

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Idral, A., Rahmah, N. 2020. Pemanfaatan Pelepah Kelapa Sawit menjadi Bioetanol dengan Variabel Konsentrasi H₂SO₄ dan Waktu Fermentasi. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*: 1-2.
- Ahmad, I., Alimuddin, L., Rukavia, B. 2015. Analisis Kelayakan Investasi Pada Usaha Perkebunan Kelapa Sawit Rakyat Di Desa Bambaيرا Kecamatan Bambaيرا Kabupaten Mamuju Utara. e-J. *Agrotekbis*, vol. 3 (3): 381-389.
- Ali, D.G., Purnama, D., Yudi, P. 2014. Optimasi Nanoenkapsulasi Asap Cair Tempurung Kelapa Dengan Response Surface Methodology dan Karakterisasi Nanokapsul. *Teknologi. dan Industri Pangan*, vol. 25 (1): 23-30.
- Anand, A. A. P., Vennison, S. J., Sankar, S. G., Prabbhu, D. I. G., Vaasan, P. T., Raghuraman, T., Geoffrey, C. J., and Vendan, S. E. 2010. Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut of Bombyx mori that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and Their Impact on Digestion. *Insect Science*. vol. 10: 1–20.
- Anugrah, R., Efri, M., Selly, H.P., Tri, Y. 2020. Karakterisasi Bioetanol Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan Metode Pemurnian Adsorpsi (Adsorpsi Menggunakan Adsorben Berupa Zeolit). *Jurnal Industri Pertanian*, vol. 2 (1): 113-123.
- Aprilyanti, S., Suryani F., Pratiwi, I. 2019. Optimasi waktu hidrolisis dan volume enzim pada proses hidrolisis enzimatis selulosa jerami padi. *Prosiding Seminar Nasional II*. Palembang: Litbangyasa Industri.
- Baharuddin, M. 2014. Aktivitas Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri Larva *Cossus cossus* dalam Hidrolisis Jerami Padi". *Kimia valensi*, 4: 128–133.
- Baharuddin, M. 2016. Kajian Enzim Selulase dari Bakteri Symbion Larva Kupu-Kupu (Cossidae): Pemurnian, Karakterisasi dan Aplikasi dalam Hidrolisis Lignoselulosa Jerami. *Disertasi*. Makassar: Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.
- Baharuddin, M., Ahyar, A., Nursiah L.N., Firdaus, Z. 2016. Cellulase Enzyme Activity of *Bacillus Circulans* from Larvae *Cossus Cossus* in Lignocellulosic Substrat. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*, vol. 4 (2): 21-25.
- Baharuddin, M., Sappewali, Karisma, Jeni, F. 2016. Produksi Bioetanol Dari Jerami Padi (*Oryza Sativa L.*) dan Kulit Pohon Dao (*Dracontamelon*) Melalui Proses Sakarifikasi Dan Fermentasi Serentak (SFS). *Chimica et Natura Actav*, vol. 4 (1):1-6.

- Bahri, S., Mirzan, M., dan Hasan, M. 2012. Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea mays ceratina L.*). *Natural Science*. 1: 132–143.
- Bai, S., Ravi, M., Mukeish, D. J., Balashangam, P., and Bala, M. D. 2012. Cellulase Production by *Bacillus subtilis* Isolated from Cow Dung. *Archives of Applied Science Research*. 4: 269–279.
- Batubara, UM, Mardalisa, M., Suparjo, S., Maritsa, HU, Pujianto, E., & Herlini, M. (2021). Isolation and characterization of cellulolytic bacteria diversity in peatland ecosystem and their cellulolytic activities. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 934(1), 1-6.
- Bio-ethanol production: A route to sustainability of fuels using biobased heterogeneous catalyst derived from waste. *Process Safety Ad Environmental Protection*, 146: 190-200.
- Biswas, S., Saber, M. Al., Tripty, IA., Karim, MA., Islam, MA., Hasan, M.S. Hasan, MN (2020). Molecular characterization of cellulolytic (endo- and exoglucanase) bacteria from the largest mangrove forest (Sundarbans), Bangladesh. *Annals of Microbiology*, 70(1), 1-11.
- Budi, Lestary Purwaning dan Wahyu Triasih Hartati. 2017. Mikrobiologi Berbasis Inkury. Bandung: Gudang Pustaka. Chantarasiri, A. 2015. Aquatic *Bacillus cereus* JD0404 Isolated From The Muddy Sediments Of Mangrove Swamps In Thailand And Characterization Of Its Cellulolytic Activity. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 41: 257–264.
- Chasanah, E. 2013. Karakterisasi Enzim Selulase PMP 0126Y Dari Limbah Pengolahan Agar. *JPB Perikanan*, vol. (2): 103-114.
- Dahnum, D., Sri Octavia, T., Eka, T., Muhammad, N. and Haznan, A. 2015. Comparison of SHF and SSF processes using enzyme and dry yeast for optimization of bioethanol production from empty fruit bunch. *Energy Procedia*, 68: 107-116.
- Dasli, Nurdin. (1986). Eludasi Struktur Senyawa Organik. Bandung : Angkasa.
- Davis, WW, TR Stout. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology* 22, 659-665.
- Dini, I.R., Wawan, Hapsoh, Sriwahyuni. 2018. Isolation and Identification of Cellulolytic and Lignolytic Bacteria from the Gut *Oryctes rhinoceros L.* Larvae Decomposition of Oil Palm Empty Fruit Bunches. *Indonesian Journal of Agricultural Research*, vol. 01(2): 193 – 203.
- Erwinsyah, Atika, A., Teddy, K. 2015. Potensi Dan Peluang Tandan Kosong Sawit Sebagai Bahan Baku Pulp Dan Kertas: Studi Kasus Di Indonesia. *Selulosa*, vol. 5 (2): 79-88.

- Fallo, G., Shine, Y. 2016. Isolasi dan uji biokimia bakteri selulolitik asal saluran pencernaan rayap pekerja (*Macrotermes* Spp.). *Jurnal Pendidikan Biologi*, 1(2): 27-29.
- Fitri, L., dan Yasmiin, Y. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. 3: 20–25.
- Gergonius, F., & Sine, Y. (2016). Isolation and biochemical test of cellulolytic bacteria from digestive tract of worker termites (*Macrotermes* Spp.). *Bio-Edu: Journal of Biological Education*, 1(2), 27-29.
- Gohain, M., Maskura, H., Khalifah, S.H.E., Pritam, B., Khairujjaman, L., Hridoyjit, P., Manabendra, M., Dipul, K., Dhanapati, D. 2021.
- Hadieoetomo, R.S. (1993). Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Problem Dasar Lab. PT Gramedia Pusaka Utama. Jakarta.
- Haji, Abdul Gani. 2013. Komponen Kimia Asap Cair Hasil Pirolisis Limbah Padat Kelapa Sawit. *Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, vol. 9 (3): 109-116.
- Hamzah, H. 2018. Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan ISSN 2442-9791 Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Keong Sawah Pila ampullaceal Menggunakan Substrat Serbuk Gergaji Kayu. *Pharmaunho*, 4: 16-21.
- Irawati, R. 2016. Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi Oleh *Bacillus circulans*. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim Malang.
- Ishola, M. M., Isroi, Taherzadeh, M. J. 2014. Effect of fungal and phosphoric acid pretreatment on ethanol production from oil palm empty fruit bunches (OPEFB). *Bioresource Technology*, 165: 9-12.
- Julianto, T.S., M. Arsyik, K., Ikhwan, A. 2019. Pembuatan Bioetanol dari Jerami Padi Berbantuan Ekstrak Enzim Selulase Batang Jamur Tiram Menggunakan Metode Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). *Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*, vol. 19 (02): 193-199.
- Khairiah, E., Khotimah, S., & Mulyadi, A. (2013). Characterization and density of cellulose-degrading bacteria on peat soil in Parit Banjar Village, Pontianak Regency. *Journal of Protobiont*, 2(2), 87–92.
- Kurniawan, A., D. Febriyanti, S.P. Sari, A.A. Prihanto, E. Asriani, K. Andi dan A.B. Isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi selulosa asal ekosistem mangrove tukad sadai, Bangka Selatan. *Jurnal Perikanan Pantura*, 1(2): 9-16.
- Lay, W. B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi I. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.

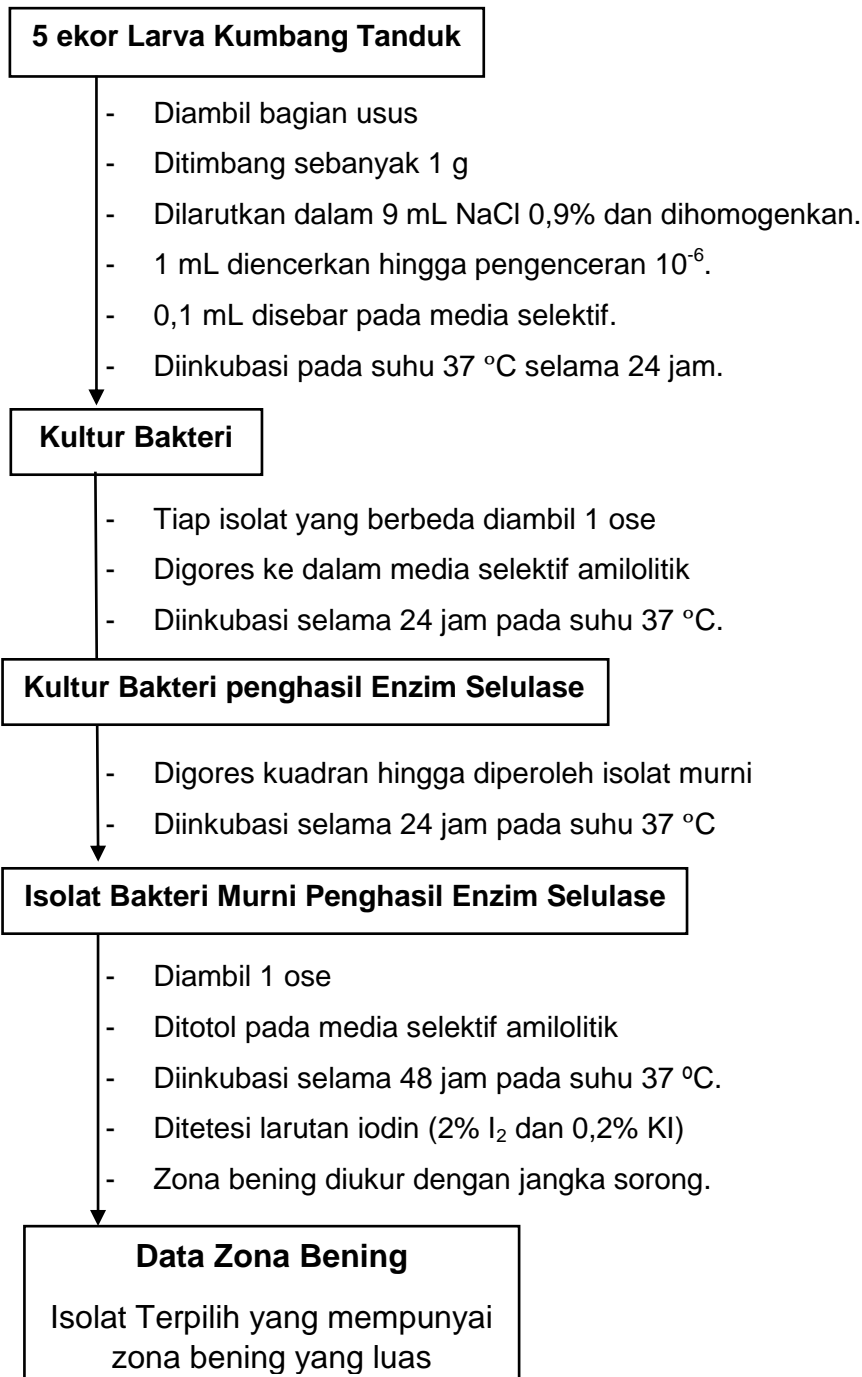
- Lehninger A. L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Thenaidjaja M. penerjemah; Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: Principle of Biochemistry.
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2019. *Perkembangan Bioetanol G2: Teknologi dan Perspektif*. Jakarta: LIPI Press.
- Madonna, S. 2014. Produksi Enzim Amilolitik dari *Bacillus megaterium* Menggunakan Variasi Kadar Pati Sagu (*Metroxylon sp.*)". *AlKaunyah Jurnal Biologi*, 7: 22–27.
- Maharani, M. M., Bakrie, M., Nurlela. 2021. Pengaruh jenis ragi, massa ragi dan waktu fermentasi pada pembuatan bioetanol dari limbah biji durian. 6(1): 57-65.
- Marheni, Edhi M., Sijabat, OS.2021. Exploration od Symbiotic Bacteria of *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) Larva from Oil Palm Empty Fruit Bunches. *Journal of Agricultural Science* 43(1): 190-197.
- Maysaroh, U. 2018. Efektivitas Pemberian Bakteri Simbion Larva *Oryctes rhinoceros* L. dan Bioaktivator Terhadap Tandan Kosong Sawit Sebagai Dekomposer Di Rumah Kaca. *Skripsi*. Medan: Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Meryandini, A., Wahyu, W., Besty, M., Titi C.S., Nisa, R., dan Hasrul, S. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara, Sains*, vol. 13 (1): 33-38.
- Meryandini, A., Wahyu, W., Besty, M., Titi CS, Nisa, R., and Hasrul, S. (2009). Isolation of cellulolytic bacteria and enzyme characterization. *Makara, Science*, 13(1). 33-38.
- Nadhifah, M. 2021. Isolasi bakteri selulolitik dari jerami padi dan uji aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat. *Skripsi*. Malang: program studi biologi fakultas sains dan teknologi universitas islam negeri maulana malik ibrahim malang.
- Nam E.S., 2004. B-galactosidase gene of *thermus thermophiles* KNOUC112 isolated from hot springs
- Nisa', K. 2018. Skrining dan Aktivitas Enzim Bakteri Selulolitik yang Berasal dari Mingdut Larva Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) (Diptera: Stratiomyidae). *Skripsi*. Jember: Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Novitasari K.D. 2017. Isolasi dan Seleksi Enzimatis Bakteri Selulolitik dari Limbah Media Tanam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*) Berbahan Serbuk Gergaji Kayu Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell.Arg). Lampung: Fakultas Tarbiyah Dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Intan.

- Pertiwi P. 2017. Karakterisasi enzim selulase yang dihasilkan khamir *Candida Utilis*. *Disertasi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Pratiwi, R., Firmansyah M.A. Pabrik bioethanol dari tandan kosong kelapa sawit dengan proses hidrolisis enzim dan fermentasi. *Tugas Akhir*. Departemen Teknik Kimia Industri: Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Purkan, Purnama H.D., Sumarsih, S. 2015. Produksi enzim selulase dari *aspergillus niger* menggunakan sekam padi dan ampas tebu sebagai inducer. *Jurnal Ilmu Dasar*, vol. 16 (2): 95-102.
- Puspitasari, K.M.D., Suwandi, dan Hartono, A.B. 2018. Process of bioethanol from rice straw with SSF acid delignification and SHF method. *e-Proceeding of Engineering*, vol. 5 (1): 954-957.
- Putri, C.N., dan Budi U. 2017. Pembuatan bioetanol dengan cara hidrolisis menggunakan kertas koran bekas serta pemurnian menggunakan agen pengering ($MgSO_4$, Na_2SO_4 , dan $CaCl_2$). *Journal Cis-Trans (JC-T)*, vol. 1 (1): 10-13.
- Riksawan, R. N. 2021. Produksi bioetanol dari limbah jerami padi berbantuan enzim selulase termobilisasi dari limbah baglog jamur tiram. *Prosiding*. Universitas Islam Indonesia.
- Sangkharak, K., Piyaporn, V., and Siripa, J. 2011. Isolation of novel cellulase from agricultural soil and application for ethanol production. *Advanced Biotechnology And Research*, vol. 2 (2): 230-239.
- Sari, E. P., Fani, P. A., Abubakar, Mukhlisien. 2020. Proses hidrolisis dan fermentasi tandan kosong kelapa sawit sebagai bahan baku bioetanol. *Jurnal Inovasi Ramah Lingkungan*, 1(3): 16-19.
- Sari, R. F., 2010. Optimasi aktivitas selulase ekstrakurikuler dari isolat bakteri RF-10. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. *Institut Pertanian Bogor*.
- Saropah, D.A., Akyunul, J., A., dan Anik, M. 2012. Kinetika Reaksi Enzim Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy* vol. 2 (1): 34-45.
- Sijabat, O.S.B. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Simbion Larva *Oryctes Rhinoceros* L. Dari Batang Sawit Dan Tankos Melalui Uji Biokimia Dan Molekuler Serta Peranan Bakteri Terhadap Pengomposan. Tesis. Medan: Program Magister Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Silitonga, D.E., Darma, B., dan Marheni. 2013. Penggunaan Suspensi Baculovirus Terhadap *Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera : Scarabaeidae) di Laboratorium. *Agroekoteknologi*, vol. 1 (4): 1018-1023.

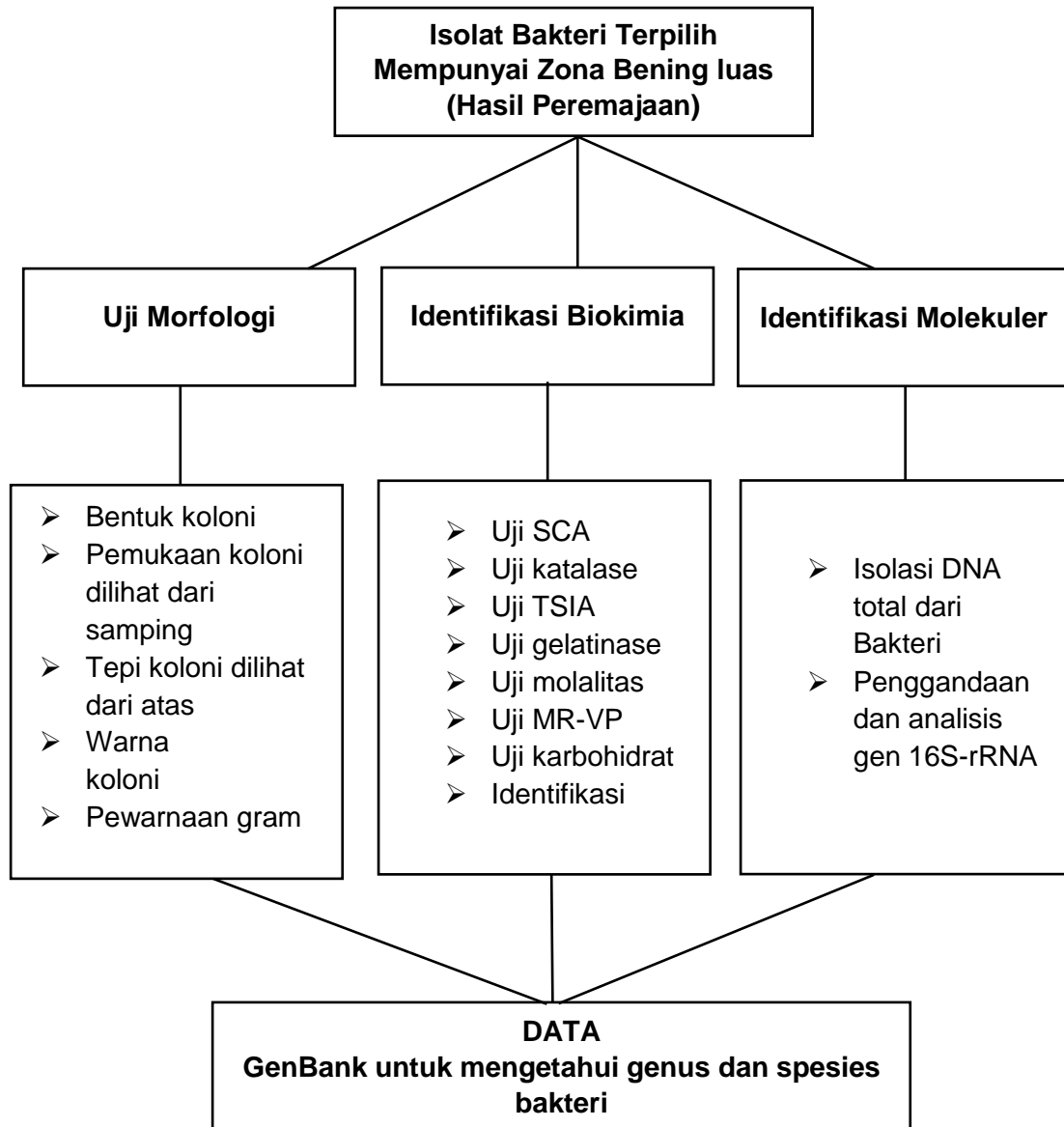
- Sinatari, H.M., Aminin, A.L.N., dan Sarjono, P.R. 2013. Pemurnian Selulase dari Isolat KB Kompas Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat. *J.Chem Info*, vol. 1 (1): 130-140.
- Sriariyanun, M., Prapakorn T., Patchanee, Y., Peerapong P., and Kraipat, C. 2016. Production, Purification And Characterization Of An Ionic Liquid Tolerant Cellulase From Bacillus Sp. Isolated From Rice Paddy Field Soil. *Electronic Journal of Biotechnology* 19: 23–28.
- Sukmawati, S. (2018). Isolation of cellulolytic bacteria from banana peel waste. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 2(1), 46-52.
- Sulfida, D. 2020. Analisis ekstrak selulosa dari rumput laut merah hypnea spinella. *Skripsi*. Banda Aceh: Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Darussalam-Banda Aceh.
- Sulyman, A.O., Igunnu, A., Malomo, S.O.. 2020. Isolation, purification and characterization of cellulase produced by *Aspergillus niger* cultured on arachis hypogaea shells. *Heliyon*. 6: 56-68.
- Susanto, A.P., Dongoran, Fahridayanti, Lubis, A.F., Prasetyo, A. 2005. Pengurangan populasi larva oryctes rhinoceros pada sistem lubang tanam besar. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 13 (1): 19.
- Tamura, K., Daniel, P., Nicholas, P., Glen, S., Masatoshi, N., & Sudhir, K. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28(10), 2731-2739.

Lampiran 1: Bagan Kerja Penelitian

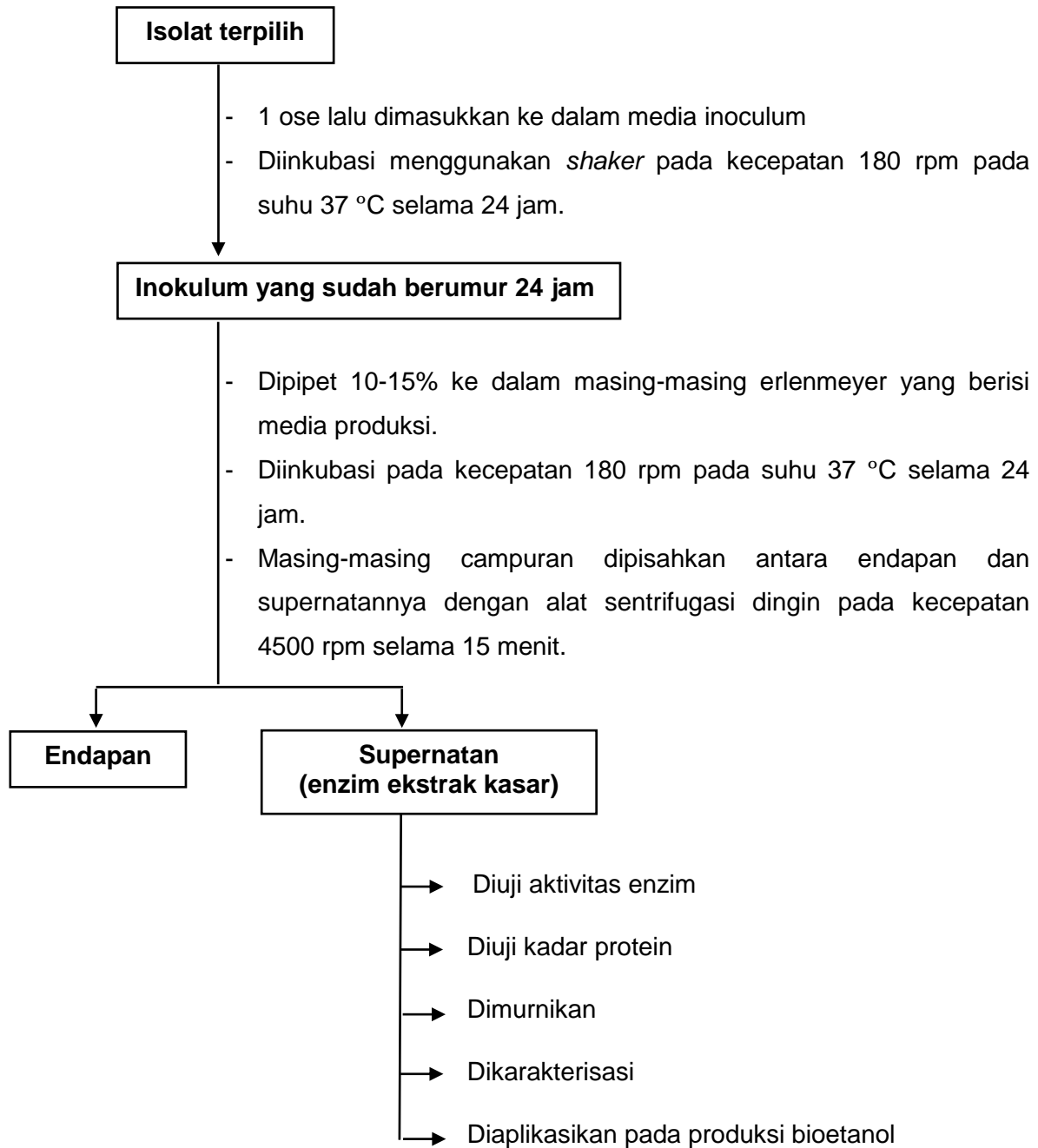
A. Isolasi dan Skrining Bakteri Simbion dari Larva Kumbang Tanduk



B. Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Selulase Secara Makroskopik, Mikroskopik dan Uji Biokimia



C. Produksi Enzim Selulase



D. Penentuan Aktivitas Enzim Selulase Secara Kuantitatif

- Penentuan Aktivitas Enzim

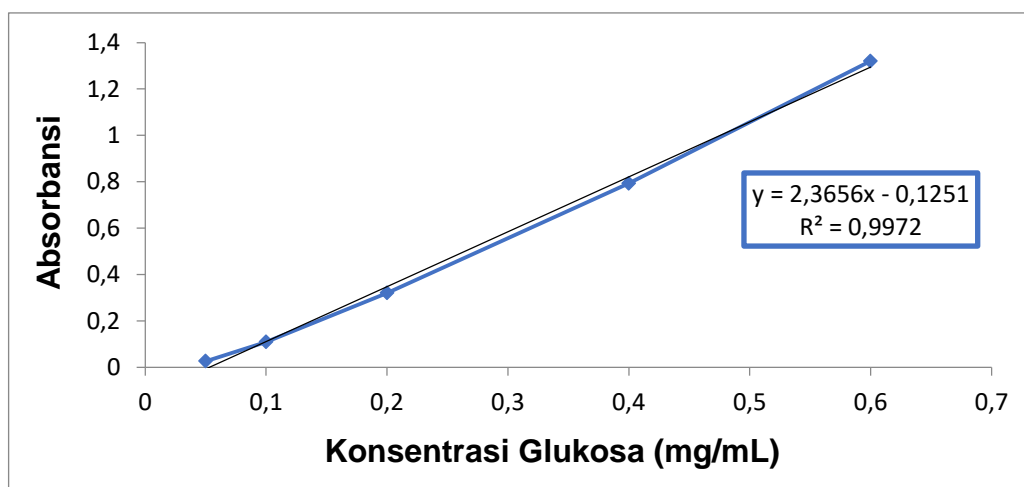
Buffer fosfat 50 mM pH 7

- Diambil 1 mL + 1 mL pati terlarut 2%
- Diinkubasi pada suhu 37 °C + 1 mL ekstrak kasar enzim amilase
- Dinkubasi kembali pada suhu 37 °C selama 30 menit
- + 3 mL pereaksi DNS
- Dipanaskan selama 5 sampai 10 menit
- Didinginkan dalam air es.
- Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada λ -max 540 nm

Data absorbansi

- Data kurva kalibrasi standar glukosa $\lambda=540$ nm pada Berbagai konsentrasi

No	Konsentrasi Glukosa (mg/mL)	Absorbansi Glukosa ($\lambda=540$ nm)
1	Blanko	0
2	0.05	0,026
3	0.1	0,109
4	0.2	0,320
5	0.4	0,793
6	0.6	1,320



Sampel	Absorbansi	fp	[glukosa] mg/mL	Aktivitas Enzim (U/mL)
PES1	0.068	2	0,0816	0,0302
PES2	0.049	2	0,0738	0,0273
PES3	0.082	2	0,0875	0,0324
PES4	0.079	2	0,0861	0,0318
PES5	0.081	2	0,0873	0,0323

- Perhitungan Konsentrasi Glukosa dengan Menggunakan Persamaan:

$$Y = 2.3656x - 0.1251$$

$$X = \frac{y + 0.1251}{2.3656}$$

Y = Absorbansi
X = [Glukosa] mg/mL

Diketahui absorbansi (y) = 0.068 dengan Faktor Pengenceran (fp) 2 kali

$$[\text{glukosa}] = \frac{y + 0.1251}{2,3656}$$

$$= \frac{0.068 + 0,1251}{2,3656}$$

$$= 0,0816 \text{ mg/mL}$$

- Contoh perhitungan aktivitas enzim selulase menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{[\text{Glukosa}] \times Fp \times VS}{BM \times VE \times t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol}$$

Keterangan:

[Glukosa]	= Kadar glukosa (ppm)
BM	= Bobot molekul glukosa (mg/mL)
Fp	= Faktor pengenceran
VE	= Volume enzim yang digunakan (mL)
VS	= volume substrat (mL)
t	= Waktu inkubasi (Menit)

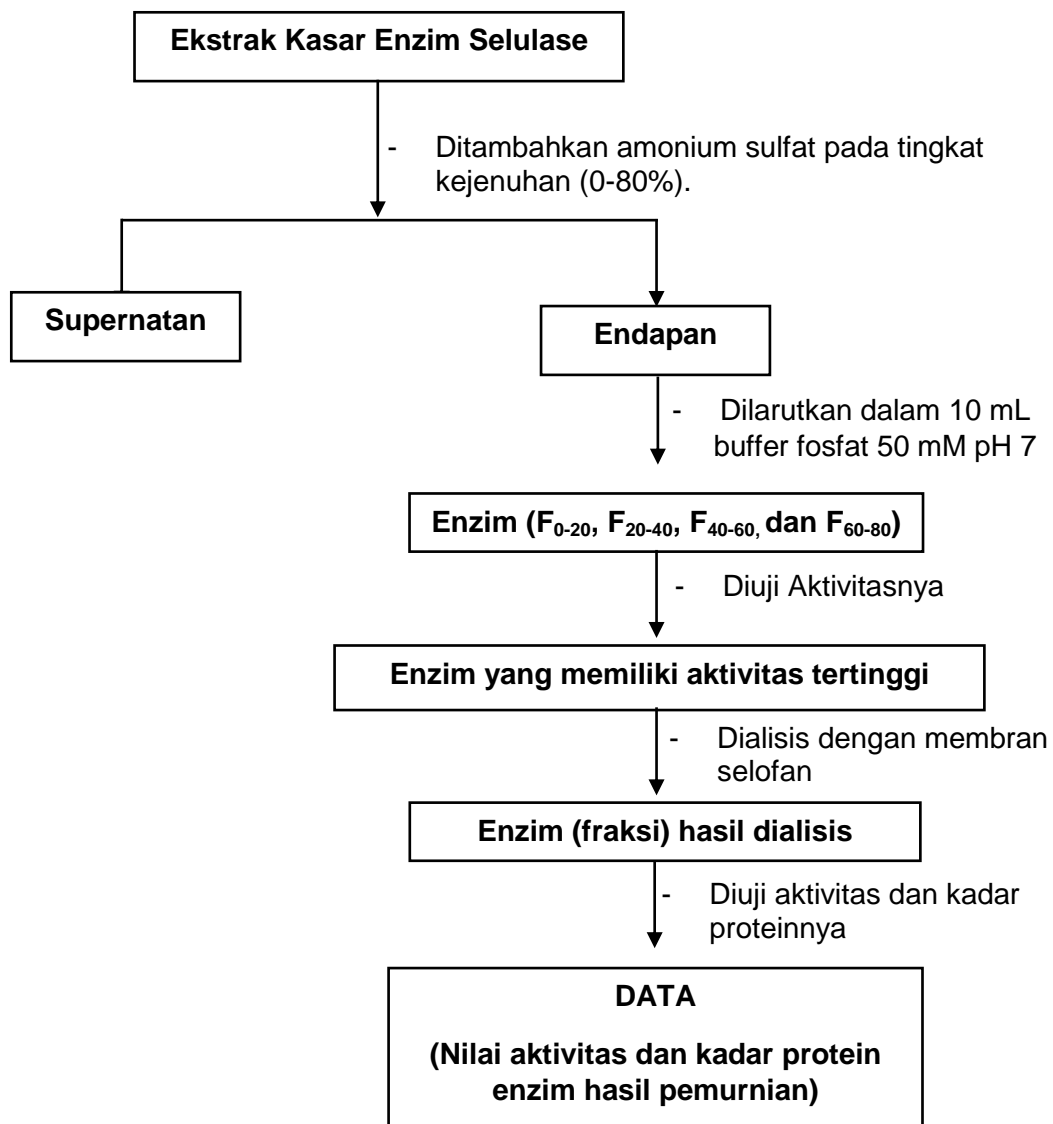
Diketahui :

[Glukosa]	= 0.0816 mg/mL
Volume Enzim	= 1 mL
Waktu Inkubasi	= 30 menit
BM Glukosa	= 180 mg/mmol

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[\text{Glukosa}] \times Fp \times VS}{\text{BM} \times \text{VE} \times t} \\
 &= \frac{0.0816 \times 2 \times 1}{180 \times 1 \times 30} \\
 &= 0,0302 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Satu unit enzim selulase adalah jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 μmol gula reduksi (glukosa) permenit pada kondisi optimum enzim.

E. Pemurnian Enzim Selulase

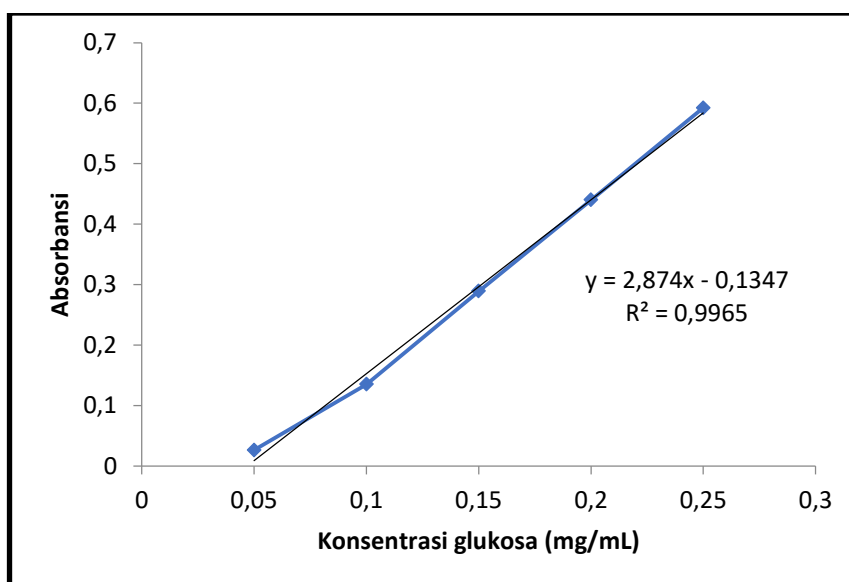


F. Penentuan aktivitas enzim dan kadar protein enzim setelah pemurnian

1. Penentuan aktivitas enzim

- Data kurva kalibrasi standar glukosa $\lambda=540$ nm pada Berbagai konsentrasi

No.	Konsentrasi Glukosa (mg/mL)	Absorbansi ($\lambda = 540$ nm)
1	0,05	0,026
2	0,1	0,135
3	0,15	0,289
4	0,2	0,44
5	0,25	0,592



Sampel	Absorbansi ($\lambda = 540$ nm)	fp	[Glukosa] (mg/mL)	Aktivitas Selulase (U/mL)
Ekstrak kasar	0.270	1	0,1408	0,0260
F1	0.023	3	0,0548	0,0304
F2	0.052	3	0,0649	0,0360
F3	0.141	3	0,0959	0,0532
F4	0.024	3	0,0552	0,0306
Dialisis	0.047	5	0,0617	0,1144

- Perhitungan konsentrasi glukosa dengan menggunakan persamaan berikut:

$$Y = 2.874x - 0.1347$$

$$X = \frac{y + 0.1347}{2.874}$$

Y = Absorbansi
X = [Glukosa] mg/mL

Diketahui absorbansi (y) = 0.270 Faktor Pengenceran (fp) 1 kali

$$[\text{glukosa}] = \frac{y + 0.1347}{2.874}$$

$$= \frac{0.270 + 0.1347}{2.874}$$

$$= 0.1408 \text{ mg/mL}$$

- Contoh perhitungan aktivitas enzim selulase menggunakan persamaan berikut:
:

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{[\text{Glukosa}] \times Fp \times VS}{BM \times VE \times t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol}$$

Keterangan:

- [Glukosa] = Kadar glukosa (ppm)
 BM = Bobot molekul glukosa (mg/mL)
 Fp = Faktor pengenceran
 VE = Volume enzim yang digunakan (mL)
 VS = volume substrat (mL)
 t = Waktu inkubasi (Menit)

Diketahui :

- [Glukosa] = 0.1408 mg/mL
 Volume Enzim = 1 mL
 Volume substrat = 1 mL
 Waktu Inkubasi = 30 menit
 BM Glukosa = 180 mg/mol

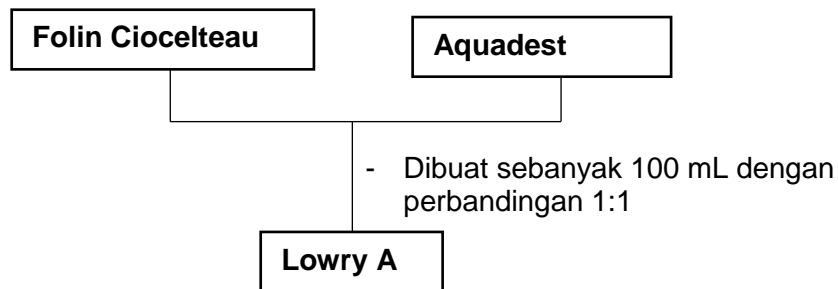
$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{0.1408 \times 1 \times 1}{180 \times 1 \times 30}$$

$$= 0.0260 \text{ U/mL}$$

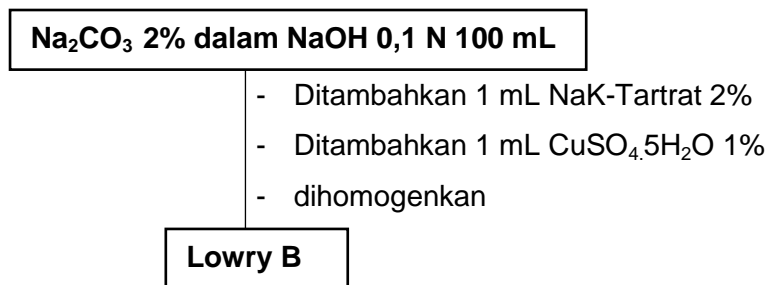
Satu unit enzim selulase adalah jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 μ mol gula reduksi (glukosa) permenit pada kondisi optimum enzim.

2. Pengukuran Kadar Protein

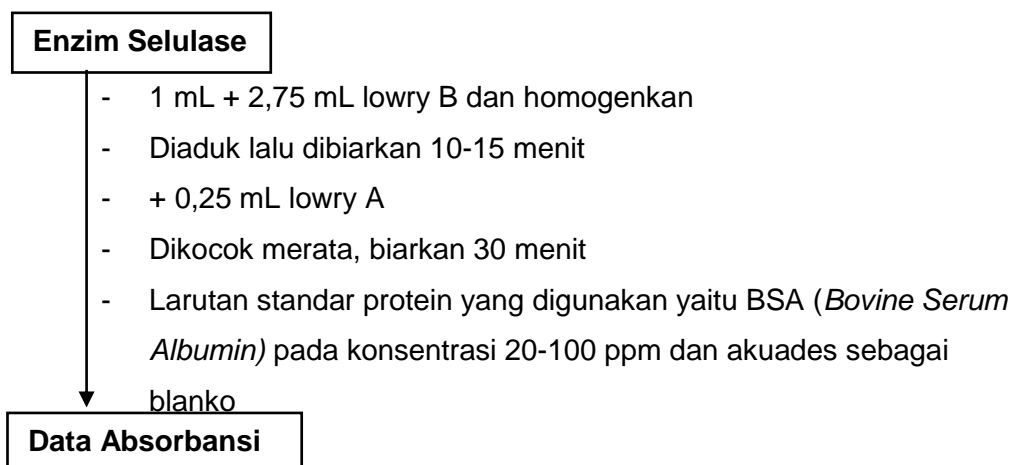
1. pembuatan lowry A



2. pembuatan lowry B

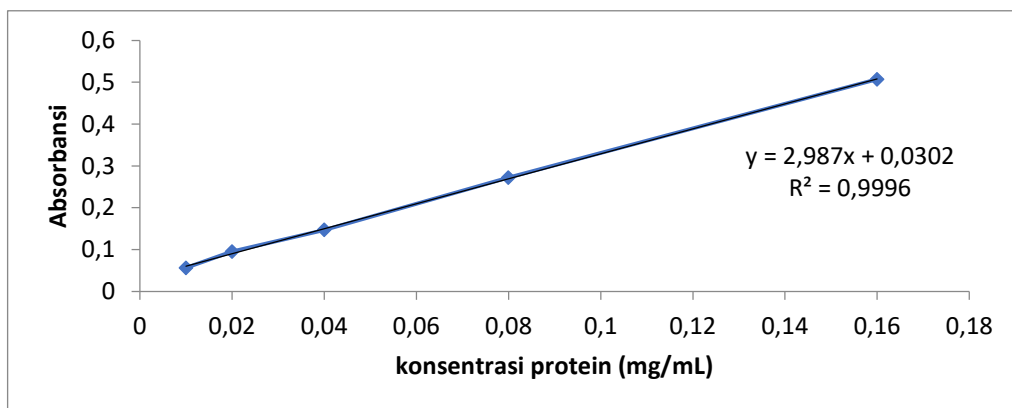


3. pengukuran kadar protein dengan λ maks = 660 nm



- Absorbansi Larutan Standar BSA pada berbagai Konsentrasi

No	Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi (nm)
1	Blanko	0
2	0,01	0,056
3	0,02	0,095
4	0,04	0,147
5	0,08	0,272
6	0,16	0,507



Sampel	Absorbansi	Fp	[Protein] mg/mL	Aktivitas Enzim (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg protein)
Ekstrak kasar	0.540	50	8.5336	0,0260	0,003
Fraksi 0-20%	0.473	50	7.4121	0,0304	0.004
Fraksi 20-40%	0.457	50	7.1442	0,0360	0.005
Fraksi 40-60%	0.216	50	3.1101	0,0532	0,017
Fraksi 60-80%	0.195	50	2.7586	0,0306	0.011
Dialisis	0.197	50	2.7920	0,1144	0,039

- Contoh perhitungan kadar protein sampel menggunakan persamaan:

$$Y = 2.987x + 0.0302$$

$$X = \frac{y - 0.0302}{2.987}$$

Keterangan:

Y= Absorban (nm)

X= [BSA] mg/mL

Diketahui absorbansi (y) = 0.540

$$\begin{aligned} \text{Kadar Protein} &= \frac{0.540 - 0.0302}{2.987} \\ &= 0.1706 \text{ mg/mL} \times 50 \\ &= 8.5336 \end{aligned}$$

- Contoh penentuan aktivitas spesifik enzim selulase dengan persamaan berikut:

$$\text{Aktivitas spesifik (U/mg)} = \frac{\text{Total aktivitas}}{\text{Total Protein}}$$

Keterangan:

Aktivitas total (U) = volume enzim (ml) x aktivitas (U/mL)

Total protein (mg) = volume enzim (mL) x kadar protein

Diketahui;

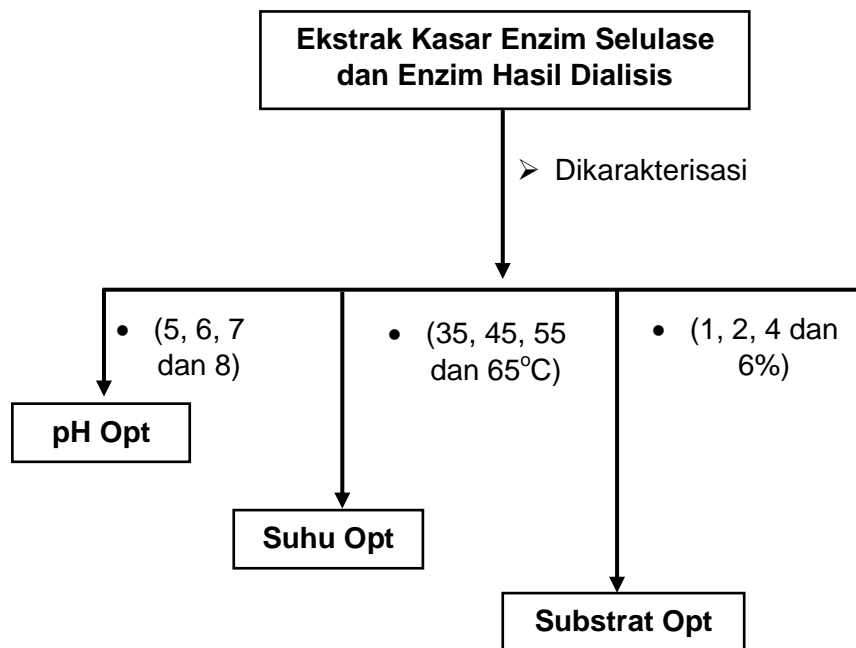
Aktivitas total (U) = 1 x 0.0260 = 0.0260 U

Total protein (mg) = 1 x 8.5336 = 8.5336 mg

Jadi,

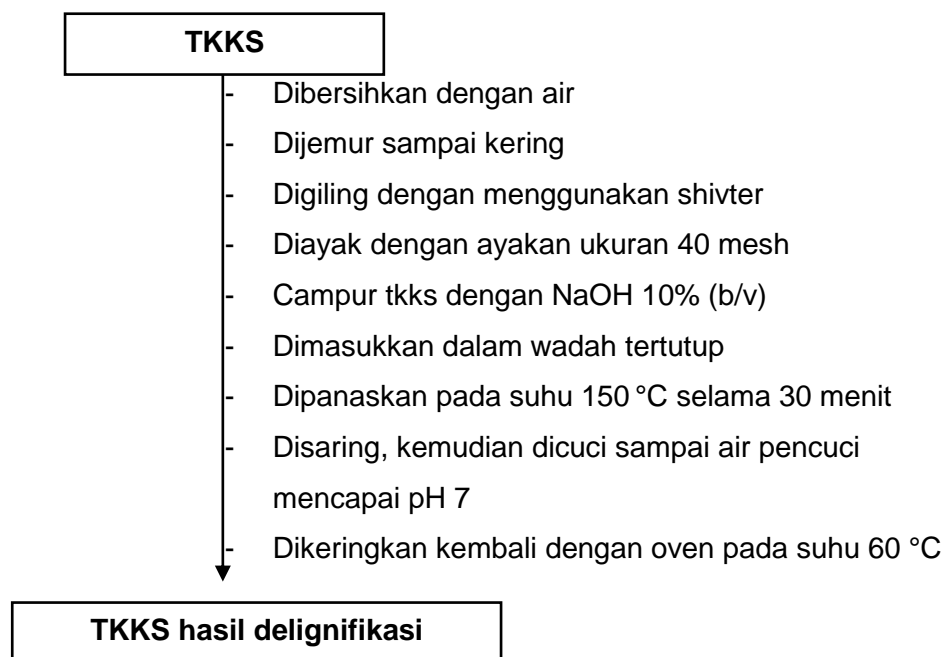
$$\begin{aligned} \text{Aktivitas spesifik} &= \frac{0.0260 \text{ U}}{8.5336 \text{ mg}} \\ &= 0.003 \text{ U/mg} \end{aligned}$$

G. Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri Larva Kumbang Tanduk

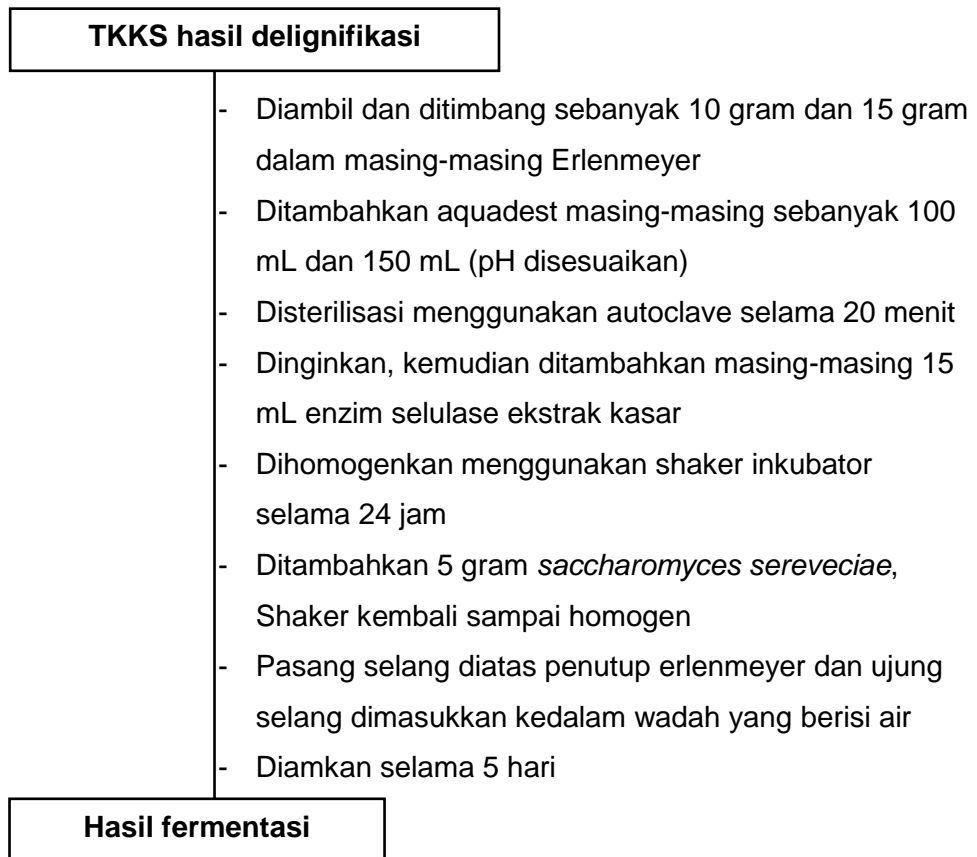


H. Aplikasi Enzim Selulase ekstrak kasar dalam produksi bioetanol dari TKKS

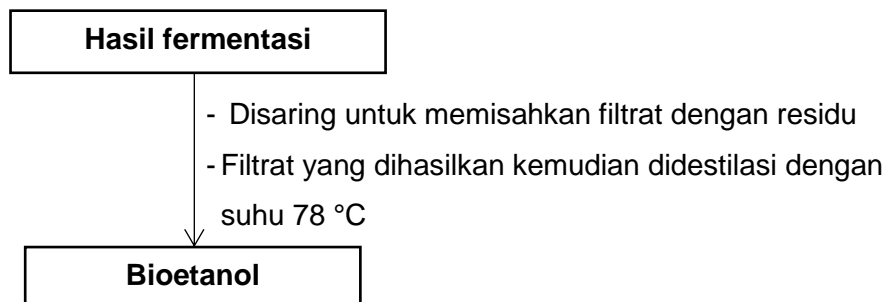
1. Delignifikasi



2. Hidrolisis dan Fermentasi dengan metode SSF



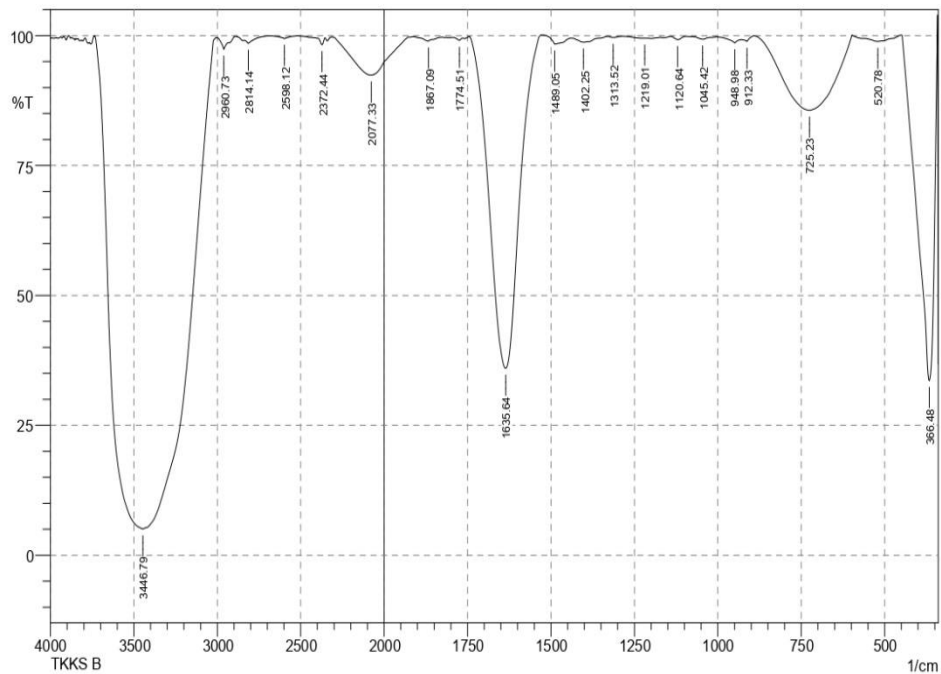
3. Destilasi



I. Karakterisasi Bioetanol

1. Penentuan gugus fungsi dengan menggunakan FTIR

SHIMADZU

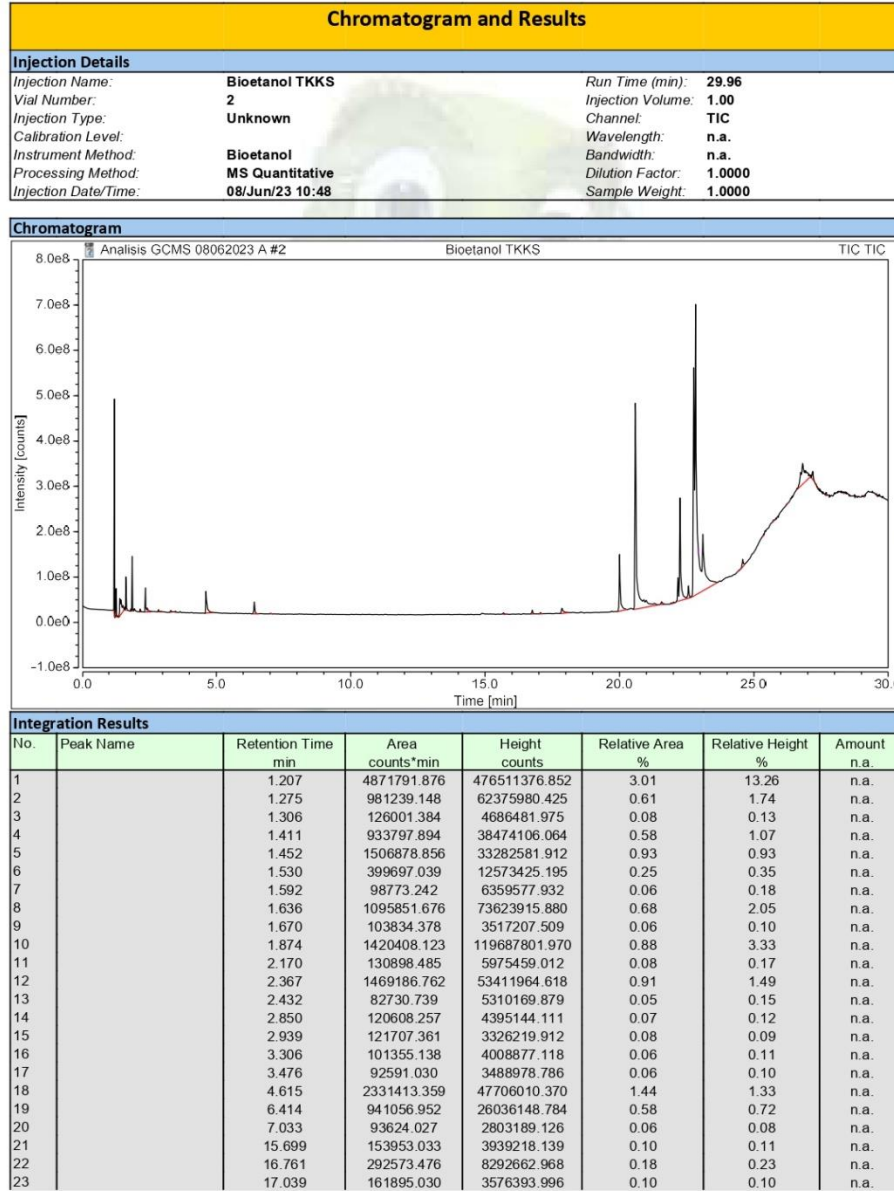


	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	366.48	33.624	63.706	447.49	343.33	22.04	21.239
2	520.78	98.875	0.823	565.14	451.34	0.351	0.235
3	725.23	85.626	14.402	891.11	597.93	11.273	11.298
4	912.33	98.88	0.68	929.69	893.04	0.108	0.04
5	948.98	98.561	0.782	995.27	929.69	0.228	0.069
6	1045.42	99.294	0.5	1097.5	1002.98	0.155	0.073
7	1120.64	99.221	0.618	1141.86	1097.5	0.09	0.059
8	1219.01	99.472	0.056	1284.59	1209.37	0.122	0.015
9	1313.52	99.627	0.222	1330.88	1284.59	0.051	0.022
10	1402.25	98.698	0.303	1435.04	1390.68	0.195	0.032
11	1489.05	98.337	0.593	1519.91	1477.47	0.148	0.015
12	1635.64	35.953	64.012	1743.65	1529.55	36.667	36.634
13	1774.51	99.048	0.516	1791.87	1764.87	0.074	0.025
14	1867.09	98.934	0.799	1913.39	1826.59	0.225	0.125
15	2077.33	92.371	7.292	2297.22	1928.82	7.541	6.998
16	2372.44	98.22	1.34	2441.88	2355.08	0.286	0.129
17	2598.12	99.427	0.498	2690.7	2524.82	0.173	0.12
18	2814.14	98.471	0.739	2837.29	2690.7	0.4	0.084
19	2960.73	97.374	1.634	3005.1	2931.8	0.46	0.176
20	3446.79	5.083	94.714	3734.19	3005.1	471.27	470.525

2. Penentuan Kadar dan kandungan senyaa pada Bioetanol

Instrument: GCMS_UIN Sequence: Analysis GCMS 08062023 A

Page 1 of 2



Default/Integration

Chromleon (c) Dionex
Version 7.2.10.23925

K. Hasil Sequencing 16S rRNA Reversed dari Bakteri Isolat PES3 dan PES5

Urutan DNA Isolat Bakteri PES3:

```
>1st_BASE_4513734_S3_63F
GANAGTGCTTGCACCTTATCTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCTTAGGAATCTGCCTA
TTAGTGGGGGACAACATTCCGAAAGGAATGCTAATACCGCATACGTCTACGGGAGAAAAG
CAGGGGATCTTCGGACCTTGCCTAATAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGG
GGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTG
GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGG
GGAAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCATTATGGTTGTAAAGCACTT
TAAGCGAGGAGGAGGCTACTGAGACTAATACTCTTGGATAGTGGACGTTACTCGCAGAAAT
AAGCACC GGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCG
GATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGCGGCTTTTTAAGTCGGATGTGAAATCCCCGAG
CTTAACCTTGGGAATTGCATTTCGATACTGGGAAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAAT
TCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCA
TCTGGCCTAATACTGACGCTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCATGCCGTAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTAGTGGC
GCAGCTAACCGGATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAAC TCAAATG
AATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGA
ACCTTACCTGGCCTTGACATACTAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAT
CTAGATAACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCC
CGCAACGAGCGCAACCCTTTTCTTACTTGCCAGCATTTCGGATGGGAAC TTTAAGGATA
CTGCCAGTGACAAC TGGAGGAAGGCGGGACGACGTCAGTCATCATGGCCCTTACGGCCA
GGGCTACCACGTGCTACATGGTTCGGTACAAGGGTTGCTACCAGCGATNGNTGCTATCTCA
AAAGCCGATCTAATCCGGATGGNGTTGCACTCGACTCCTGANATCGGAATCCTNTAATCC
GGATCAAAGC
```

Sequencing Producing Significant Alignment PES3:

Description	Ident (%)	Accession Number
Acinetobacter junii strain 65 chromosome, complete genome	98.12%	CP019041.1
Acinetobacter junii strain KMDH2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	98.12%	KU844044.1
Acinetobacter junii strain ISRKG01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	98.12%	OP265396.1
Acinetobacter junii gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NBRC 110497	98.12%	LC014149.1
Acinetobacter sp. strain PBSCIFE-40 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	98.12%	ON681591.1

Urutan DNA Isolat Bakteri PES5:

```

>1st_BASE_4513735_S5_63F
CGGTNGGACTTGCTCCTGATTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTG
GTAGTGGGGGATAACGTTCCGAAAGGAACGCTAATACCGCGTACGTCTACGGGAGAAAG
CAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTG
GAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGG
CGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAGCACTT
TAAGTTGGGAGGAAGGGCTGCTGGTTAATACCCTGCAGTTTTGACGTTACCAACAGAATA
AGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTAATCGG
AATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTCTGTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGC
TCAACCTGGGAACTGCCTCCAAAACCTGCCTGACTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAAT
TCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCAC
CTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCCAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCT
GGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATTTTAGTGCCG
CAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGA
ATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAA
CCTTACCTGGCCTTGACATGCTGAGAACCTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACT
CAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC
GTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTCTAAGGAGAC
TGCCGGTGACAACCCGGAGGAAGGGTGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCA
GGGCTACCACGTGCTACATGGTCCGTACAAGGGTTGCCAAGCCGNNAGGTGGACTAATCC
ATAAAACGATCGAATCGGATCNATNTGCACTCCACTGNTGAATCGGATCCTATAATCTGA
ATCAA

```

Sequencing Producing Significant Alignment PES5:

Description	Ident (%)	Accession Number
<i>Pseudomonas guguanensis</i> strain A52 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	97.34%	MN252088.1
<i>Pseudomonas mendocina</i> strain MAE1-K chromosome, complete genome	97.34%	CP023641.1
<i>Pseudomonas guguanensis</i> 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	97.34%	KU302611.1
<i>Pseudomonas guguanensis</i> strain HY-64 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	97.34%	MZ895423.1
<i>Pseudomonas guguanensis</i> strain Iraqi ZG.K.M. 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	97.34%	OM349622.1

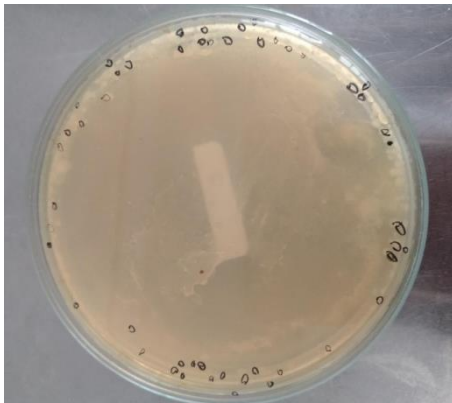
Lampiran 2. Lampiran Gambar



Larva kumbang tanduk



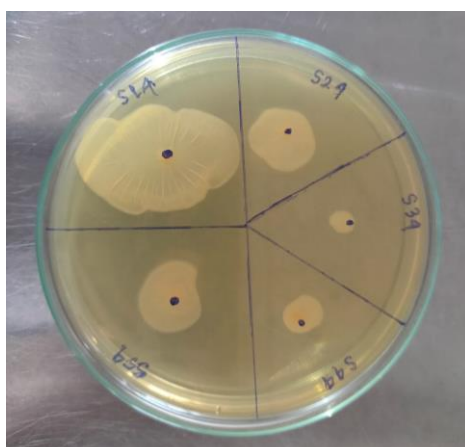
Usus larva kumbang tanduk



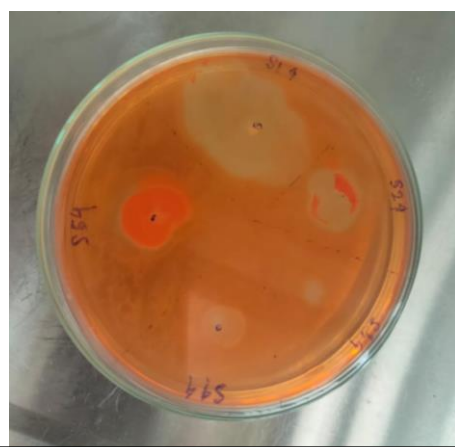
Pertumbuhan Isolat Bakteri



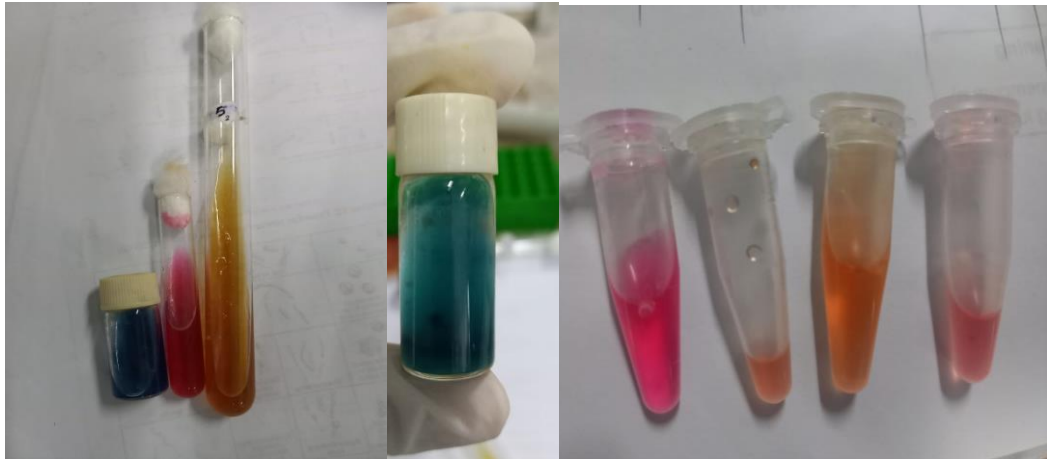
Pemurnian isolate bakteri terpilih



Pertumbuhan isolat sebelum pewarnaan gram



Hasil pewarnaan gram dengan congo red



Uji biokimia isolat terpilih



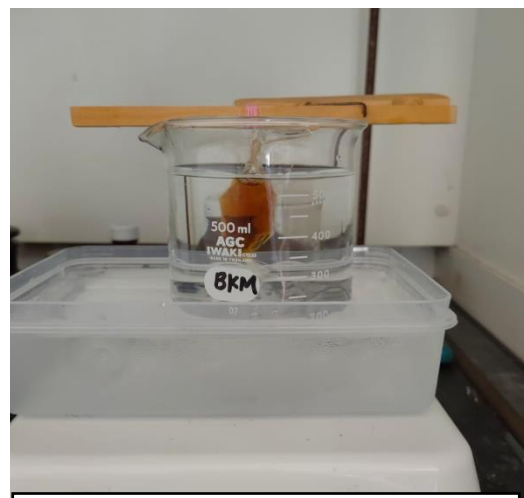
Proses produksi enzim selulase



Uji aktivitas enzim metode DNS



Pengukuran Kadar Protein



Pemurnian Enzim selulase
(Dialisis)



Karakterisasi enzim selulase



Penentuan profil protein metode SDS-PAGE



Sampel TKKS Hasil Penggilingan 40 mesh



Delignifikasi



Hidrolisis TKKS produksi bioetanol



Fermentasi bioetanol



Destilasi hasil fermentasi



Karakterisasi bioetanol