2} \cdot (\delta Y^2)^{1/2}} = 0.975$$



Gambar 09. Kurva larutan "Bovine Serum Albumin" (BSA) standar