

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah metode penelitian eksperimen dengan pendekatan kuantitatif. Penelitian eksperimen digunakan untuk menguji pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain atau menguji bagaimana hubungan sebab akibat antara variabel yang satu dan variabel yang lainnya (Sukmadinata, 2008). Sedangkan pendekatan kuantitatif menghasilkan penelitian dengan menggunakan angka, tabel, grafik, bagan, gambar atau tampilan lain dalam penafsiran data yang didapat (Arikunto, 2006).

#### **3.2 Desain Penelitian**

Pengaruh perlakuan yang diberikan pada penelitian ini yaitu perbedaan pada variabel pH dan temperatur. Sedangkan variabel akibat pengaruh perlakuan yang diamati yaitu variabel densitas bakteri, volume enzim, dan aktivitas enzim.

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap yaitu tahap persiapan, tahap penelitian, dan tahap pengukuran parameter. Tahap persiapan dimulai dengan persiapan alat dan bahan, pengambilan rayap *Cryptotermes sp.*, pengumpulan jerami padi, dan pembuatan medium. Selanjutnya tahap penelitian dilakukan dengan isolasi bakteri dari usus rayap, seleksi bakteri selulolitik, identifikasi bakteri selulolitik, dan delignifikasi jerami padi. Setelah itu dilakukan pembuatan kurva tumbuh bakteri, kemudian dilakukan optimasi produksi enzim selulase dengan menggunakan medium SmF dengan mengoptimasi pH dan temperatur yang digunakan. Dan selanjutnya dilakukan tahap pengukuran parameter. Parameter yang diukur yaitu aktivitas enzim, biomassa sel bakteri, dan kadar gula pereduksi.

Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial  $4 \times 6 = 24$  perlakuan dengan tiga kali pengulangan menjadi 72 percobaan. Faktor pertama yaitu pH dan temperatur yang dioptimasi yaitu

tingkatan pH 7 dan 8 dan suhu 36,5 dan 37,5°C. Faktor kedua yaitu waktu pengambilan sampel pada jam ke-0, jam ke-24, jam ke-48, jam ke-72, jam ke-96, dan jam ke-120. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas enzim, biomassa sel bakteri, dan kadar gula pereduksi.

### 3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah bakteri selulolitik pada saluran pencernaan rayap *Cryptotermes sp.* yang berasal dari kayu lapuk pada rumah di daerah Geger Arum, Kelurahan Isola, Kecamatan Sukasari, Kota Bandung. Sedangkan sampel dari penelitian ini adalah isolat bakteri selulolitik R3-1, R4-3, dan R7-3 yang diisolasi dari saluran pencernaan rayap *Cryptotermes sp.*

### 3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama Februari sampai dengan Juli 2019 yang bertempat di Laboratorium Riset Biologi Universitas Pendidikan Indonesia di Jalan Dr. Setiabudi No. 229, Bandung.

### 3.5 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang diperlukan dalam penelitian ini tersedia di Laboratorium Riset Biologi, Gedung B Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut.

#### 3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat standar yang biasa digunakan di Laboratorium Mikrobiologi seperti autoklaf, *laminar air flow*, inkubator, timbangan digital, tabung reaksi, cawan petri, *hot plate*, *beaker glass*, labu Erlenmeyer, mikropipet, vorteks, mortar, pestel, jarum ose, pH meter, spektrofotometer, oven, *waterbath shaker*, sentrifuge, dan lainnya, serta alat-alat yang digunakan dalam proses optimasi produksi enzim.

### 3.5.2 Bahan

Bahan-bahan utama yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah rayap, jerami padi, media nutrisi agar, nutrisi broth, alkohol, larutan NaCl 0,85%, yeast ekstrak, *carboxymethylcellulose* (CMC), asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), Congo Red, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, NaCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, akuades, dan lain sebagainya.

## 3.6 Prosedur Penelitian

### 3.6.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi proses persiapan alat dan bahan yang selanjutnya disterilisasi sebelum digunakan dalam penelitian. Alat-alat kaca dan plastik yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas pembungkus dan plastik tahan panas. Bahan-bahan yang disterilisasi juga dimasukkan ke dalam kaca bersih dan diberi sumbu serta dibungkus oleh plastik tahan panas. Alat dan bahan tadi kemudian dimasukkan ke dalam autoklave untuk dilakukan sterilisasi panas selama 15-20 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi (Herlini, 2017). Kegiatan sterilisasi ini dilakukan di dalam Laboratorium Mikrobiologi Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

#### a. Pembuatan Media

Terdapat 3 medium berbeda yang digunakan untuk proses inokulasi bakteri yaitu sebagai berikut.

##### 1) *Nutrien Agar* (NA) dan *Nutrien Broth* (NB)

Medium Nutrien Agar dibuat dengan cara menimbang 3 gram beef ekstrak, ditambah 10 gram pepton, 5 gr NaCl, dan 15 gram agar ke dalam gelas kimia berisi 100 ml aquadest. Larutan dipanaskan sambil diaduk hingga semua bahan terlarut sempurna. Setelah itu media dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan cawan petri. Sedangkan medium nutrisi *broth* dibuat dengan komposisi bahan yang sama kecuali tidak ditambahkan agar. Semua media kemudian disterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian disimpan di dalam kulkas.

## 2) *Carboxymethylcellulose* (CMC) Agar

*Carboxymethylcellulose* (CMC) merupakan media selektif untuk hanya menumbuhkan bakteri yang memiliki kemampuan mencerna selulosa. Media CMC ini dibuat dengan melarutkan yeast ekstrak 0,2 gram, NaCl 0,23 gram, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,05 gram, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,5 gram, CMC 1 gram, serta agar 1,5 gram ke dalam aquadest hingga 100 ml. Selanjutnya dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklave dengan suhu 121°C selama 15 menit, lalu dituangkan ke cawan petri (Baharuddin, 2015).

## 3) Media Fermentasi (*Submerged Fermentation*)

Media SmF (*Submerged Fermentation*) dibuat untuk optimasi produksi enzim dan pengujian aktivitas enzim. Media SmF sebanyak 25 ml ini dibuat dengan melarutkan yeast ekstrak 1 gram, sukrosa 2 gram, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 gram, FeSO<sub>4</sub> 0,01 gram, 0,5 ml *basal salt soluton* (NaNO<sub>3</sub> 10 gram, KCl 2,5 gram, MgSO<sub>4</sub> 2,5, 50 ml akuades), dan 0,5 gram serbuk jerami ke dalam erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya diautoklave pada suhu 121°C selama 15 menit dan tekanan 15 psi (Shahid *et al.*, 2016).

## b. Pengambilan Sampel

Rayap *Cryptotermes sp.* diambil beserta potongan kayu yang dihinggapi dari tempat asalnya yang berlokasi di daerah Geger Arum, Kelurahan Isola, Kecamatan Sukasari, Kota Bandung untuk dibawa ke Laboratorium Riset Biologi UPI. Rayap kemudian diidentifikasi jenisnya berdasarkan karakteristik morfologinya menggunakan kunci determinasi rayap.

Rayap sejumlah 15 ekor yang telah diambil kemudian dikeluarkan dari sarangnya dan dimasukkan ke dalam cawan petri lalu disterilkan dengan mencucinya menggunakan alkohol 70%. Setiap rayap dipisahkan bagian kepala dan tubuhnya. Lalu dalam keadaan steril pada larutan 0,9% salin, bagian tubuh rayap dihancurkan dengan bantuan mortar untuk menghasilkan ekstrak yang akan digunakan untuk isolasi bakteri (Upadhyaya *et al.*, 2012 dan Gupta *et al.*, 2011).

Sedangkan sampel jerami yang digunakan diperoleh dari persawahan di Jalan Sawah Lega III Cipageran Kota Cimahi. Jerami yang diambil adalah jerami dengan usia 2 hari pascapanen.

### 3.6.2 Tahap Studi Pendahuluan

#### a. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran cawan tuang dengan mula-mula akan diperoleh biakan campuran dan selanjutnya dilakukan isolasi terhadap biakan murninya. Dengan teknik ini maka individu spesies tiap bakteri dapat dipisahkan dari spesies lainnya. Pengenceran bertingkat dilakukan sebanyak enam kali, dengan memasukkan 1 ml suspensi hasil ekstrak saluran pencernaan rayap ke dalam tabung berisi 9 ml akuades steril, lalu dihomogenkan dengan menggunakan vorteks sehingga didapatkan pengenceran pertama. Tahapan ini dilakukan hingga tingkatan pengenceran ke-6. Kemudian setelah didapatkan enam tabung dengan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$ , sebanyak masing-masing 0,1 ml hasil pengenceran dimasukkan ke dalam enam cawan petri berisi *Nutrien Agar* (NA) yang sudah padat dan telah dilabeli berdasarkan tingkat pengenceran, kemudian disebar secara merata dengan menggunakan batang L steril. Cawan petri kemudian dibungkus oleh kertas dan dimasukkan ke dalam platik tahan panas untuk mencegah kontaminasi kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Koloni-koloni yang kemudian tumbuh dengan karakteristik morfologi berbeda dipindahkan sebanyak 1 ose pada medium NA miring untuk diperoleh biakan murninya (Hadioetomo, 1985).

#### b. Pembiakan Isolat Bakteri

Terdapat tiga media berbeda untuk inokulasi bakteri, yaitu diantaranya sebagai berikut.

##### 1) *Nutrien Agar* (NA) dan *Nutrien Broth* (NB)

Media *Nutrien Agar* digunakan untuk pembiakan isolat dalam jangka waktu lama atau subkultur bakteri, sedangkan media *Nutrien Broth* digunakan sebagai kultur biakan dalam inkubasi shaker selama

beberapa hari untuk pengukuran fase pertumbuhan bakteri (Dwidjoseputro, 1994).

## 2) *Carboxymethylcellulose* (CMC) Agar

Media CMC Agar digunakan sebagai media selektif untuk pengujian zona bening yang dihasilkan di sekitar koloni bakteri selulolitik (Hankin dan Sandra, 1977).

## 3) Media Fermentasi (*Submerged Fermentation*)

Media SmF (*Submerged Fermentation*) digunakan sebagai media biakan untuk pengujian pH dan temperatur optimal dalam produksi enzim selulase yang selanjutnya akan diambil ekstrak kasar enzim selulase untuk dilakukan pengujian aktivitas enzim (Shahid *et al.*, 2016).

### c. Seleksi Bakteri pada Media CMC

Seleksi bakteri selulolitik pada media CMC dilakukan dengan metode kertas cakram. Biakan murni bakteri dibuat dalam media *Nutrien Broth* dengan sebanyak 1 ose bakteri dari kultur murni diambil kemudian ditanam dalam 50 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan kecepatan shaker 120 rpm. Selanjutnya sebanyak 10 µl bakteri hasil biakan tadi ditanam pada kertas cakram dengan ukuran ±6 mm yang telah diletakkan pada medium CMC agar di cawan petri dan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Rosyada, 2015 dan Niswah, 2014). Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan ada tidaknya zona bening yang terbentuk dengan mewarnai media CMC agar oleh *Congo red* 0,1% dan diinkubasi selama 30 menit, lalu dibilas dengan larutan NaCl 1% (Ji *et al.*, 2003). Seleksi bakteri selulolitik dilakukan berdasarkan ada tidaknya zona bening yang terbentuk pada media CMC tersebut. Indeks selulolitik yang diperoleh dari biakan bakteri tersebut dihitung dengan rumus indeks selulolitik sebagai berikut.

$$\text{Indeks Selulolitik} = \frac{\text{Diameter Zona Bening} - \text{Diameter zona bakteri}}{\text{Diameter Koloni Bakteri}}$$

(Sinaga, 2013)

Tabel 3.1  
*Hasil Pengamatan Indeks Selulolitik Isolat Bakteri R3-1, R4-3, dan R7-3*

<b>Parameter yang Diamati</b>	<b>Isolat R3-1</b>	<b>Isolat R4-3</b>	<b>Isolat R7-3</b>
Diameter Koloni			
Diameter Zona Bening			
Indeks Selulolitik			

#### d. Identifikasi Bakteri Selulolitik

##### 1) Pengamatan Morfologi Koloni

Pengamatan morfologi koloni dilakukan selama 7x24 jam masa inkubasi. Ciri morfologi yang harus diamati yaitu meliputi bentuk, warna, kenampakan bakteri (mengkilat atau suram), kenaikan permukaan (elevasi), kepekatan koloni dan tepian (Cappucino, 2005).

Tabel 3.2  
*Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Isolat Bakteri R3-1, R4-3, dan R7-3*

<b>Morfologi</b>	<b>Isolat R3-1</b>	<b>Isolat R4-3</b>	<b>Isolat R7-3</b>
Bentuk			
Elevasi			
Margin			
Warna			

##### 2) Pewarnaan Bakteri

Pewarnaan bakteri dilakukan untuk mengamati morfologi sel dan keadaan ciri-ciri fisiologis bakteri. Teknik pewarnaan yang digunakan yaitu pewarnaan sederhana, gram, kapsul, dan endospora (Herlini, 2017).

Tabel 3.3  
*Hasil Pengamatan Pewarnaan Koloni Isolat Bakteri R3-1, R4-3, dan R7-3*

<b>Jenis Pewarnaan</b>	<b>Isolat R3-1</b>	<b>Isolat R4-3</b>	<b>Isolat R7-3</b>
Pewarnaan sederhana			
Pewarnaan gram			
Pewarnaan kapsul			
Pewarnaan endospora			

### 3) Uji Biokimia

Selain dilakukan berbagai teknik pewarnaan, dilakukan juga uji biokimia untuk mengetahui karakteristik bakteri yang diamati. Uji biokimia yang dilakukan yaitu meliputi uji fermentasi karbohidrat, uji hidrolisis (pati, gelatin, lipid), uji katalase, uji motilitas, uji produksi H<sub>2</sub>S, uji urease, uji indol, uji methyl-red (MR), uji Voges-Proskauer (VP), dan uji Simmon's Sitrat.

Tabel 3.4  
*Hasil Pengamatan Uji Biokimia Koloni Isolat Bakteri R3-1, R4-3, dan R7-3*

<b>Karakteristik Uji Biokimia</b>	<b>Isolat R3-1</b>	<b>Isolat R4-3</b>	<b>Isolat R7-3</b>
Uji Fermentasi Sukrosa			
Uji Fermentasi Dekstrosa			
Uji Fermentasi Laktosa			
Uji Fermentasi Glukosa			
Uji Hidrolisis Pati			
Uji Hidrolisis Lipid			
Uji Hidrolisis Kasein			
Uji Hidrolisis Gelatin			
Uji Katalase			
Uji Kebutuhan O <sub>2</sub>			
Uji Produksi H <sub>2</sub> S			
Uji SIM Agar			
Uji Methyl-red			
Uji Voges-Proskauer			
Uji Simmon's Sitrat			
Uji Susu Litmus			

Kemudian untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan pengamatan morfologi, pewarnaan, dan uji biokimia yang telah dilakukan mengacu pada buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

### e. Pembuatan Kurva Tumbuh Bakteri

Terlebih dahulu dilakukan pembuatan starter bakteri dengan cara sebanyak 1 ose bakteri diinokulasikan ke dalam 10 ml media *Nutrien Broth* pada erlenmeyer dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator shaker dengan suhu 37°C dan kecepatan 120 rpm. Setelah itu 10 ml inokulum tersebut ditambahkan ke dalam 90 ml media NB hingga volume totalnya menjadi 100 ml dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada inkubator shaker kecepatan 120 rpm. Kemudian setiap interval 1 jam sekali dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer. Sebanyak 1 – 1,5 ml sampel biakan diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Kurva tumbuh bakteri didapat berdasarkan hubungan nilai absorbansi (sumbu Y) dengan waktu (sumbu X). Umur kultur saat mencapai fase logaritmik (eksponensial) dapat diketahui berdasarkan kurva tumbuh tersebut (Cappucino dan Sherman, 2005; Wahyuningsih dan Zulaika, 2018).

## 3.6.3 Tahap Penelitian

### a. *Pretreatment* Jerami dan Delignifikasi Jerami Padi

Jerami padi (*Oryza sativa*) yang diperoleh dicuci kemudian dipotong dan dikeringkan dengan oven selama 3 hari pada suhu 70°C hingga berat konstan (Nata *et al.*, 2014). Jerami yang sudah kering kemudian diblender dan disaring dengan ukuran 100 mesh dan dilanjutkan tahap delignifikasi. Proses delignifikasi jerami padi dilakukan melalui dua tahap yaitu tahap pertama dilakukan pencucian dengan 0,5 M KOH pada suhu ruang selama 4 jam kemudian dicuci dengan 0,1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada suhu ruang selama 1 jam, rasio pencucian 1:10 (jerami:pencucian). Setelah kedua tahap pencucian tersebut selesai, dilakukan pencucian hingga pH netral dengan menggunakan air (Goyal *et al.*, 2014).

### b. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Larutan standar glukosa dibuat dengan berbagai konsentrasi bertingkat dimulai dari konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, 300, dan 350 ppm.

Selanjutnya setiap konsentrasi larutan glukosa diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 ml reagen DNS dan dihomogenkan dengan vorteks. Kemudian dipanaskan dalam penangas mendidih dengan suhu 100°C selama 15 menit, selanjutnya didinginkan di dalam air es selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan sebanyak 0,4 ml akuades dan 1,2 ml reagen DNS kemudian dihomogenkan dan dilakukan prosedur seperti pada sampel larutan glukosa tadi. Setiap pengukuran kemudian dibuat garis regresi yang menunjukkan hubungan linier antara absorbansi dan kadar glukosa (Aryani, 2012).

### c. Produksi dan Aktivitas Enzim Selulolitik dengan Media SmF

Bakteri dibiakkan terlebih dahulu pada 25 ml erlenmeyer dengan media *Nutrien Broth* yang telah disterilisasi. Biakan murni bakteri R3-1, R4-3, dan R7-3 masing-masing sebanyak 1 ose diinokulasikan pada erlenmeyer tersebut dan diinkubasikan selama 24 jam pada inkubator shaker dengan kecepatan 120 rpm dan suhu 37°C (Shahid *et al.*, 2016).

Produksi enzim selanjutnya dilakukan dalam media SmF. Masing-masing 25 ml medium SmF dibuat dengan melarutkan 1 gram yeast ekstrak, 2 gram sukrosa, 1 gram K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub> (0,01 gr/L), dan 0,5 ml *basal salt solution* (NaNO<sub>3</sub> 10 gr, KCl 2,5 gr, MgSO<sub>4</sub> 2,5 gr dan air distilasi 50 ml) pada air akuades hingga mencapai volume 25 ml (Kumar *et al.*, 2009). Selanjutnya ditambahkan 2% (w/v) jerami padi hasil delignifikasi. Dibuat 2 macam medium SmF dengan perbedaan pH yaitu pH 7 dan 8. Kadar pH diukur dengan menggunakan pH meter digital. Pemberian perlakuan tingkat perbedaan pH yaitu dengan menambahkan larutan NaOH untuk pH basa dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk pH asam. Medium SmF yang telah dibuat lalu disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit (Shahid *et al.*, 2016).

Setelah medium SmF disterilisasi selanjutnya diinokulasikan sebanyak 1% inokulum kultur murni dari biakan bakteri R3-1, R4-3, dan R7-3. Masing-masing inokulum bakteri hanya diambil sekitar 0,33% saja untuk mencapai

1% total inokulum ketiga bakteri yang dimasukkan ke dalam medium fermentasi SmF. Medium fermentasi kemudian diinkubasi pada inkubator shaker dengan suhu 36,5 dan 37,5 °C dan kecepatan 150 rpm selama 120 jam (Sreedevi, *et al.* 2013; Shahid, *et al.* 2016; Phong, *et al.* 2017).

Hasil fermentasi kemudian disaring setiap 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam dengan kertas saring Whatman No. 1 dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan partikel-partikel lain yang tidak diinginkan selain enzim ekstrak kasar. Partikel bening yang didapat setelah sentrifugasi merupakan enzim ekstrak kasar yang didapat (Sholihati *et al.*, 2016).

### **3.6.4 Tahap Pengukuran Parameter**

#### **a. Pengukuran Biomassa Sel Bakteri**

Pengukuran biomassa sel bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Optical Density* (OD). Pada masing-masing jam ke 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 waktu fermentasi, sampel bakteri sebanyak 1 ml yang terdapat dalam medium fermentasi diambil dan selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 610 nm. Akuades digunakan sebagai blanko (Lizayana *et al.*, 2016).

#### **b. Uji Aktivitas Enzim Selulase Ekstrak Kasar**

Enzim selulolitik yang dihasilkan selanjutnya diuji aktivitasnya dengan menggunakan metode asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS). Sebanyak 0,5 ml CMC 1% (disiapkan pada 0,05 M *buffer citrate* pH 5) dan 0,5 ml enzim selulase diinkubasi pada suhu 50 °C selama 30 menit. Kemudian setelah inkubasi, dilakukan penambahan 1,5 ml asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan dididihkan di dalam *waterbath* selama 10 menit, lalu didinginkan dan diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm (Gosh, 1987 dalam Shahid *et al.*, 2016).

Jumlah gula yang dihasilkan ditentukan dengan standar glukosa. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang diperlukan

untuk membentuk 1  $\mu\text{mol}$  produk per satuan waktu untuk setiap mL enzim (Miller, 1959). Rumus menghitung aktivitas enzim adalah sebagai berikut.

$$\text{Aktivitas selulase } \left( \frac{\text{u}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{konsentrasi gula pereduksi} \times \text{FP} \times 10}{t \times \text{BM}}$$

(Aryani, 2012)

Keterangan:

FP = faktor pengenceran

t = waktu inkubasi (30 menit)

BM = berat massa glukosa (180 dalton)

Tabel 3.5

*Hasil Pengamatan Pengukuran Aktivitas Enzim Selulosa Berdasarkan Parameter pH dan Temperatur*

Waktu Fermentasi (Jam)	Aktivitas Enzim (IU/ml)			
	T 36,5°C		T 37,5°C	
	pH 7	pH 8	pH 7	pH 8
0				
24				
48				
72				
96				
120				

Tabel 3.6

*Hasil Pengamatan Pengukuran Biomassa Sel Bakteri Berdasarkan Parameter pH dan Temperatur*

Waktu Fermentasi (Jam)	Konsentrasi Inokulum Bakteri $\lambda 610 \text{ nm}$			
	T 36,5°C		T 37,5°C	
	pH 7	pH 8	pH 7	pH 8
0				
24				
48				
72				
96				
120				

Tabel 3.7  
*Hasil Pengamatan Pengukuran Kadar Gula Pereduksi Berdasarkan  
 Parameter pH dan Temperatur*

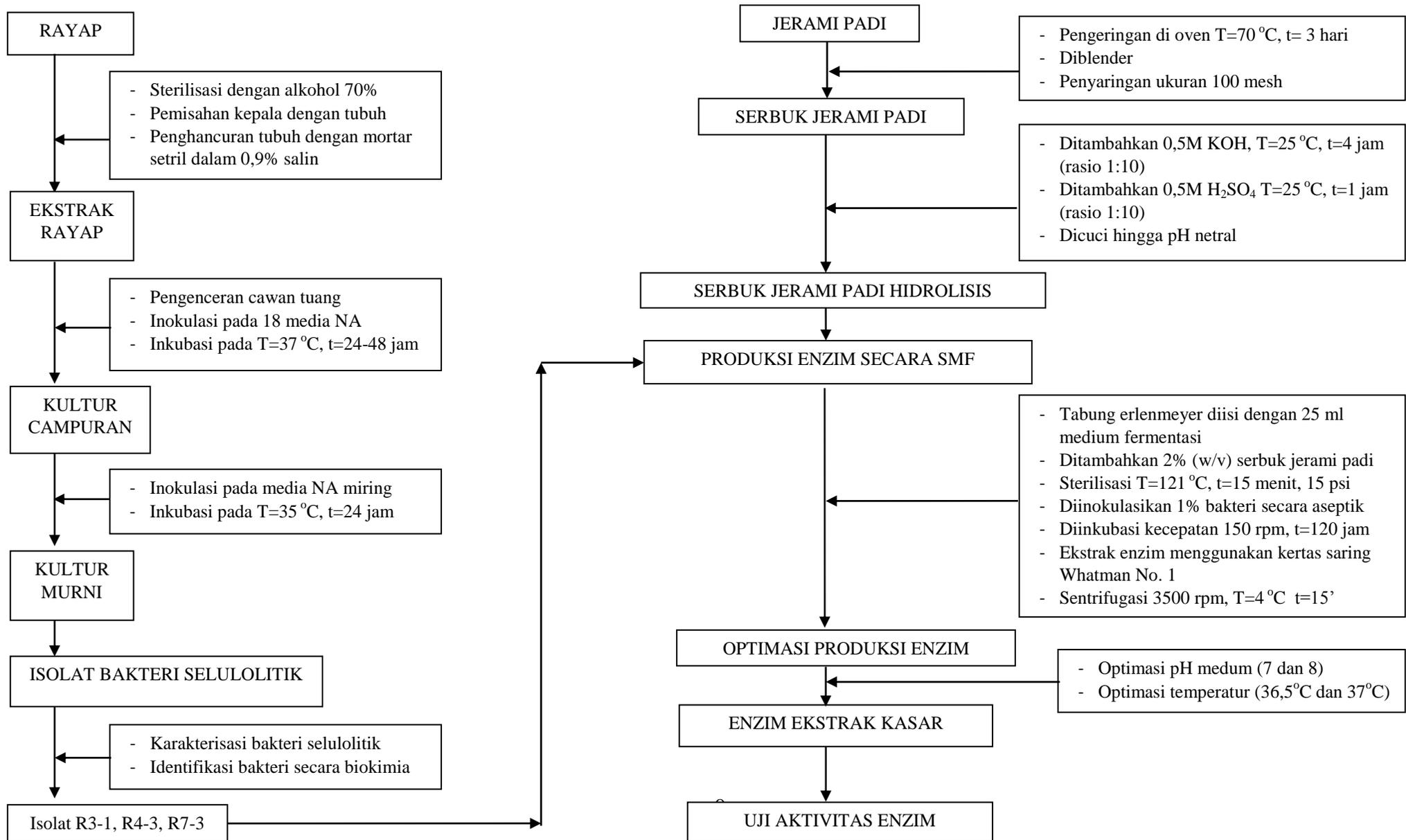
Waktu Fermentasi (Jam)	Kadar Gula Pereduksi (ppm)			
	T 36,5°C		T 37,5°C	
	pH 7	pH 8	pH 7	pH 8
0				
24				
48				
72				
96				
120				

Keterangan: setiap parameter pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis dengan menggunakan berbagai literatur penunjang dalam studi kepustakaan dan disajikan dalam bentuk tabulasi, grafik, dan gambar. Sedangkan pada bagian pengukuran parameter pH dan temperatur digunakan analisis statistik yaitu Uji Anova dua arah jika data yang diperoleh homogen dan Uji Non Parametrik jika data yang dihasilkan tidak homogen.

### 3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian