

LAMPIRAN-LAMPIRAN



Lampiran 01. Medium untuk Identifikasi dan Uji Aktivitas Inulinase Isolat Khamir YD.2

A. Medium untuk Identifikasi Isolat Khamir YD.2 (Kirsop *et al.*,1984)

1. Medium “Potato Dextrose Agar” (PDA).

“Potato Dextrose Agar” (PDA) 39 g dan Akuades steril 1L, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan “magnetic stirer”. Medium disterilisasi dengan autoklaf (121°C, 2 atm) selama 15 menit.

2. Medium “Yeast Malt Extract Broth” (YMB).

Glukosa 10 g, pepton 5 g, “malt extract” 3 g, “yeast extract” 3 g dan akuades steril 1L, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan “magnetic stirer”. Medium disterilisasi dengan autoklaf (121°C, 2 atm) selama 15 menit.

3. Medium “Yeast Malt Extract Agar” (YMA).

Glukosa 10 g, pepton 5 g, “malt extract” 3 g, “yeast extract” 3 g, agar 20 g, dan akuades steril 1L, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan “magnetic stirer”. Medium disterilisasi dengan autoklaf (121°C, 2 atm) selama 15 menit.

4. Medium Fermentasi.

“Yeast extract” 5 g dan akuades steril 1L dicampur dalam erlenmeyer secara merata menggunakan “magnetic stirer”, kemudian disterilisasi

dengan autoklaf (121°C, 2 atm) selama 15 menit. Larutan gula 20 % disterilisasi dengan proses Tyndalisasi. Medium fermentasi dibuat dengan mencampurkan larutan “Yeast extract” sebanyak 450 ml dan larutan gula 20 % sebanyak 50 ml. Campuran ditempatkan pada tabung reaksi yang dilengkapi dengan tabung durham.

5. “Salt Medium” 10 % / 15 % / 20 %.

“Bacto pepton” 10 g, “yeast extract” 5g, glukosa 20 g, 100 g /150 g / 200 g NaCl dan akuades steril 1L, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan “magnetic stirer”. Medium disterilisasi dengan autoklaf (121°C, 2 atm) selama 15 menit.

6. “Glucose Medium” 50 %.

Glukosa 500 g, “yeast extract” 24.6 g, agar 24.6 g dan akuades steril 500 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan “magnetic stirer”. Medium disterilisasi dengan proses Tyndalisasi.

7. “Glucose Medium” 60 %.

Glukosa 600 g, “yeast extract” 23.4 g, agar 23.4 g, akuades steril 400 ml, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan “magnetic stirer”. Medium disterilisasi dengan proses Tyndalisasi.

8. Medium "Urea Agar".

Pepton 1 g, glukosa 1 g, NaCl 5 g, KH_2PO_4 2 g, fenol merah 1 tetes, agar 20 g dan akuades steril 1L, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dicampur secara merata menggunakan "magnetic stirer" dan disterilisasi dengan autoklaf (121°C , 2 atm) selama 15 menit. Diatur pH pada 6.8. Ditambahkan 100 ml larutan urea 20 % yang sudah disterilisasi dengan autoklaf (121°C , 2 atm) selama 15 menit.

9. "Glucose Chalk Agar".

"Yeast extract" 5 g, glukosa 50 g, CaCO_3 5 g, agar 15 g dan 1L akuades steril, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan "magnetic stirer". Medium disterilisasi dengan autoklaf (121°C , 2 atm) selama 15 menit.

10. Medium "Gorodkova's Agar".

Glukosa 1 g, "bacto pepton" 10 g, agar 20 g, NaCl 5 g dan 1L akuades steril, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan "magnetic stirer". Medium disterilisasi dengan autoklaf (121°C , 2 atm) selama 15 menit.

11. Medium "Tributyryn Agar".

Medium "Tributyryn Agar" merupakan medium "ready for use". Sebelum digunakan medium tersebut dicairkan terlebih dahulu.

B. Medium untuk Uji Aktivitas Inulinase

1. Medium Produksi Inulinase (Xiao *et al.*, 1988).

MgSO₄.7H₂O 0.5 g, KCl 0.5 g, FeSO₄.7H₂O 0.1 g, NaNO₃ / KNO₃ 1.5 g, inulin 10 g, “yeast extract” 2.5 g dan akuades steril 1L, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur secara merata menggunakan “magnetic stirer”. Diatur pH pada 4.5. Campuran disterilisasi dengan autoklaf (121°C, 2 atm) selama 15 menit.

2. Reagen Buffer Asetat pH 4,5 (Sudarmadji dkk., 1984).

Asam asetat glasial 6 ml dilarutkan dengan Akuades steril 1L (larutan X). Natrium asetat 8.2 g dilarutkan dengan Akuades steril 1 L (larutan Y). Larutan X 28 ml dicampur dengan larutan Y 22 ml dan diencerkan sampai volume 100 ml.

3. Substrat Inulin 1 % (Xiao *et al.*, 1988).

Inulin 10 g dilarutkan dalam buffer asetat (pH 4,5) 1L dan disterilisasi dengan autoklaf.

4. Reagen Pereduksi “3,5-DiNitroSalicylic acid” (DNS) (Chaplin & Kennedy, 1994).

“3,5-DiNitrosalicylic Acid” (DNS) 0,25 g dilarutkan dengan akuades steril 1 L (larutan X). NaK-tartrat (Garam Rochele) 75 g dilarutkan dengan NaOH 2M 50 ml (larutan Y). Larutan X 50 ml dicampur dengan 50 ml larutan Y dan akuades steril 150 ml.

5. Reagen Lowry A (Sudarmadji dkk., 1984).

Na_2CO_3 anhidrat 10 g dilarutkan dengan NaOH 0,5 N 100 ml (larutan X).
 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1 g dilarutkan dengan Akuades steril 100 ml (larutan Y). K/Natratrat 2 g dilarutkan dengan Akuades steril 100 ml (larutan Z). Reagen Lowry A dibuat dengan mencampurkan larutan X 15 ml, larutan Y 0,25 ml dan larutan Z 0,25 ml.

6. Reagen Lowry B (Sudarmadji dkk., 1984).

Reagen Lowry B dibuat dengan melarutkan folin 2N 5ml dalam akuades steril 45 ml.



Lampiran 02. Pembuatan Larutan Fruktosa Standar(Sudarmadji dkk., 1984)

Larutan fruktosa dibuat dengan cara yaitu fruktosa 100 mg dilarutkan ke dalam akuades steril 100 ml kemudian dipanaskan sampai semua fruktosa terlarutkan. Larutan fruktosa standar dibuat melalui pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi (b/v) 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 dan 1.0 mg/ml, dengan cara sebagai berikut:

Tabel 04. Pembuatan larutan fruktosa standar dengan konsentrasi (b/v) yang berbeda

Tabung	Larutan Fruktosa (ml)	Akuades Steril (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 03. Pembuatan Kurva Larutan Fruktosa Standar

Tabel 05. Analisis regresi dan korelasi larutan fruktosa standar

X	Y	X ²	XY	Y ²
0.2	0.0809	0.04	0.0162	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	0.2550	0.1016
1.0	0.5686	1.00	0.5686	0.3233
$\Sigma X = 3.0$ X = 0.6	$\Sigma Y = 1.4753$ Y = 0.2951	$\Sigma X^2 = 2.20$	$\Sigma XY = 1.1011$	$\Sigma Y^2 = 0.5630$

Dimana:

X : Konsentrasi larutan fruktosa standar

Y : Absorbansi larutan fruktosa standar

n : Jumlah sampel larutan fruktosa standar

r : Koefisien korelasi

Persamaan Regresi Kurva Larutan Fruktosa Standar

$$Y = a + b X$$

$$b = \frac{(n \times \Sigma X Y) - (\Sigma X \times \Sigma Y)}{(n \times \Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} = \frac{(5 \times 1.1011) - (3.0 \times 1.4753)}{(5 \times 2.20) - (3.0)^2} = 0.5398$$

$$Y = a + b X$$

$$a = Y - b X = 0.2951 - (0.5398 \times 0.6) = -0.0288$$

∴ Persamaan regresinya adalah $Y = -0.0288 + 0.5398 X$

Koefisien Korelasi Kurva Larutan Fruktosa Standar

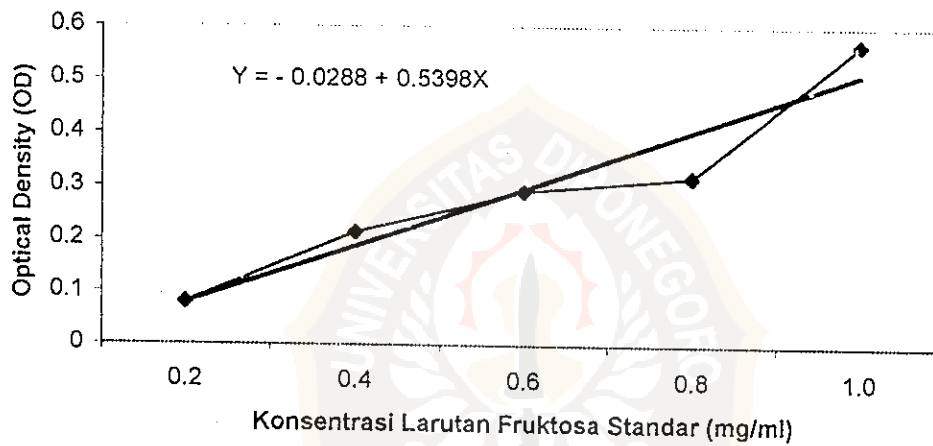
$$\delta X^2 = (n \times \sum X^2) - (\sum X)^2 = (5 \times 2.20) - (3.0)^2 = 2$$

$$\delta Y^2 = (n \times \sum Y^2) - (\sum Y)^2 = (5 \times 0.5630) - (1.4753)^2 = 0.6385$$

$$\delta XY = (n \times \sum XY) - (\sum X \times \sum Y) = (5 \times 1.1011) - (3.0 \times 1.4753) = 1.0796$$

$$r = \delta XY / (\delta X^2)^{1/2} \times (\delta Y^2)^{1/2} = 1.0796 / (2)^{1/2} \times (0.6385)^{1/2} = 0.955$$

∴ Koefisien korelasinya adalah $r = 0.955$



Gambar 09. Kurva larutan fruktosa standar

Lampiran 04. Pembuatan Larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) Standar (Sudarmadji dkk., 1984)

Larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) dengan konsentrasi 0.3 mg/ml dibuat dengan cara yaitu “Bovine Serum Albumin” (BSA) 0.3 mg dilarutkan ke dalam buffer sitrat pH 6.0; 0.01 M 100 ml yang sebelumnya telah didinginkan pada suhu 10 °C selama 24 jam. Larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) standar dibuat melalui pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi (b/v) 0.06; 0.12; 0.18; 0.24 dan 0.30 mg/ml, dengan cara sebagai berikut:

Tabel 06. Pembuatan larutan BSA standar dengan konsentrasi (b/v) yang berbeda

Tabung	Larutan BSA (ml)	Akuades Steril (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 05. Pembuatan Kurva Larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) Standar

Tabel 07. Analisis regresi dan korelasi larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) standar.

X	Y	X ²	XY	Y ²
0.06	0.0223	0.0036	0.0013	0.0005
0.12	0.0555	0.0144	0.0067	0.0031
0.18	0.0655	0.0324	0.0118	0.0043
0.24	0.0970	0.0576	0.0233	0.0094
0.30	0.1482	0.0900	0.0445	0.0220
$\Sigma X = 0.90$ $X = 0.18$	$\Sigma Y = 0.3885$ $Y = 0.0777$	$\Sigma X^2 = 0.1980$	$\Sigma XY = 0.0876$	$\Sigma Y^2 = 0.0393$

Dimana:

X : Konsentrasi larutan BSA standar

Y : Absorbansi larutan BSA standar

n : Jumlah sampel larutan BSA standar

r : Koefisien korelasi

Persamaan Regresi Kurva Larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) Standar

$$Y = a + b X$$

$$b = \frac{(n \times \Sigma X Y) - (\Sigma X \times \Sigma Y)}{(n \times \Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} = \frac{(5 \times 0.0876) - (0.9 \times 0.3885)}{(5 \times 0.1980) - (0.9)^2} = 0.4906$$

$$Y = a + b X$$

$$a = Y - b X = 0.0777 - (0.4906 \times 0.18) = - 0.0106$$

∴ Persamaan regresinya adalah $Y = - 0.0106 + 0.4906 X$

Koefisien Korelasi Kurva Larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) Standar

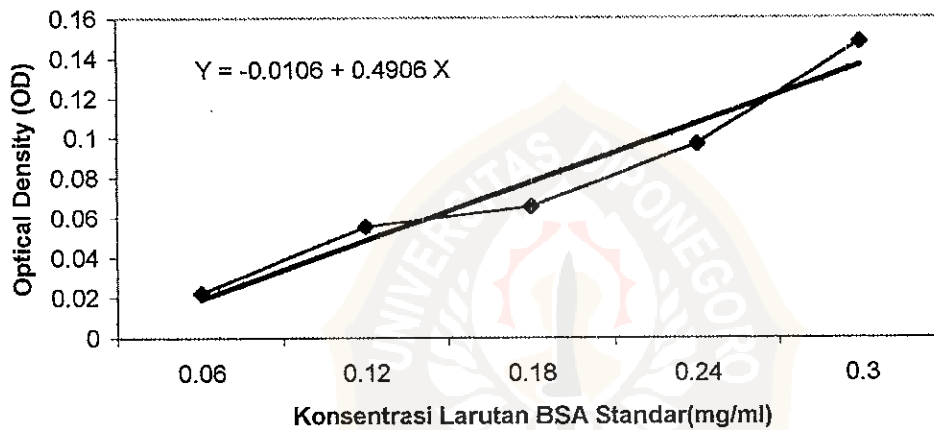
$$\delta X^2 = (n \times \sum X^2) - (\sum X)^2 = (5 \times 0.1980) - (0.9)^2 = 0.18$$

$$\delta Y^2 = (n \times \sum Y^2) - (\sum Y)^2 = (5 \times 0.0393) - (0.3885)^2 = 0.0456$$

$$\delta XY = (n \times \sum X Y) - (\sum X \times \sum Y) = (5 \times 0.0876) - (0.9 \times 0.3885) = 0.0883$$

$$r = \delta XY / (\delta X^2)^{1/2} \times (\delta Y^2)^{1/2} = 0.0883 / (0.18)^{1/2} \times (0.0456)^{1/2} = 0.975$$

∴ Koefisien korelasinya adalah $r = 0.975$



Gambar 10. Kurva larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) standar

Lampiran 06. Uji Aktivitas Inulinase Isolat Khamir YD.2 dari Rhizosfer Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) di Daerah Bandungan-Ambarawa

A. Aktivitas Inulinase

Tabel 08. Aktivitas inulinase isolat khamir YD.2 dari rhizosfer umbi dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) di Daerah Bandungan-Ambarawa setiap 6 jam selama 48 jam

Waktu Inkubasi (Jam)	"Optical Density" (OD)		Kadar Fruktosa (mg/ml)		$(X_s - X_k)$ ($\mu\text{g/ml}$)	Aktivitas Inulinase (U/ml substrat/menit)
	Y_s	Y_k	X_s	X_k		
0	0.0315	0.0030	0.1117	0.0589	52.8	0.23
6	0.2619	0.0453	0.5386	0.1372	401.4	1.78
12	0.3958	0.0590	0.7865	0.1627	623.8	2.77
18	1.6340	0.2430	3.0804	0.5035	2576.9	11.45
24	0.2514	0.0717	0.5191	0.1861	333	1.48
30	0.1982	0.0640	0.4206	0.1719	248.7	1.11
36	0.1920	0.0615	0.4091	0.1673	241.8	1.07
42	0.1883	0.0615	0.4021	0.1673	234.8	1.04
48	0.0850	0.0075	0.2109	0.0673	143.6	0.64

$$Y = -0.0288 + 0.5398 X$$

$$\text{Aktivitas enzim} = P (X_s - X_k) / (\text{BM Fruktosa} \times 10)$$

B. Kadar Protein

Tabel 09. Kadar Protein isolat khamir YD.2 dari rhizosfer umbi dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) di Daerah Bandungan-Ambarawa setiap 6 jam selama 48 jam

Waktu Inkubasi (Jam)	"Optical Density" (OD)	Kadar Protein (mg/ml)
0	1.4380	2.95
6	1.1097	2.28
12	1.3988	2.87
18	1.4446	2.97
24	0.9489	1.96
30	0.6578	1.24
36	0.5438	1.13
42	0.5064	1.05
48	1.0361	2.13

$$Y = -0.0106 + 0.4906 X$$

C. Aktivitas Spesifik Inulinase

Tabel 10. Aktivitas spesifik inulinase isolat khamir YD.2 dari rhizosfer umbi dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) di Daerah Bandungan-Ambarawa setiap 6 jam selama 48 jam

Waktu Inkubasi (Jam)	Aktivitas Spesifik Inulinase (Unit/mg protein)
0	0,08
6	0,78
12	0,97
18	3,86
24	0,76
30	0,90
36	0,95
42	0,99
48	0,30

Aktivitas spesifik enzim = Aktivitas enzim / mg protein

D. Berat Kering Sel

Tabel 11. Berat kering sel isolat khamir YD.2 dari rhizosfer umbi dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) di Daerah Bandungan-Ambarawa setiap 6 jam selama 48 jam

Waktu Inkubasi (Jam)	Berat Kering Sel ($\times 10^{-3}$ g/ml)
0	0,2
6	0,4
12	0,7
18	2,9
24	0,1
30	0,3
36	0,3
42	0,1
48	0,1

Lampiran 07. Rancangan Acak Lengkap (RAL) Satu Faktor untuk Uji Aktivitas Inulinase Isolat Khamir YD.2 dari Rhizosfer Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) di Daerah Bandungan-Ambarawa

A. Aktivitas Inulinase

Tabel 12. Data aktivitas inulinase (U / ml substrat / menit)

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									Total
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	
1	0.23	1.78	2.77	11.45	1.48	1.11	1.07	1.04	0.64	21.57
2	0.21	1.72	2.69	11.45	1.46	1.07	1.03	0.97	0.49	21.09
3	0.25	1.84	2.85	11.45	1.50	1.15	1.11	1.11	0.79	22.05
Total	0.69	5.34	8.31	34.35	4.44	3.33	3.21	3.12	1.92	64.21
Rata-rata	0.23	1.78	2.77	11.45	1.48	1.11	1.07	1.04	0.64	21.57

Keterangan :

a = jumlah perlakuan = 9

n = jumlah ulangan = 3

Tabel 13. Transformasi $\sqrt{Y + 0.5}$ untuk aktivitas inulinase (U / ml substrat / menit)

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									Total
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	
1	0.85	1.51	1.81	3.46	1.41	1.27	1.25	1.24	1.07	13.87
2	0.84	1.49	1.79	3.46	1.40	1.25	1.24	1.21	1.00	13.68
3	0.86	1.53	1.83	3.46	1.41	1.28	1.27	1.27	1.14	14.05
Total	2.55	4.53	5.43	10.38	4.22	3.80	3.76	3.72	3.21	41.60
Rata-rata	0.85	1.51	1.81	3.46	1.41	1.27	1.25	1.24	1.07	13.87

Analisis of variansi (Anova)

$$FK = Y_{..}^2 / a.n = (41.60)^2 / 9 \times 3 = 64.10$$

$$JKT = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FK$$

$$= [(0.85)^2 + (0.84)^2 + (0.86)^2 + (1.51)^2 + \dots + (1.14)^2] - 64.10$$

$$= 14.11$$

$$KTT = JKT / (an-1) = 14.11 / (9 \times 3) - 1 = 0.54$$

$$JKP = \sum_{i=1}^a Y_i^2 / n - FK$$

$$= [(2.55)^2 + (4.53)^2 + (5.43)^2 + \dots + (3.21)^2] / 3 - 64.10$$

$$= 11.10$$

$$KTP = JKP / a - 1 = 11.10 / 9 - 1 = 1.39$$

$$JKG = JKT - JKP = 14.11 - 11.10 = 3.01$$

$$KTG = JKG / a (n-1) = 3.01 / 9 (3-1) = 0.17$$

Tabel 14. Anova aktivitas inulinase pada taraf signifikan 1 %

Sumber Variansi	db	JK	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	8	11.10	1.39	8.18**	3.71
Galat	18	3.01	0.17		
Total	26	14.11	0.54		

Keterangan :

** Menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = (KTG)^{1/2} / \text{Rataan Umum} \times 100 \%$$

$$\text{Rataan Umum} = \text{Jumlah Total} / a.n = 41.60 / 9.3 = 1.54$$

$$KK = (0.17)^{1/2} / 1.54 \times 10^{-2} \times 100 \%$$

$$= 26.77 \%$$

Uji Jarak Ganda Duncan (UJGD) pada Taraf Signifikan 1%

$$R_p = (r_{p(u,v)} (s_d) / (2))^{1/2}$$

Keterangan:

R_p = Beda baku rata-rata hasil perlakuan

$r_{p(u,v)}$ = Nilai baku r pada taraf signifikan α , jumlah perlakuan p dan derajat bebas galat v

s_d = Galat baku rerata umum

s_d = $(2 KTG / n)^{1/2} = (2 \times 0.17 / 3)^{1/2} = 0.34$

Tabel 15. Beda baku aktivitas inulinase pada taraf signifikan 1 %

	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
$r_{p(n.v)}$	4.07	4.27	4.38	4.46	4.53	4.59	4.64	4.68
R_p	1.3838	1.4518	1.4892	1.5164	1.5402	1.5606	1.5776	1.5912

Tabel 16. Beda riil aktivitas inulinase pada taraf signifikan 1 %

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata Aktivitas Inulinase (U/ml substrat/menit)	Beda dengan							
		1	2	3	4	5	6	7	8
18	3.46	-							
12	1.81	1.65**	-						
6	1.51	1.95**	0.30	-					
24	1.41	2.05**	0.40	0.10	-				
30	1.27	2.19**	0.54	0.24	0.14	-			
36	1.25	2.21**	0.56	0.26	0.16	0.02	-		
42	1.24	2.22**	0.57	0.27	0.17	0.03	0.01	-	
48	1.07	2.39**	0.74	0.44	0.34	0.20	0.18	0.17	-
0	0.85	2.61**	0.96	0.66	0.56	0.42	0.40	0.39	0.22

Keterangan :

** Menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

Tabel 17. Bagan huruf uji jarak ganda duncan (UJGD) untuk aktivitas inulinase pada taraf signifikan 1 %

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata Aktivitas Inulinase (U/ml substrat / menit)
0	0.23 ^b
6	1.78 ^b
12	2.77 ^b
18	11.45 ^a
24	1.48 ^b
30	1.11 ^b
36	1.07 ^b
42	1.04 ^b
48	0.64 ^b

Keterangan:

Angka dengan superskrip huruf yang sama di kolom yang sama menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat tidak nyata pada taraf signifikan 1 %

B. Kadar Protein

Tabel 18. Data Kadar Protein (mg/ml)

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									Total
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	
1	2.95	2.28	2.87	2.97	1.96	1.24	1.13	1.05	2.13	18.58
2	2.95	2.22	2.79	2.95	1.89	1.20	0.98	1.01	2.11	18.10
3	2.95	2.34	2.95	2.99	2.03	1.28	1.28	1.09	2.15	19.06
Total	8.85	6.84	8.61	8.01	5.88	3.72	3.39	3.15	6.39	55.74
Rata-rata	2.95	2.28	2.87	2.97	1.96	1.24	1.13	1.05	2.13	18.58

Keterangan :

a = jumlah perlakuan = 9

n = jumlah ulangan = 3

Tabel 19. Transformasi $\sqrt{Y + 0.5}$ untuk Kadar Protein

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									Total
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	
1	1.86	1.67	1.84	1.86	1.57	1.32	1.28	1.24	1.62	14.26
2	1.86	1.65	1.81	1.86	1.55	1.30	1.22	1.23	1.62	14.10
3	1.86	1.69	1.86	1.87	1.59	1.33	1.33	1.26	1.63	14.42
Total	5.58	5.01	5.51	5.39	4.71	3.95	3.83	4.73	4.87	42.78
Rata-rata	1.86	1.67	1.84	1.86	1.57	1.32	1.28	1.24	1.62	14.26

Analisis of variansi (Anova)

$$FK = Y..^2 / a.n = 42.78^2 / 9 \times 3 = 67.78$$

$$JKT = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FK$$

$$= [(1.86)^2 + (1.86)^2 + (1.86)^2 + (1.67)^2 + \dots + (1.63)^2] - 67.78$$

$$= 1.46$$

$$KTT = JKT / (an-1) = 1.46 / (9 \times 3) - 1 = 0.06$$

$$JKP = \sum_{i=1}^a Y_i^2 / n - FK$$

$$= [(5.58)^2 + (5.01)^2 + (5.51)^2 + \dots + (4.87)^2] / 3 - 67.78$$

$$= 1.43$$

$$KTP = JKP / a - 1 = 1.43 / 9 - 1 = 0.18$$

$$JKG = JKT - JKP = 1.46 - 1.43 = 0.03$$

$$KTG = JKG / a (n-1) = 0.03 / 9 (3-1) = 0.002$$

Tabel 20. Anova kadar protein pada taraf signifikan 1 %

Sumber Variansi	db	JK	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	8	1.43	0.18	90**	3.71
Galat	18	0.03	0.002		
Total	26	1.46	0.06		

Keterangan :

** Menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = (KTG)^{1/2} / Rataan Umum \times 100 \%$$

$$Rataan Umum = Jumlah Total / a.n = 42.78 / 9.3 = 1.58$$

$$KK = (0.002)^{1/2} / 1.58 \times 100 \%$$

$$= 2.83 \%$$

Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada Taraf Signifikan 1%

$$\omega_u = Q_{\alpha(p,v)} \times S_y$$

Keterangan:

ω_u = Beda baku rata-rata hasil perlakuan

$Q_{\alpha(p,v)}$ = Nilai baku Q pada taraf signifikan α , jumlah perlakuan p dan derajat bebas galat v

S_y = Galat baku rerata umum

S_y = $(KTG / n)^{1/2} = (0.002 / 3)^{1/2} = 0.03$

Tabel 21. Beda baku kadar protein pada taraf signifikan 1 %

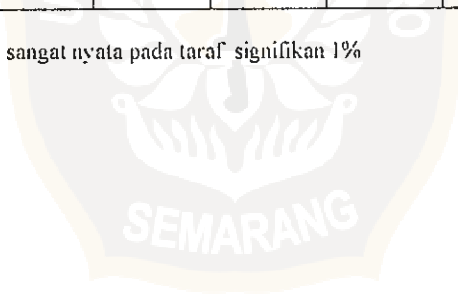
	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
$Q_{(n.v.1\%)}$	4.07	4.70	5.09	5.38	5.60	5.79	5.94	6.08
$\alpha_{1\%}$	0.1221	0.1410	0.1527	0.1614	0.1680	0.1737	0.1782	0.1824

Tabel 22. Beda riil kadar protein pada taraf signifikan 1 %

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata kadar protein (mg/ml)	Beda dengan							
		1	2	3	4	5	6	7	8
18	1.86	-							
0	1.86	0.00	-						
12	1.84	0.02	0.02	-					
6	1.67	0.19**	0.19**	0.17**	-				
48	1.62	0.24**	0.24**	0.22**	0.05	-			
24	1.57	0.29	0.29**	0.27**	0.10	0.05	-		
30	1.32	0.54**	0.54**	0.52**	0.35**	0.30**	0.25**	-	
36	1.28	0.58**	0.58**	0.56**	0.39**	0.34**	0.29**	0.04	-
42	1.24	0.62**	0.62**	0.60**	0.43**	0.38**	0.33**	0.08	0.04

Keterangan :

** Menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%



Tabel 23. Bagan huruf uji beda nyata jujur (BNJ) untuk kadar protein pada taraf signifikan 1 %

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata Kadar Protein (mg / ml)
0	2.95 ^a
6	2.28 ^b
12	2.87 ^a
18	2.97 ^a
24	1.96 ^b
30	1.24 ^c
36	1.13 ^c
42	1.05 ^c
48	2.13 ^b

Keterangan:

Angka dengan superskrip huruf yang sama di kolom yang sama menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat tidak nyata pada taraf signifikan 1 %

C. Aktivitas Spesifik Inulinase

Tabel 24. Data aktivitas spesifik inulinase (U / mg protein)

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									Total
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	
1	0.08	0.78	0.97	3.86	0.76	0.90	0.95	0.99	0.30	9.59
2	0.04	0.72	0.89	3.86	0.74	0.86	0.91	0.92	0.15	9.09
3	0.12	0.84	1.05	3.86	0.78	0.94	0.99	1.06	0.45	11.09
Total	0.24	2.34	2.91	11.58	2.28	2.70	2.85	2.97	0.90	29.77
Rata-rata	0.08	0.78	0.97	3.86	0.76	0.90	0.95	0.99	0.30	9.59

Keterangan :

a = jumlah perlakuan = 9

n = jumlah ulangan = 3

Tabel 25. Transformasi $\sqrt{Y + 0.5}$
untuk aktivitas spesifik inulinase (U / mg protein)

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									Total
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	
1	0.76	1.13	1.21	2.09	1.12	1.18	1.20	1.22	0.89	10.80
2	0.73	1.10	1.18	2.09	1.11	1.17	1.19	1.19	0.81	10.57
3	0.79	1.16	1.24	2.09	1.13	1.20	1.22	1.25	0.97	11.05
Total	2.28	3.39	3.63	6.27	3.36	3.55	3.61	3.66	2.67	32.42
Rata-rata	0.76	1.13	1.21	2.09	1.12	1.18	1.20	1.22	0.89	10.80

Analisis of variansi (Anova)

$$FK = Y_{..}^2 / a.n = (32.42)^2 / 9 \times 3 = 38.93$$

$$JKT = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FK$$

$$= [(0.76)^2 + (0.73)^2 + (0.79)^2 + (1.13)^2 + \dots + (0.97)^2] - 38.93$$

$$= 4.34$$

$$KTT = JKT / (an-1) = 4.34 / (9 \times 3) - 1 = 0.17$$

$$JKP = \sum_{i=1}^a Y_i^2 / n - FK$$

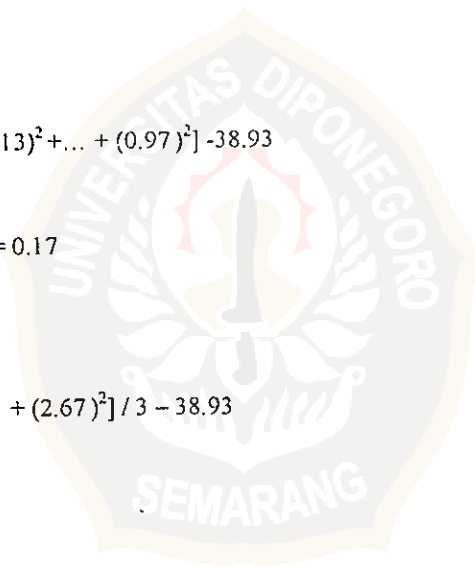
$$= [(2.28)^2 + (3.39)^2 + (3.63)^2 + \dots + (2.67)^2] / 3 - 38.93$$

$$= 3.28$$

$$KTP = JKP / a-1 = 3.28 / 9-1 = 0.41$$

$$JKG = JKT - JKP = 4.34 - 3.28 = 1.06$$

$$KTG = JKG / a(n-1) = 1.06 / 9(3-1) = 0.06$$



Tabel 26. Anova aktivitas spesifik inulinase pada taraf signifikan 1 %

Sumber Variansi	db	JK	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	8	3.28	0.41	6.83**	3.71
Galat	18	1.06	0.06		
Total	26	4.34	0.17		

Keterangan :

** Menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = (KTG)^{1/2} / \text{Rataan Umum} \times 100 \%$$

$$\text{Rataan Umum} = \text{Jumlah Total} / a.n = 32.42 / 9.3 = 1.20$$

$$KK = (0.06)^{1/2} / 1.20 \times 100 \%$$

$$= 20.41 \%$$

Uji Jarak Ganda Duncan (UJGD) pada Taraf Signifikan 1%

$$R_p = (r_{p(\alpha, v)} (s_d) / (2))^{1/2}$$

Keterangan:

 R_p = Beda baku rata-rata hasil perlakuan $r_{p(\alpha, v)}$ = Nilai baku r pada taraf signifikan α , jumlah perlakuan p dan derajat bebas galat v s_d = Galat baku rerata umum $s_d = (2 KTG / n)^{1/2} = (2 \times 0.06 / 3)^{1/2} = 0.20$

Tabel 27. Beda baku aktivitas spesifik inulinase pada taraf signifikan 1 %

	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
$r_{p(\alpha, v)}$	4.07	4.27	4.38	4.46	4.53	4.59	4.64	4.68
R_p	0.8140	0.8540	0.8760	0.8920	0.9060	0.9180	0.9280	0.9360

Tabel 28. Beda riil aktivitas spesifik inulinase pada taraf signifikan 1 %

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata Aktivitas Spesifik Inulinase (U/mg protein)	Beda dengan							
		1	2	3	4	5	6	7	8
18	2.09	-							
42	1.22	0.87**	-						
12	1.21	0.88**	0.01	-					
36	1.20	0.89**	0.02	0.01	-				
30	1.18	0.91**	0.04	0.03	0.02	-			
6	1.13	0.96**	0.09	0.08	0.07	0.05	-		
24	1.12	0.97**	0.10	0.09	0.08	0.06	0.01	-	
48	0.89	1.20**	0.33	0.32	0.31	0.29	0.24	0.23	-
0	0.76	1.33**	0.46	0.45	0.44	0.42	0.37	0.36	0.13

Keterangan :

** Menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1%

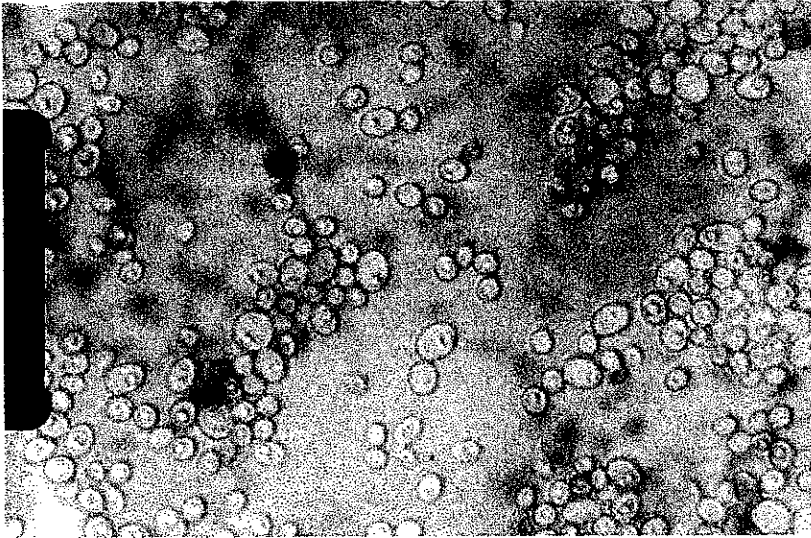
Tabel 29. Bagan huruf uji jarak ganda Duncan (UJGD) untuk aktivitas spesifik inulinase pada taraf signifikan 1 %

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata Aktivitas Inulinase (U / ml substrat / menit)
0	0.08 ^b
6	0.78 ^b
12	0.97 ^b
18	3.86 ^a
24	0.76 ^b
30	0.90 ^b
36	0.95 ^b
42	0.99 ^b
48	0.30 ^b

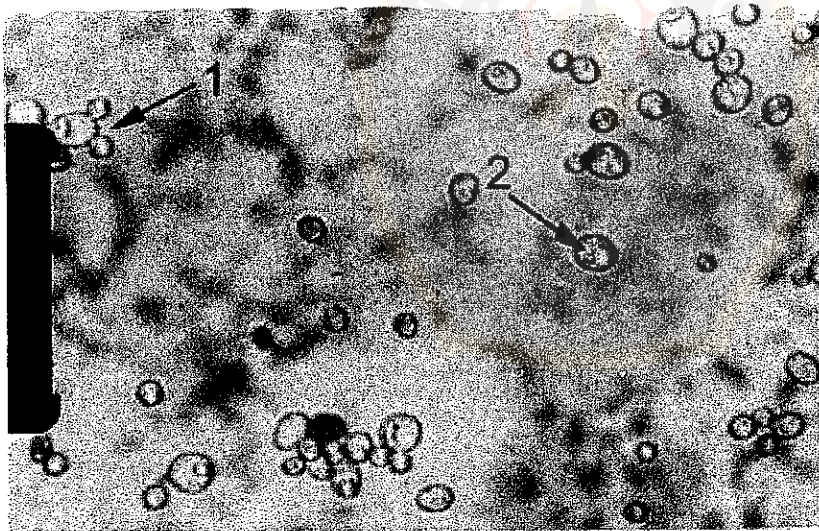
Keterangan:

Angka dengan superskrip huruf yang sama di kolom yang sama menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda sangat tidak nyata pada taraf signifikan 1 %

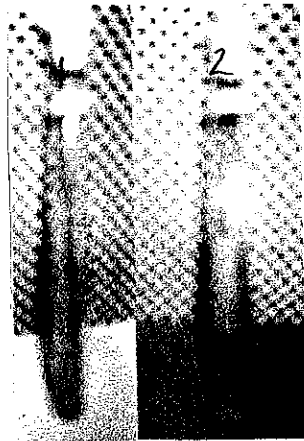
Lampiran 07. Foto-foto Penelitian



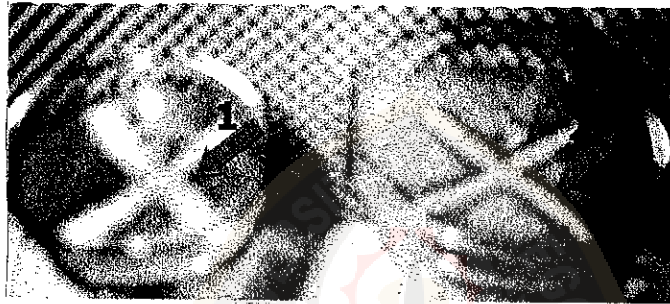
Gambar 11. Sel vegetatif isolat khamir YD.2 umur 2 hari pada medium YMA dengan perbesaran mikroskop 400 x.



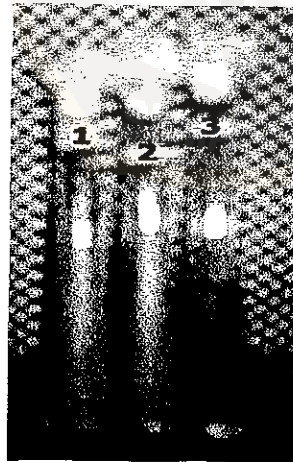
Gambar 12. "Budding" (1) dan Askospora (2) pada medium "Gorodkova's Agar" isolat khamir YD.2 umur 2 hari dengan perbesaran mikroskop 400 x.



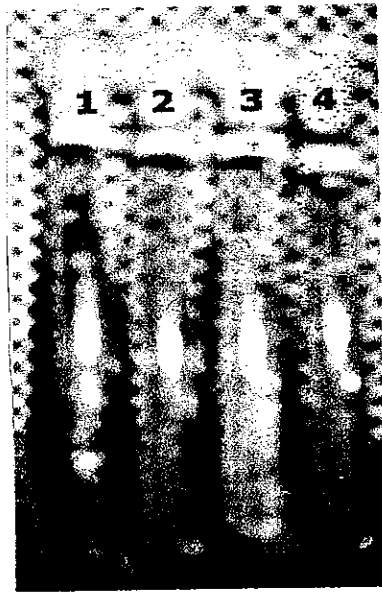
Gambar 13. Perubahan warna medium menjadi merah jambu pada uji aktivitas urease (1) dan dihasilkannya gas di dalam tabung durham pada uji fermentasi senyawa karbon (2) isolat khamir YD.2.



Gambar 14. Dihasilkannya zona jernih pada uji aktivitas lipolitik (1) dan uji produksi Asam (2) isolat khamir YD.2.



Gambar 15. Pertumbuhan isolat hamir YD.2 pada medium PDA(1), YMA (2) dan YMB (3)



Gambar 16. Pertumbuhan isolat khamir YD.2 pada medium miring "Glucose Agar" 50% (1), "Urea Agar" (2), "Gorodkova's Agar" (3) dan YMA(37°C) (4)



Gambar 17. Hasil larutan dalam penentuan aktivitas inulinase, yaitu larutan standar untuk: uji kadar protein (1), kontrol uji aktivitas inulinase (3), dan sampel uji aktivitas inulinase (5); larutan uji untuk: kadar protein (2), kontrol uji aktivitas inulinase (4), dan sampel uji aktivitas inulinase (6); medium produksi inulinase steril (7) dan medium ekstraksi inulinase (8).