

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental. Penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental adalah jenis penelitian yang bertujuan untuk menguji hubungan sebab-akibat antara variabel-variabel tertentu melalui manipulasi dan kontrol variabel bebas dalam kondisi yang terkontrol. Hanafiah (2020) menegaskan bahwa karakteristik utama penelitian eksperimental adalah adanya perlakuan (*treatment*), kelompok kontrol, pengacakan, dan kemampuan untuk mengendalikan variabel eksternal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Data yang diperoleh biasanya berbentuk angka dan dianalisis menggunakan metode statistik untuk memastikan validitas dan reliabilitas hasil penelitian.

3.2 Desain Penelitian

Dalam penelitian ini, digunakan suatu desain penelitian yang dikenal sebagai Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang dipilih karena kesesuaiannya dengan kondisi percobaan yang relatif homogen. Hanafiah (2020) menegaskan bahwa RAL cocok digunakan pada kondisi lingkungan yang relatif seragam, dengan jumlah perlakuan terbatas dan kondisi percobaan yang terkontrol dengan baik. Dalam RAL, setiap unit percobaan (misalnya, sampel) memiliki peluang yang sama untuk menerima perlakuan yang berbeda. Hal ini memungkinkan untuk mengukur pengaruh dari setiap perlakuan secara terpisah dan membandingkannya satu sama lain.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu pada penelitian ini dilaksanakan bulan Desember 2024 sampai April 2025 di Laboratorium Riset Bioteknologi Program Studi Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Pengambilan sampel sekam padi (*Oryza sativa* Linn.) dilakukan di Jl. Sariwangi Selatan no.37,38,39, Cibabat, Kec. Cimahi Utara, Kota Cimahi, Jawa Barat 40559 dan sampel Jamur *Aspergillus niger* dibeli di PT. Agritama Sinergi Inovasi (AGAVI).

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah isolat jamur selulolitik *Aspergillus niger* hasil isolasi dari biakan murni *Aspergillus niger*. Selain itu, sampel penelitian menggunakan enzim selulase yang dihasilkan dari jamur selulolitik *Aspergillus niger* yang didapatkan dari hasil isolasi biakan murni *Aspergillus niger*.

3.5 Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi inkubator, autoklaf, oven, *shaker*, spektrofotometer, *centrifuge*, *Laminar Air Flow* (LAF), tabung durham, timbangan analitik, *vortex*, hot plate, blender, mikroskop, lemari pendingin, saringan 100 mesh, pipet mikro, dan beberapa laboratorium mikrobiologi seperti erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung, *micro tube*, tip, ose, bunsen, mortar, dan tabung vial. Penjabaran alat yang digunakan tercantum dalam Lampiran 1.

2. Bahan

Dalam pelaksanaan penelitian ini, berbagai bahan digunakan untuk mendukung proses analisis dan pengujian. Beberapa di antaranya meliputi isolat jamur selulolitik *Aspergillus niger*, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Potato Dextrose Broth* (PDB), serta media *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) 1% dalam bentuk padat maupun cair. Selain itu, digunakan pula berbagai jenis media agar spesifik, seperti media agar pati, agar kasein, agar gelatin, agar lipid, agar fosfat, serta media fermentasi karbohidrat. Pewarna congo red 0,1%, larutan NaCl 1 M, reagen *Dinitrosalicylic Acid* (DNS), buffer sitrat fosfat 0,1 M, dan reagen biuret turut digunakan dalam tahap analisis. Bahan tambahan seperti larutan NaOH 0,6%, alumunium foil, kapas, plastik tahan panas, kertas label, dan plastik wrap juga dibutuhkan sebagai penunjang eksperimental. Daftar lengkap dan terperinci mengenai bahan-bahan tersebut disajikan pada Lampiran 1.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

a. Penentuan Lokasi Pengambilan Sekam Padi dan Jamur *Aspergillus niger*

Lokasi ditentukan yang merupakan tempat penggilingan padi yang selalu menghasilkan limbah berupa sekam padi di Jl. Sariwangi Selatan no.37,38,39, Cibabat, Kec. Cimahi Utara, Kota Cimahi, Jawa Barat 40559. Jamur *Aspergillus niger* didapatkan dari PT. Agritama Sinergi Inovasi (AGAVI) yang sudah disurvei sebelumnya.

b. Persiapan Alat dan Bahan

Semua alat serta bahan yang digunakan dalam penelitian disiapkan, diperiksa kondisi serta ketersediaannya dan keberfungsian. Setelah itu, alat dan bahan dibungkus menggunakan kertas yang dimasukkan ke dalam plastik tahan panas, yang selanjutnya dilakukan sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan waktu 15 menit.

c. Pembuatan Reagen dan Media

Langkah-langkah dalam pembuatan reagen dan media yang dipakai pada penelitian dijabarkan dalam Lampiran 2.

3.6.2 Isolasi Jamur pada Media

Sampel ditanam dalam media khusus untuk pembiakan jamur, yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA). Metode dalam proses isolasi menggunakan metode sebar cawan. Kultur kemudian diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu 37°C. Setelah jamur tumbuh, mereka dipindahkan ke media PDA miring untuk memperoleh isolat jamur murni dan kembali diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu 37°C (Kakkar dkk 2015).

3.6.3 Identifikasi Isolat Jamur Selulolitik

Melalui pengamatan mikroskopis, berbagai struktur jamur dapat diidentifikasi, seperti hifa, konidia, spora, dan struktur reproduksi lainnya. Karakteristik ini membantu dalam penentuan genus dan spesies jamur (Larone, 2011; St-Germain & Summerbell, 2011). Identifikasi jamur menggunakan metode apusan adalah teknik

yang umum digunakan dalam mikologi untuk mengamati karakteristik morfologi jamur secara mikroskopis. Metode ini melibatkan pembuatan preparat basah dari sampel jamur yang kemudian diperiksa di bawah mikroskop (Larone, 2011). Langkah-langkahnya meliputi pengambilan sampel, pembuatan preparate basah dengan cara slide biakan murni ke kaca preparat yang kemudian ditetesi dengan aquades, apusan difiksasi dengan melewati preparat keatas bunsen, kemudian dilakukan pengamatan dibawah mikroskop. Hasil identifikasi dihimpun pada tabel sesuai format pada Tabel 3.1. Untuk pengamatan makroskopis, isolat ditumbuhkan pada media PDA menggunakan 1 ose, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Parameter yang diamati meliputi bentuk koloni, tepi koloni, warna, dan permukaan.

Tabel 3.1 Format identifikasi isolat jamur selulolitik

Isolat	Koloni			Hifa	Spora Aseksual	Spora Konidia	Genus
	Warna	Tepi	Bentuk				

3.6.4 Uji Biokimia Isolat Jamur Selulolitik

1. Hidrolisis Pati

Uji hidrolisis pati adalah salah satu metode biokimia yang digunakan untuk mengevaluasi kemampuan isolat jamur selulolitik dalam mendegradasi pati. Dalam uji ini, medium yang mengandung pati akan diinokulasi dengan isolat jamur, kemudian diinkubasi untuk periode tertentu. Setelah inkubasi, medium tersebut diberi larutan iodine untuk mendeteksi keberadaan pati yang tersisa. Jamur yang mampu menghidrolisis pati akan menghasilkan zona bening di sekitar koloni jamur, menunjukkan bahwa pati telah didegradasi menjadi oligosakarida dan monosakarida oleh enzim amilase yang diproduksi oleh jamur tersebut (Goyal dkk., 2014).

Jamur dikultur pada media pati agar dengan pH netral (pH 7) dalam kondisi beku di cawan petri, selanjutnya diinkubasi dalam suhu 22-37°C selama 3-5 hari. Jika tela terlihat pertumbuhan, biakan ditetesi iodine atau lugol. Indikasi positif ditunjukkan pada munculnya zona bening pada sekitar koloni (Kusnadi, dkk 2016).

2. Hidrolisi Lipid

Uji hidrolisis lipid merupakan salah satu metode biokimia yang digunakan untuk mengevaluasi kemampuan isolat jamur selulolitik dalam memecah lemak atau lipid menjadi asam lemak dan gliserol (Gupta dkk., 2015).

Koloni jamur ditumbuhkan dalam media lipid dalam keadaan beku pada cawan petri, selanjutnya diinkubasi pada suhu 22-37°C dengan durasi waktu 3-5 hari. Indikasi hasil positif ditunjukkan oleh munculnya zona bening atau area terang di sekitar koloni jamur (Kusnadi, dkk 2016).

3. Hidrolisis Gelatin

Uji hidrolisis gelatin merupakan metode biokimia yang digunakan untuk menilai kemampuan isolat jamur selulolitik dalam memecah gelatin, sebuah protein yang diperoleh dari kolagen. Dalam uji ini, medium yang mengandung gelatin diinokulasi dengan isolat jamur dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Setelah masa inkubasi, medium tersebut diuji dengan metode pengendapan menggunakan larutan asam sulfat. Jika isolat jamur mampu menghidrolisis gelatin, maka tidak akan terbentuk endapan, menunjukkan bahwa gelatin telah didegradasi menjadi peptida dan asam amino oleh enzim protease yang dihasilkan oleh jamur (Kumar dkk., 2016).

Koloni jamur ditumbuhkan dalam media gelatin, selanjutnya diinkubasi dalam suhu 22-37°C dengan durasi waktu 3-5 hari. Diamkan jamur yang sudah ditumbuhkan pada media gelatin disimpan pada inkubator suhu 40°C selama 30 menit. Indikasi hasil positif ditunjukkan dengan media yang tetap mencair (Kusnadi dkk., 2016).

4. Uji Pelarut Fosfat

Uji pelarutan fosfat merupakan metode biokimia yang digunakan untuk mengevaluasi kemampuan isolat jamur selulolitik dalam melarutkan fosfat anorganik yang tidak larut, seperti trikalium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Dalam uji ini, isolat jamur diinokulasi pada medium Pikovskaya yang mengandung sumber fosfat anorganik yang tidak larut. Setelah masa inkubasi, kemampuan jamur untuk melarutkan fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni jamur pada medium. Zona bening ini menunjukkan bahwa jamur mampu melepaskan asam organik yang menurunkan pH

medium, sehingga memfasilitasi pelepasan ion fosfat dari senyawa yang tidak larut (Sharma dkk., 2013).

Koloni jamur ditanam pada media agar Pikovskaya yang sudah dibekukan di dalam cawan petri, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-5 hari (Pikovskaya, 1948). Indikator hasil yang positif dapat dilihat dari munculnya zona bening yang berada pada sekitar koloni jamur.

5. Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat adalah metode biokimia yang digunakan pada penilaian kemampuan isolat jamur selulolitik dalam memfermentasi berbagai jenis karbohidrat, seperti glukosa, laktosa, sukrosa, dan xilosa. Dalam uji ini, isolat jamur diinokulasi pada medium cair yang mengandung karbohidrat tertentu dan indikator pH, seperti bromothymol blue atau fenol merah. Setelah masa inkubasi, hasil fermentasi ditentukan berdasarkan perubahan warna medium akibat produksi asam sebagai hasil dari fermentasi karbohidrat. Perubahan warna menunjukkan bahwa jamur mampu memecah karbohidrat menjadi asam organik, seperti asam laktat atau asam asetat, yang menyebabkan penurunan pH medium (Gao dkk., 2018).

Koloni jamur ditumbuhkan dalam media glukosa serta xilosa, lalu diinkubasi dalam suhu 37°C dengan durasi waktu 3-5 hari. Indikasi hasil positif ditandai adanya perubahan warna serta terdapat gelembung pada tabung Durham (Kusnadi dkk., 2016).

Hasil dari uji biokimia dicantumkan ke dalam tabel dengan format yang sudah disediakan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Format uji aktivitas biokimia

No.	Aktivitas Biokimia	<i>Aspergillus niger</i>		
		1	2	3
1	Hidrolisis pati			
2	Hidrolisis lipid			
3	Hidrolisis gelatin			
4	Pelarut fosfat			
5	Fermentasi glukosa			
6	Fermentasi xilosa			

3.6.5 Delignifikasi Serbuk Sekam Padi

Sekam padi dikeringkan terlebih dahulu dibawah sinar matahari selama kurang lebih 1 hari. Setelah dikeringkan dengan sinar matahari sekam padi dimasukkan kedalam oven dengan suhu 100°C dengan durasi 16 jam. Sekam padi yang sudah dioven kemudian dihaluskan dengan blender serta disaring dengan saringan ukuran 100 mesh (Gunam, 2010). Tujuan dari sekam padi yang disaring adalah untuk mempermudah proses terjadinya hidrolisis antara enzim dengan sekam padi dan memperluas kontak, akibat dari perlakuan tersebut adalah enzim mudah mendegradasi selulosa pada sekam padi menjadi glukosa.

Delignifikasi serbuk sekam padi diproses dengan menambah larutan NaOH 6% dalam perbandingan 1:10, yang berfungsi untuk menghancurkan dan merusak struktur lignin, baik pada bagian kristalin maupun amorf. Proses ini bertujuan untuk meningkatkan ketersediaan selulosa sehingga dapat lebih mudah dihidrolisis pada tahap berikutnya. Campuran serbuk sekam padi dan larutan NaOH kemudian dipanaskan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit guna mempercepat proses delignifikasi. Setelah itu, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan serbuk dari larutan, kemudian dicuci dengan H₂SO₄ hingga mencapai pH netral (pH 7), guna menghilangkan sisa alkali yang masih menempel pada serbuk. Tahap akhir dari proses ini adalah pengeringan serbuk dalam oven pada suhu 105°C selama 8 jam untuk menghilangkan kadar air. Hasil dari delignifikasi ini menghasilkan serbuk sekam padi dengan kandungan lignin yang lebih rendah dan lebih siap digunakan dalam proses selanjutnya, yaitu hidrolisis enzimatik.

3.6.6 Uji Aktivitas Selulolitik Menggunakan Media CMC (*Carboxymethyl Cellulose*)

Uji aktivitas selulolitik menggunakan media *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) adalah metode untuk menguji kemampuan jamur untuk menghasilkan enzim selulase. Diinkubasi di suhu 37°C selama 7 hari. Uji ini dapat diproses dengan menumbuhkan jamur pada media CMC dan selanjutnya menetes media dengan pewarna *Congo red* 0,1% selama 30 menit, lalu dibilas dengan NaCl 1%. Jika jamur mampu menghasilkan

enzim selulase, akan terbentuk zona bening di sekitar koloni jamur. Besarnya zona bening menunjukkan perbedaan kemampuan masing-masing jamur dalam menghasilkan enzim selulase.

Tabel 3. 3 Format hasil uji aktivitas selulolitik menggunakan media (*Carboxymethyl Cellulose*)

Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)	Diameter Koloni (mm)	Indeks Aktivitas Selulase

Indeks aktivitas selulolitik dihitung berdasarkan persamaan yang digunakan oleh Talantan dkk. (2018) yaitu:

$$\text{Indeks Aktivitas Selulase} = \frac{\text{Diameter zona bening (mm)} - \text{Diameter koloni (mm)}}{\text{Diameter koloni (mm)}}$$

3.6.7 Pembuatan Kurva Tumbuh Jamur

Kurva pertumbuhan jamur merupakan representasi visual dari laju pertumbuhan populasi jamur dalam suatu periode waktu tertentu. Kurva ini sangat berguna untuk memahami karakteristik pertumbuhan suatu jenis jamur, seperti fase-fase pertumbuhan, laju pertumbuhan maksimum, dan waktu generasi.

Isolat kapang selulolitik yang telah berumur lima hari dikulturkan dalam 20 mL medium Potato Dextrose Broth (PDB). Inokulasi dilakukan dengan memasukkan dua loop inokulum ke dalam medium yang telah disterilkan sebelumnya. Kultur selanjutnya diinkubasi dalam shaker pada kecepatan 135 rpm selama tujuh hari. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam dengan cara mengambil sampel untuk mengukur biomassa miselium yang terbentuk. Prosedur pengukuran dilakukan melalui penyaringan miselium dari 20 mL kultur menggunakan kertas saring, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu sekitar 80°C selama 24 jam hingga diperoleh massa kering miselium (Aryani, 2012). Massa kering tersebut dihitung melalui rumus perhitungan sebagai berikut:

$$= \frac{(\text{Berat kertas saring} + \text{berat kering miselium}) - \text{berat kering kertas saring}}{\text{dalam 20 ml}}$$

3.6.8 Produksi Enzim Selulase Menggunakan Metode *Submerged Fermentation* (SMF)

Sebelum dilakukan produksi enzim dengan menggunakan metode *Submerged Fermentation* (SMF) inoculum jamur dibuat dengan mengambil 3 loop jamur *Aspergillus niger* yang kemudian diinokulasi dalam media *Potato Dextrose Broth* (PDB). Selanjutnya inoculum diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 135 rpm selama waktu optimum jamur *Aspergillus niger*.

Medium fermentasi yang digunakan terdiri dari campuran $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 1,4 g, KH_2PO_4 sebanyak 2,0 g, urea sebanyak 0,3 g, CaCl_2 sebanyak 0,3 g, MgSO_4 sebanyak 0,3 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,005 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,0014 g, CoCl_2 sebanyak 0,002 g, pepton sebanyak 0,75 g, dan sekam padi sebanyak 7,5 g. Seluruh komponen tersebut dilarutkan dalam buffer fosfat 0,2 M dengan pH 4,5 dan 5,5 dengan volume total 1000 mL di dalam labu Erlenmeyer berkapasitas 2000 mL. Penelitian Vu dkk. (2011) melaporkan bahwa *A. niger* menghasilkan selulase optimal pada rentang pH 4,0-5,0 saat menggunakan substrat campuran. Media fermentasi itu selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C serta tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, sebanyak 2% dari total volume media fermentasi ditambahkan secara aseptik dengan larutan inokulum, lalu campuran tersebut diinkubasi pada *waterbath shaker* pada variasi suhu $29,5^\circ\text{C}$ serta suhu $30,5^\circ\text{C}$ dengan kecepatan pengocokan 135 rpm selama 96 jam. Penelitian Sajith dkk. (2016) menemukan bahwa suhu optimum untuk produksi selulase oleh *A. niger* ITCC 7678 adalah 30°C . Selanjutnya, aktivitas enzim selulase diuji menggunakan metode Mandels (Oktariani, 2017). Enzim selulase ekstrak kasar diperoleh dari memisahkan sel jamur dari media pertumbuhannya melalui proses sentrifugasi selama lima menit pada kecepatan 4000 rpm. Aktivitas enzim diukur dengan mengukur supernatan yang dihasilkan. Produksi Enzim Selulase dilakukan dengan menggunakan metode Miller (1959). Jumlah enzim yang menghasilkan 1 μmol glukosa dalam satu menit disebut unit aktivitas selulase.

3.6.9 Pembuatan Larutan Standar Glukosa

Dalam proses pembuatan larutan standar glukosa, digunakan berbagai konsentrasi, seperti 50, 100, 200, 250, 300, 350, 400, dan 450 ppm. Hal yang menjadi langkah awal dalam pembuatannya adalah dengan membuat larutan stok glukosa dengan konsentrasi 1000 ppm, yang dibuat dengan melarutkan 0,05 gram glukosa ke dalam 50 mL air suling (aquades). Setelah larutan stok 1000 ppm ini terbentuk, larutan tersebut kemudian diencerkan untuk menghasilkan berbagai konsentrasi sesuai kebutuhan (Allinya, 2019).

3.6.10 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa dibuat dengan menggunakan larutan glukosa pada berbagai konsentrasi, yaitu 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, dan 400 ppm. Setiap larutan standar glukosa sebanyak 400 µl dicampurkan dengan 1200 µl larutan DNS, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 10 menit. Sesudah proses pemanasan, campuran didinginkan 5 menit menggunakan air es. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Sebagai kontrol, larutan blanko disiapkan dengan mencampurkan 400 µl akuades dan 1200 µl larutan DNS. Kurva standar diperoleh dengan memplotkan konsentrasi glukosa terhadap nilai absorbansinya.

Setelah didapatkan nilai absorbansi dari tiap larutan, digunakan persamaan regresi $y = ax + b$ untuk mengetahui konsentrasi gula pereduksi. Nilai a dan b didapatkan atas perhitungan gula standar, x menyimbolkan konsentrasi gula pereduksi yang dihasilkan dan y adalah nilai absorbansi pada Panjang gelombang 550 nm (Talantan dkk., 2018).

3.6.11 Pengukuran Parameter

1. Biomassa Jamur

Metode *Optical Density* (OD) digunakan untuk mengukur populasi bakteri selama fermentasi. Pada proses ini, diambil 1 mL sampel medium fermentasi dari setiap titik pengamatan dan ditempatkan dalam kuvet. Sebagai kontrol, kuvet lain diisi dengan

akuades yang berfungsi sebagai blanko untuk kalibrasi. Pengukuran absorpsi cahaya dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 610 nm untuk menentukan densitas optik sampel (Lizayana dkk., 2016).

2. Uji Aktivitas Enzim Selulase dalam Media Serbuk Sekam Padi

Sebanyak 0,01 g serbuk sekam padi dimasukan ke dalam 1 ml buffer (dengan pH yang disesuaikan dengan pH optimum jamur) dan 1 ml ekstrak kasar enzim, dalam tabung reaksi 10 ml, kemudian diinkubasi 30 menit dalam suhu variasi 29,5 dan 30,5. Setelah itu, reaksi dihentikan dengan menginkubasi campuran pada suhu 100°C selama 15 menit untuk memastikan denaturasi enzim. Suspensi yang dihasilkan kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan komponen padat dan cair. Sebanyak 1 ml supernatan yang diperoleh diambil, lalu ditambahkan 1 ml larutan DNS, dan campuran ini diinkubasi pada suhu 100°C selama 10 menit.. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Suhu inkubasi campuran sekam padi dan enzim serta pH buffer disesuaikan pada isolat jamur yang digunakan (Meryandini dkk 2009). Hasil pengukuran aktivitas enzim selulase dicatat pada tabel yang disusun sesuai format Tabel 3.6.

$$\text{Aktivitas enzim selulase (Unit/mL)} = \frac{[C \times Fp \times 10]}{t \times \text{BM glukosa}}$$

Keterangan:

- C = konsentrasi gula pereduksi
 T = waktu inkubasi (30 menit)
 Fp = faktor pengenceran (Aryani, 2012)
 BM Glukosa = 180 dalton

Hasil penentuan kadar gula pereduksi dan aktivitas enzim selulas dimasukkan ke dalam tabel dengan format yang disajikan pada Tabel 3.6.

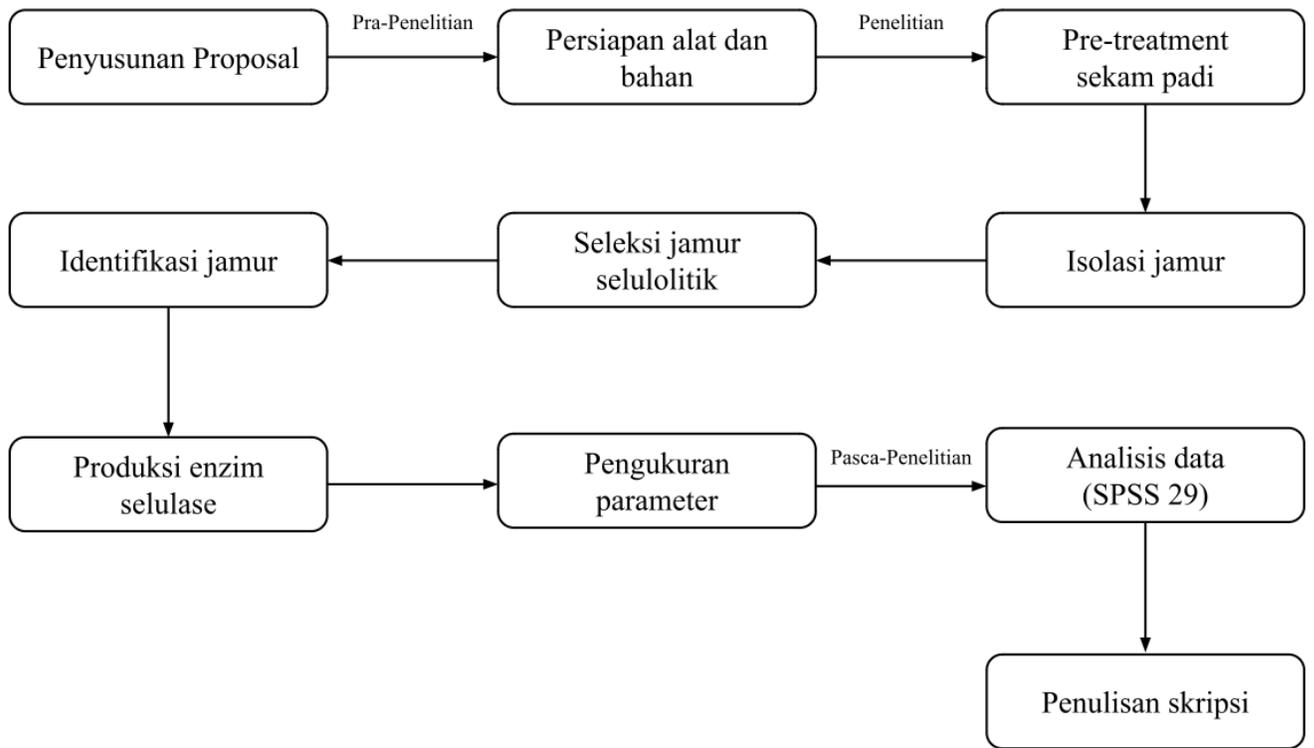
Tabel 3.4 Format kadar gula pereduksi dan uji aktivitas enzim selulase

Sampel	Absorbansi	Gula Perduksi (mg/L)	Aktivitas Enzim (U/mL)

3.7 Analisis Data

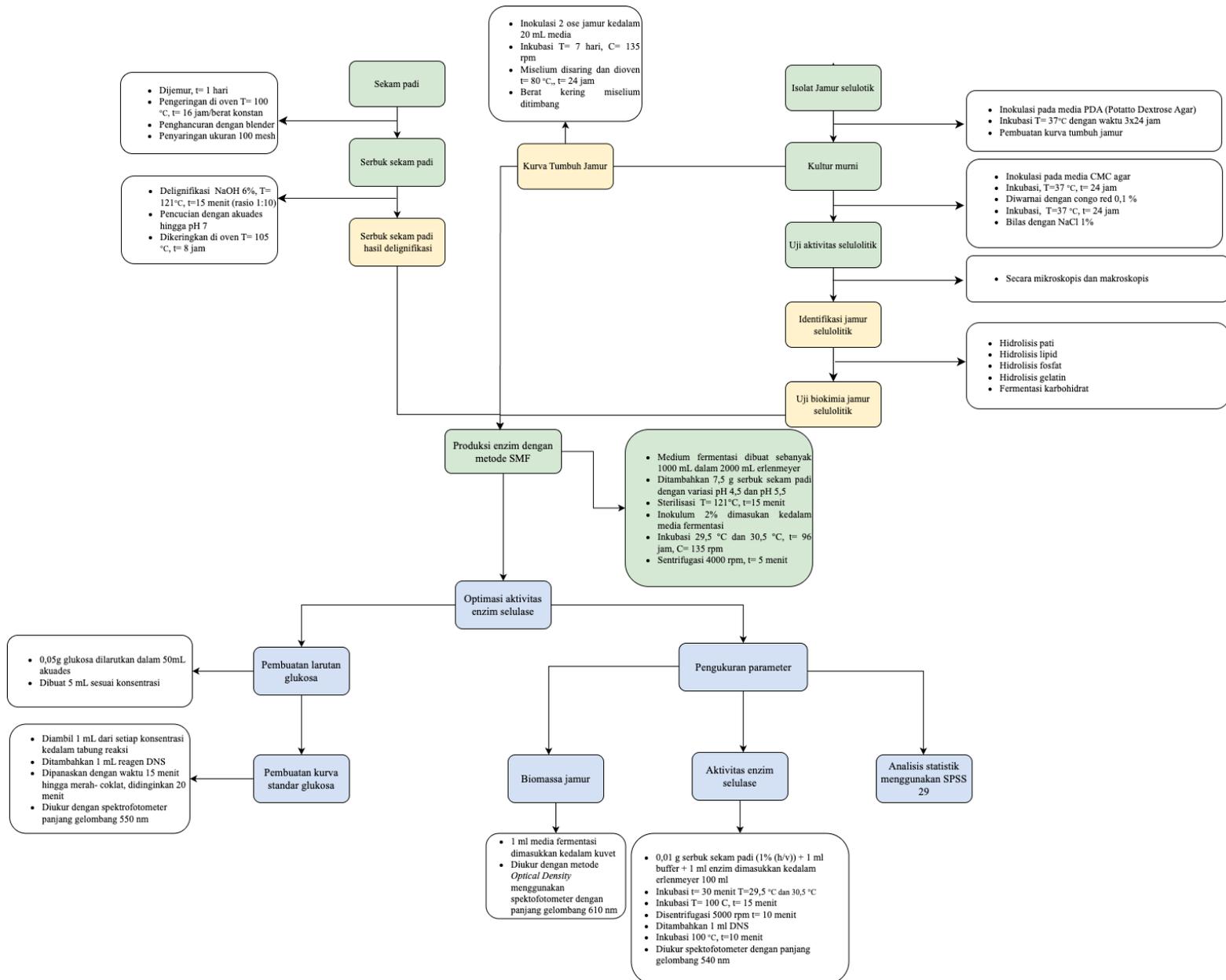
Data dianalisis menggunakan aplikasi IBM SPSS versi 29. Uji statistik yang dilakukan memiliki tujuan untuk mengevaluasi pengaruh dari pH dan suhu substrat atau media yang digunakan pada pemrosesan enzim selulase yang dihasilkan dari jamur selulolitik. Jika data dari *output* berdistribusi normal, analisis dilakukan menggunakan uji *Two-Way ANOVA*, sedangkan jika data dari *output* tidak berdistribusi normal, digunakan uji non-parametrik yaitu uji *Friedman*.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian Produksi Enzim Selulase oleh Jamur Selulolitik

Aspergillus niger Menggunakan Substrat Sekam Padi



Gambar 3.2 Bagan Alur Kerja Produksi Enzim Selulase oleh Jamur Selulolitik *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Sekam Padi

Eksa Adhwa Fadhilah, 2025

OPTIMASI PRODUKSI ENZIM SELULASE OLEH JAMUR SELULOLITIK *Aspergillus niger* PADA MEDIA SERBUK SEKAM PADI (*Oryza sativa* Linn.)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu