

Lampiran 01. Data hasil pengukuran pertumbuhan isolat bakteri .

Tabel 03. Data pengukuran pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus sp1*

No.	Perlakuan	<i>Bacillus sp</i>	
		T	Absorbansi
1.	T1	80	0.0969
2.	T2	52	0.2840
3.	T3	39	0.4089
4.	T4	51.5	0.2882
5.	T5	53	0.2757
6.	T6	54	0.2676

Tabel 04. Data pengukuran pertumbuhan isolat bakteri *Pseudomonas sp*

No.	Perlakuan	<i>Pseudomonas sp</i>	
		T	Absorbansi
1.	T1	92	0.0362
2.	T2	62	0.2076
3.	T3	58	0.2366
4.	T4	66	0.1805
5.	T5	68	0.1675
6.	T6	70	0.1549

Lampiran 02. Data aktivitas enzim selulase .

Tabel 05. Data aktivitas enzim selulase (unit/ml filtrat/menit)

Perlakuan	Ulangan				Jumlah
	1	2	3	4	
T1I1	0,1473	0,1473	0,1481	0,1488	0,5915
T2I1	1,0526	3,4819	2,5173	1,8477	8,8995
T3I1	6,7242	5,9748	5,5617	6,8819	25,1427
T4I1	4,6625	3,7735	4,6625	2,4729	15,5714
T5I1	1,9948	1,7008	0,9915	0,3342	5,0213
T6I1	1,1535	1,3073	1,5001	0,9804	4,9413
T1I2	0,1503	0,1504	0,1504	0,1496	0,6007
T2I2	2,1446	2,4905	2,1905	2,1673	8,9929
T3I2	3,4641	3,6192	3,5201	3,5989	14,2023
T4I2	2,2508	3,4252	2,8789	4,8715	13,4264
T5I2	1,2009	1,1733	1,4505	1,2649	5,0896
T6I2	1,1535	1,1666	1,1535	1,1600	4,6336

Jumlah perlakuannya terlihat pada tabel berikut ini (diringkas dari tabel di atas).

Waktu inkubasi	Isolat Bakteri		Jumlah
	I1	I2	
T1	0,5915	0,6007	1,1922
T2	8,8995	8,9929	17,8924
T3	25,1427	14,2023	36,3450
T4	15,5714	13,4264	28,9978
T5	5,0213	5,0896	10,1109
T6	4,9413	4,6336	9,5749
Jumlah	60,1667	46,9455	107,1132

Lampiran 03. Perhitungan analisis sidik ragam aktivitas enzim selulase.

Tabel 06. Hasil analisis sidik ragam pengaruh waktu inkubasi dan jenis isolat bakteri terhadap aktivitas enzim selulase

SUMBER RAGAM	DB	JK	KT	Uji F	
				F Hit.	F Tabel 1 %
Perlakuan	11	139,5706	12,6882	34,4320**	2,72
◆ Waktu inkubasi	5	95,6367	19,1273	51,9058**	3,35
◆ Isolat Bakteri	1	3,6422	3,6422	9,8839**	7,39
◆ W x I	5	40,2917	8,0583	21,8678**	3,35
Galat	36	13,2676	0,3685		
J u m l a h	23	109,4877			

*Keterangan : ** F hitung lebih besar dari F tabel 1 % sehingga menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata*

$$\text{DB Total} = 48 - 1$$

$$= 47$$

$$\text{DB Perlakuan} = 12 - 1$$

$$= 11$$

$$\text{DB Waktu} = 6 - 1$$

$$= 5$$

$$\text{DB Isolat} = 2 - 1$$

$$= 1$$

$$\text{DB W x I} = 5$$

$$\text{DB Galat} = \text{DB Total} - \text{DB Perlakuan}$$

$$= 36$$

$$\text{FK} = \frac{(0,1473 + \dots + 1,1600)^2}{48}$$

$$= 239,0258$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total} &= (0,1473^2 + \dots + 1,1600^2) - \text{FK} \\
 &= 391,8640 - 239,0258 \\
 &= 152,8382
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(0,5915^2 + \dots + 4,6336^2) - \text{FK}}{4} \\
 &= \frac{378,5964 - 239,0258}{4} \\
 &= 139,5706
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 152,8382 - 139,5706 \\
 &= 13,2676
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Waktu} &= \frac{(\sum W_i)^2}{n \cdot S} - \text{FK} \\
 &= \frac{(60,1677)^2 + (46,9455)^2}{4 \cdot 6} - 239,0258 \\
 &= 3,6422
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Isolat} &= \frac{(\sum I_i)^2}{n \cdot S} - \text{FK} \\
 &= \frac{(1,1992^2 + \dots + 9,5749^2)}{2 \cdot 3} - 239,0258 \\
 &= 95,6367
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK W x I} &= \text{JKP} - \text{JKW} - \text{JKI} \\
 &= 139,5706 - 3,6422 - 95,6367 \\
 &= 40,2917
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{DB Perlakuan}} \\
 &= 12,69
 \end{aligned}$$

$$\text{KT Waktu} = \frac{\text{JK Waktu}}{\text{DB Waktu}}$$

$$= 19,13$$

$$\text{KT Isolat} = \frac{\text{JK Isolat}}{\text{DB Isolat}}$$

$$= 3,64$$

$$\text{KT W x I} = \frac{\text{JK W x I}}{\text{DB W x I}}$$

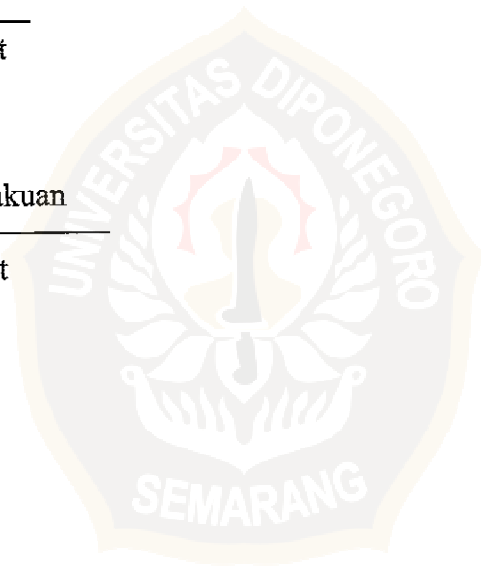
$$= 8,05$$

$$\text{KT Galat} = \frac{\text{JK Galat}}{\text{DB Galat}}$$

$$= 0,37$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}}$$

$$= 34,29$$



Lampiran 04. Perhitungan uji BNT terhadap rata-rata aktivitas enzim selulase .

Uji lanjutan dengan uji BNT 1 % :

$$\begin{aligned} \text{BNT (0,05)} &= T_{\text{tabel}}^{(0,01/2)} (36) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTG}}{n}} \\ &= 2,704 \times \sqrt{\frac{2 \cdot 0,3685}{4}} \\ &= 1,1607 \end{aligned}$$

Selisih rerata tiap perlakuan interaksi antara waktu inkubasi dan jenis isolat :

Perlakuan	Rerata																		
T1I1	0,1479	T1I1																	
T1I2	0,1502	0,0023	T1I2																
T6I2	1,1584	1,0105	1,0082	T6I2															
T6I1	1,2353	1,0874	1,0851	0,0769	T6I1														
T5I1	1,2553	1,1074	1,1051	0,0969	0,0200	T5I1													
T5I2	1,2724	1,1245	1,1222	0,1140	0,0371	0,01771	T5I2												
T2I1	2,2249	2,0770**	2,0747**	1,0665	0,9896	0,9696	0,9525	T2I1											
T2I2	2,2482	2,1003**	2,0980**	1,0898	1,0129**	0,9929	0,9758	0,0233	T2I2										
T4I2	3,3366	3,1887**	3,1864**	2,1782**	2,1013**	2,0813**	2,0642**	1,1117	1,0884**	T4I2									
T3I2	3,5058	3,3579**	3,1556**	2,3474**	2,1155**	2,2505**	2,2334**	1,2809**	1,2576**	0,1692	T3I2								
T4I1	3,8925	3,7446**	3,7423**	2,7341**	2,6572**	2,6372**	2,6204**	1,6676**	1,6443**	0,5539	0,3867	T4I1							
T3I1	6,2857	6,1378**	6,1355**	5,1273**	5,0504**	5,0304**	5,0133**	4,0608**	4,0375**	2,9491**	2,3932**	2,3932**							

Keterangan : * * berbeda sangat nyata pada taraf uji 1 % dengan uji BNT

Selisih rerata tiap perlakuan waktu inkubasi:

Perlakuan	Rerata																		
T ₁	0,1491	T ₁																	
T ₂	1,1969	1,0478	T ₆																
T ₅	1,2639	1,1148	0,0670	T ₅															
T ₂	2,2366	2,0875**	1,0397	0,9727	T ₂														
T ₄	3,6245	3,4754**	2,4276**	2,4606**	1,3879**	T ₄													
T ₃	4,8958	4,7457**	3,6989**	3,6319**	2,6592**	1,2713**													

Keterangan : * * berbeda sangat nyata pada taraf uji 1 % dengan uji BNT

Selisih rerata tiap perlakuan jenis isolat bakteri:

Perlakuan	Rerata																		
I ₁	2,5069	T ₁																	
I ₂	1,9486	0,5583	T ₂																

Keterangan : * * berbeda sangat nyata pada taraf uji 1 % dengan uji BNT

Lampiran 05. Pembuatan kurva standar glukosa

Tabel 07. Data absorbansi larutan standart glukosa

No	Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi (OD)
1	0,2	0,0022
2	0,4	0,0033
3	0,6	0,0044
4	0,8	0,0055
5	1,0	0,0066

Misal : X = kandungan gula reduksi

Y = absorbansi

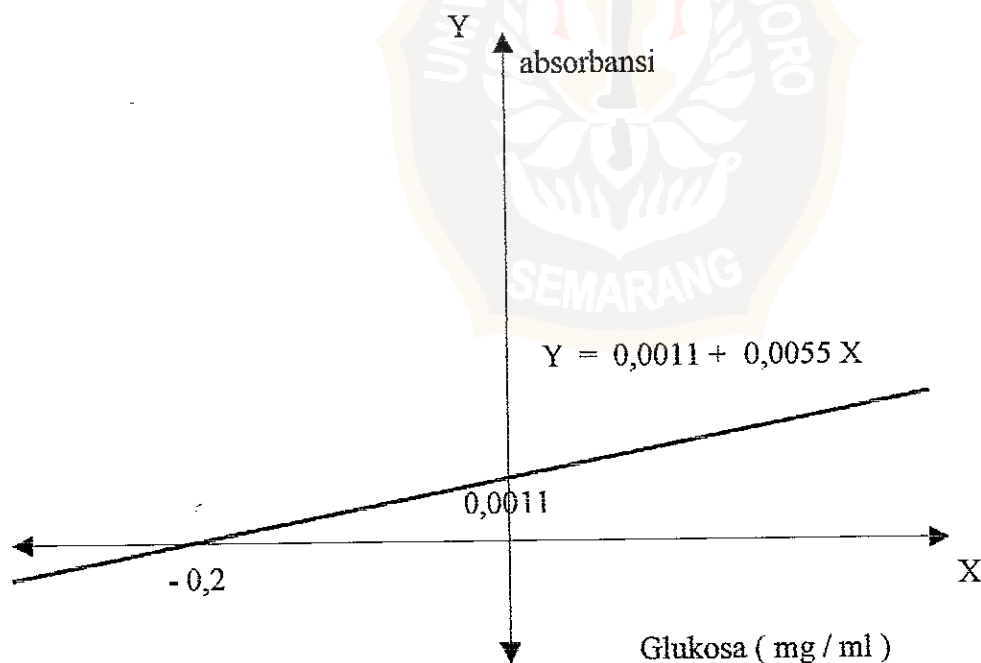
X	Y	X ²	XY
0.2	0.0022	0.04	0.00044
0.4	0.0033	0.16	0.00132
0.6	0.0044	0.36	0.00264
0.8	0.0055	0.64	0.00440
1.0	0.0066	1.00	0.00660
$\Sigma X = 3.0$	$\Sigma Y = 0.02$	$\Sigma X^2 = 2.20$	$\Sigma XY = 0.015$
X = 0.6	Y = 0.0044		

Persamaan Kurva $Y = a + bX$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2} \\
 &= \frac{5 \cdot 0,015 - 3 \cdot 0,02}{5 \cdot 2,2 - 3^2} \\
 &= 0,0055
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 Y &= a + bX \\
 a &= Y - bX \\
 &= 0,0044 - 0,0055 X \\
 &= 0,0011
 \end{aligned}$$

Persamaan Kurva Standar Glukosa $Y = 0,0011 + 0,0055 X$



Gambar 12. Kurva Standart Larutan Glukosa

Lampiran 06. Data absorbansi pengukuran gula reduksi

Tabel 08. Data absorbansi pengukuran gula reduksi

Perlakuan	Absorbansi							
	1		2		3		4	
	A	b	a	b	a	b	a	b
T1I1	0,0022	0,0044	0,0022	0,0044	0,0044	0,0066	0,0066	0,0088
T2I1	0,0044	0,0200	0,0088	0,0605	0,0132	0,0506	0,0088	0,0362
T3I1	0,0339	0,1337	0,0362	0,1249	0,0482	0,1308	0,0315	0,1337
T4I1	0,0223	0,0915	0,0223	0,0783	0,0223	0,0915	0,0339	0,0706
T5I1	0,0410	0,0706	0,0531	0,0783	0,0458	0,0605	0,0555	0,0605
T6I1	0,0434	0,0605	0,0386	0,0580	0,0458	0,0680	0,0410	0,0555
T1I2	0,0110	0,0132	0,0110	0,0132	0,0132	0,0155	0,0088	0,0110
T2I2	0,0044	0,0362	0,0088	0,0458	0,0132	0,0458	0,0088	0,0410
T3I2	0,0269	0,0783	0,0246	0,0783	0,0132	0,0655	0,0223	0,0757
T4I2	0,0246	0,0580	0,0223	0,0731	0,0177	0,0605	0,0246	0,0969
T5I2	0,0605	0,0783	0,0506	0,0680	0,0315	0,0531	0,0246	0,0434
T6I2	0,0434	0,0605	0,0482	0,0655	0,0434	0,0605	0,0458	0,0630

Keterangan :

1, 2, 3, 4 : ulangan

a : absorbansi pengukuran gula reduksi pada filtrat enzim tanpa diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 50°C setelah penambahan larutan CMC 1%.

b : absorbansi pengukuran gula reduksi pada filtrat enzim yang diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 50°C setelah penambahan larutan CMC 1 %.

Lampiran 07. Pembuatan kurva standar protein

Tabel 09. Data absorbansi larutan standart protein

No	Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi (OD)
1	0,06	0,10
2	0,12	0,23
3	0,18	0,32
4	0,24	0,43
5	0,30	0,52

Misal : X = kandungan gula reduksi

Y = absorpsi

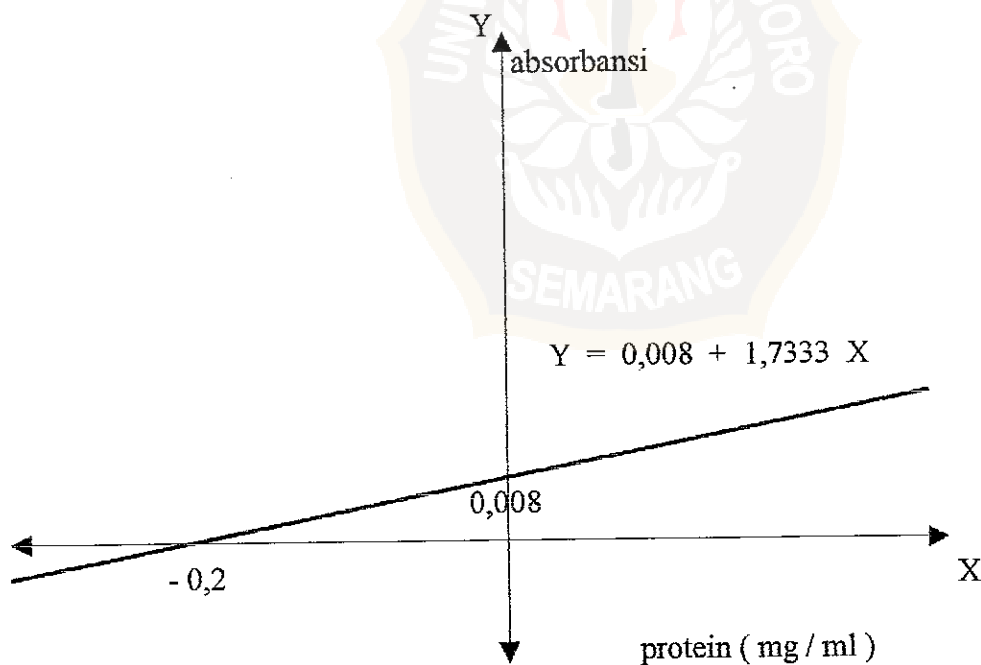
X	Y	X ²	XY
0.06	0.10	0.0036	0.0060
0.12	0.23	0.0144	0.0276
0.18	0.32	0.0324	0.0576
0.24	0.43	0.0576	0.1032
0.30	0.52	0.0900	0.1560
$\Sigma X = 0,9$	$\Sigma Y = 1,6$	$\Sigma X^2 = 0,1980$	$\Sigma XY = 0,3504$
X = 1,8	Y = 0,32		

Persamaan Kurva $Y = a + b X$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2} \\
 &= \frac{5 \cdot 0,3504 - 0,9 \cdot 1,6}{5 \cdot 0,1980 - (0,9)^2} \\
 &= 1,7333
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 Y &= a + b X \\
 a &= Y - b X \\
 &= 0,32 - 1,7333 X \\
 a &= 0,008
 \end{aligned}$$

Persamaan Kurva Standar Protein $Y = 0,008 + 1,7333 X$



Gambar 13. Kurva Standart Larutan Protein

Lampiran 08. Data pengukuran protein yang terkandung dalam enzim selulase

Tabel 10. Data pengukuran absorbansi protein terlarut yang terkandung dalam enzim selulase.

Periakuan	Absorbansi			
	1	2	3	4
T1I1	0,0132	0,0223	0,0177	0,0132
T2I1	0,0223	0,0410	0,0088	0,0458
T3I1	0,0731	0,0531	0,0655	0,0757
T4I1	0,0706	0,0630	0,0731	0,0731
T5I1	0,0315	0,0969	0,0315	0,0706
T6I1	0,0482	0,0531	0,0605	0,0630
T1I2	0.0132	0.0339	0.0177	0.0132
T2I2	0.0605	0.0757	0.0630	0.0386
T3I2	0.0706	0.0915	0.0783	0.0915
T4I2	0.0836	0.0706	0.0862	0.0809
T5I2	0.0410	0.0915	0.0970	0.0731
T6I2	0.0605	0.0680	0.0757	0.0630

Tabel 11. Data kandungan protein (mg/ml) yang terkandung dalam enzim selulase.

Perlakuan	Kandungan Protein (mg/ml)			
	1	2	3	4
T1I1	0.0764	0.1286	0.1023	0.0764
T2I1	0.1286	0.2363	0.0507	0.2640
T3I1	0.4220	0.3061	0.3779	0.4369
T4I1	0.4073	0.3634	0.4220	0.4220
T5I1	0.1819	0.5592	0.1819	0.4073
T6I1	0.2780	0.3061	0.3409	0.3634
T1I2	0.0764	0.1954	0.1023	0.0764
T2I2	0.3490	0.4369	0.3634	0.2226
T3I2	0.4073	0.5280	0.4519	0.5280
T4I2	0.4821	0.4073	0.4973	0.4669
T5I2	0.2363	0.5280	0.5592	0.4220
T6I2	0.3490	0.3926	0.4369	0.3634

Keterangan :

1, 2, 3, 4 : Ulangan

Lampiran 09. Data aktivitas spesifik enzim selulase.

Tabel 12. Data aktivitas spesifik enzim selulase (unit/mg protein)

Perlakuan	Aktivitas enzim (unit/ml filtrat/mnt)	Kandungan protein (mg / ml)	Aktivitas spesifik (unit/mg protein)
T1I1	0.1478	0.0959	1.5411
T2I1	2.2249	0.1699	13.0950
T3I1	6.2857	0.3858	16.2944
T4I1	3.8929	0.4037	9.6434
T5I1	1.2553	0.3325	3.7749
T6I1	1.2353	0.3241	3.8111
T1I2	0.1504	0.1126	1.3356
T2I2	2.2482	0.3430	6.5549
T3I2	3.5506	0.4788	7.4157
T4I2	3.3566	0.4634	7.2438
T5I2	1.2724	0.4364	2.9157
T6I2	1.1584	0.3855	3.0052

Lampiran 10. Pembuatan reagensia dan larutan penguji

10.1. Pembuatan Buffer Sitrat 0,5 M pH 4,8

Larutan I : 10,5 gr as.sitrat (BM 210) dilarutkan dalam 100 ml akuades.

Larutan II : 14,7 gr Na.sitrat (BM 294) dilarutkan dalam 100 ml akuades.

Buffer sitrat dibuat dengan mencampur 23 ml larutan I dengan 27 ml larutan II dan diencerkan hingga 100 ml.

10.2. Pembuatan Larutan CMC 1%

Carboxymethyl Cellulose sebanyak 1 gr dilarutkan dalam 80 ml air panas (80-90°C) sambil dikocok secara kontinyu. Selanjutnya ditambah 10 ml buffer sitrat dalam 1 ml Merthiolate 1% dan ditempatkan volumenya hingga 100 ml. Larutan disimpan dalam lemari pendingin dan dipanaskan 50°C sebelum dipakai.

10.3. Pembuatan Pereduksi DNS

Sebanyak 0,5 gram DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat) dan 75 gr garam Rochele dilarutkan dalam 50 ml larutan NaOH 2 N, ditambah 50 ml akuadest, dan diencerkan dengan akuadest sampai volume 250 ml.

10.4. Pembuatan Larutan Glukosa Standar

- Dibuat larutan glukosa dengan konsentrasi 1 mg/ml dengan cara melarutkan 100 mg glukosa ke dalam 100 ml akuades.
- Dilakukan pengenceran untuk mendapat konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mg/ml dengan cara :

Tabung	ml larutan Glukosa	ml akuades	ml glukosa/ml akuades
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

10.5. Reagen untuk Metode Lowry – Folin

- ◆ Pereaksi A : dilarutkan 10 gr Na_2CO_3 (anhidrat) ke dalam NaOH 0,5N hingga volume mencapai 100 ml.
- ◆ Pereaksi B : dilarutkan 1 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ke dalam akuades hingga volume mencapai 100 ml.
- ◆ Pereaksi C : dilarutkan 2 gr K/Na-Tartrat ke dalam akuades hingga mencapai volume 100 ml.
- ◆ Pereaksi D : campuran dari 15 ml pereaksi A, 0,75 ml pereaksi B dan 0,75 ml pereaksi C.
- ◆ Pereaksi E : diencerkan 5 ml pereaksi Foline-ciocalteu 2 N menjadi 50 ml

10.6. Larutan standar serum albumin 0,3 mg/ml

Larutkan 0,03 gr serum albumin dalam larutan buffer sitrat 0,01 M pH 6,0 yang telah didinginkan pada suhu $\pm 10^\circ\text{C}$ selama 24 jam hingga mencapai volume 100 ml.

Lampiran 11. Komposisi media Cellulolytic Agar with Sea Salts

Cellulolytic Agar with Sea Salts**Composition per liter :**

Agar	20.0 gr
NH ₄ Cl	2.0 gr
K ₂ HPO ₄	1.65 gr
Yeast Extract	1.2 gr
Cysteine.HCl. H ₂ O	0.5 gr
Cellulose suspension*	200.0 mL
Filtered sea water	200.0 mL
Mineral Solution**	150.0 mL
Resazurin (0.1 % solution)	1.0 mL

Cellulosa Suspension* :

Composition per 200.0 mL :

Cellulose Powder (CMC)	8.0 gr
------------------------	-------	--------

Mineral Solution :**

Composition per liter :

NaCl	6.0 gr
(NH ₄) ₂ SO ₄	6.0 gr
CaCl ₂	0.6 gr
MgSO ₄	0.6 gr

Lampiran 12. Peta Desa Kemujan, P. Karimunjawa

