

DAFTAR PUSTAKA

- Akihary, C.V. dan Kolondam, B. J., 2020 Pemanfaatan Gen 16S rRNA sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri untuk Penelitian-Penelitian di Indonesia, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **9**(1): 16-22
- Arfah, R. A., 2016, *Isolasi, Pemurnian, dan Karakterisasi Enzim α -amilase dari Bakteri Termofil Sumber Air Panas Lejja Sulawesi Selatan dan Aplikasi dalam Hidrolisis Pati Sagu Menjadi Maltodekstrin*, Disertasi tidak diterbitkan, Sekolah Pasca Sarjana, Universitas Hasanudin, Makassar.
- Arfah, R. A., Patong, R., Ahmad, A., dan Djide, M. N., 2014, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofil Penghasil Amilase dari Sumber Air Panas Lejja Sulawesi Selatan, *Al-kimia Jurnal Penelitian Sains Kimia*, **2**(2): 36-46.
- Azhar, M. Syukur, S., Natalia, D., Fitri, M., Vionica, V. dan Jamsari, 2013, Identifikasi Gen 16S rRNA Bakteri Termofilik yang Memperlihatkan Aktivitas Enzim Penghidrolisis Inulin Tipe Exo- Dari Sumber Air Panas Rimbo Panti, *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*, **2**(3): 163-171.
- Azhar, M. Syukur, S., Natalia, D., Fitri, M., Vovien, Jamsari, and Munaf, E., 2013, Characterization of Extracellular Enzym and Identification of Inulin Degrading Bacteria from hot Springs in West Sumatra, Indonesia, *Int.J.Chem.*, **2**(1): 33-41.
- Azhar, M. dan Oktavia, B., 2014, Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Inulin yang Potensial untuk Pembuatan Fruktosa dari Sumber Air Panas di Solok Dan Rizosfer Umbi Dahlia, Disertasi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Universitas Negeri Padang, Sumatra Barat.
- Azhar, M., Abda, Y., Ihsanawati, puspasari, F., Marwani, S., Risa B., Natalia, D., 2017, Skrining Bakteri Pendegradasi Inulin dari Rizosfer Umbi Dahlia Menggunakan Inulin Umbi Dahlia, *Eksakta*, **18**(2): 13-20.
- Boleng, D., T., 2015, *Konsep-Konsep Dasar Bakteriologi*, UMM Press, Malang.
- Castro, G.R., Baigorff, M.D. and Siheriz, F., 1995, A plate Technique for Screening of Inulin Degrading Microorganism, *Journal of Microbiological Methods*, **2**(2): 51-56.
- Coxam, V, 2005, Inulin-Type Fructans And Bone Health: State of The Art and Perspectives in The Management of Osteoporosis, *British Journal of Nutrition*, **9**(3): 111-123.

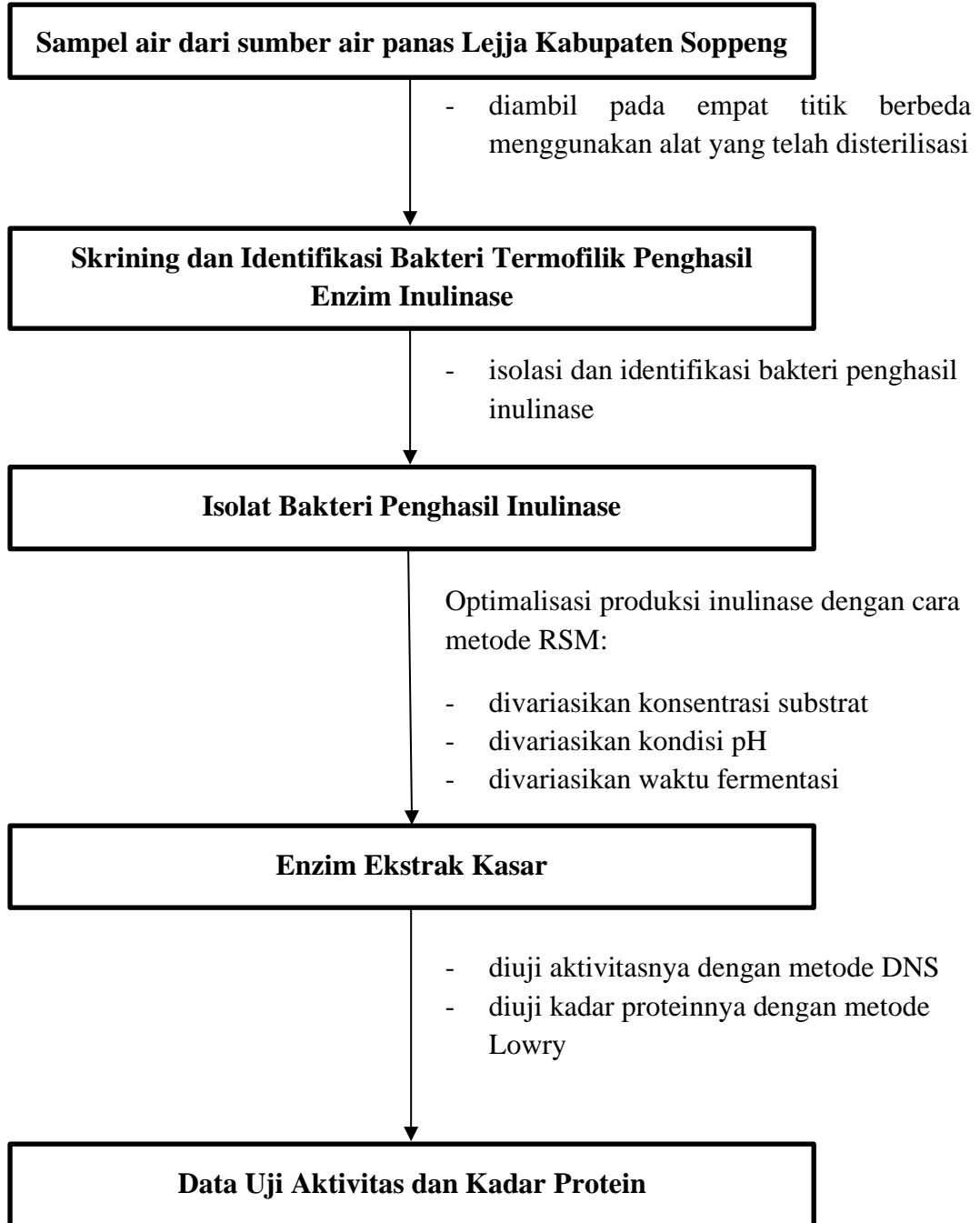
- Firliani, W., Agustien, A. dan Febria, F.A., 2015, Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Netral, *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, **4**(1): 9-14.
- Gill, P.K., Manhas, R.K. and Sigh, P., 2005, Comparative Analysis Of Thermostability Of Extracellular Inulinase Activity From *Aspergillus fumigatus* With Commercially Available (Novozyme) Inulinase, *Bioresource Technology*, **97**(2): 355-358.
- Goa, W., Boa, Y., Liu, Y., Zang, X., Wang, J. and An, L., 2009 Characterization of Thermo-stable Endoinulinase from a New Strain *Bacillus smithii* T7, *Appl Biochem Biotechnol*, **3**(2): 498-506.
- Hafsah, 2007, *Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Protease Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan sebagai Sumber Belajar Mikrobiologi*, Tesis tidak diterbitkan, Program Pascasarjana, Universitas Negeri Malang, Malang.
- Huyyirnah dan Fitriyani, 2020, Metode Penyimpanan Bakteri *Vibrio Alginolitycus* dan *Vibrio Harveyi* dalam Media TSB (Tryptic Soy Broth) dan Gliserol, *Integrated Lab Journal*, **8**(2): 91-101
- Indriyanti, W., Desviyanto R., Sulistyaningsih dan Musfiroh I., 2015, Inulin from Jombang Root (*Taraxacum officinale* Webb.) as Prebiotic in Synbiotic Yoghurt, *IJPTS*, **2**(3): 83-89.
- Irdawati, Fifendy, M., dan Biomed, M., 2011, *Isolasi Bakteri Termofilik Penghasil Amilase Dari Sumber Air Panas Rimbo Panti Pasaman*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang, Padang.
- Iqbalsyah, T.M., Febriani dan Oesman, F., 2012 Enzim-Enzim Termostabil dari *Bacillus* Isolat Jaboi Sabang: Efek Suhu Fermentasi, *Jurnal Kimia*, **2**(5): 1-10
- Jeza, S., Maseko, S.B. and Lin, J., 2017, Purification and Characterization of Exo-Inulinase from *Paenibacillus* sp. d9 Strain, *Journal of Protein*, (Online), (<https://doi.org/10.1007/s10930-017-9752-8/> diakses 5 Mei 2020).
- Karatop, R. and Sanal, F., 2015, Preliminary Characterization of Crude Inulinase Activity of *Aspergillus wentii*, *Journal of Natural Sciences*, **16**(1): 25-30.
- Kim, Kyoung-Yun, Koo, B.S., Jo, D. and Kim, S.I., 2004, Cloning, Expression and Purification Exoinulinase from *Bacillus* Sp Snu7', *Microbial Biotechnol*, **1**(4) :344-349.

- Lowry, O., Rosebrough, H.N.J., Farr, A.L. and Randal R.J., 1951, Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent, *J Biol Chem.* **193**: 265-275.
- Mahmudah, R., Baharuddin, M. dan Sappewali, 2016, Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng, *Jurnal Al-kimia*, **4**(1): 31-42.
- Ma'riffattullah, A., Azhar, M. dan Iryani, 2019, Penentuan Aktivitas Inulinase pada Substrat Inulin A1-KG dari Bakteri Mesofilik Rizosfer Umbi Dahlia (*Dahlia Sp*), *LPPM UMSB Menara Ilmu*, **8**(2):153-161
- Meenakshi, S., Umayaparvathi, S., Manivasagan, P., Arumugam, M. and Balasubramanian, T., 2012, Purification and Characterization of Inulinase from marine bacterium, *Bacillus cereus MU-31*, *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, **42**(4): 510-515
- Melanie, H., Susilowati, A., Iskandar, Y.M., Lotulung, P.D. dan Andayani, D.G., 2015. Characterization of Inulin from Local Red Dahlia (*Dahlia sp. L*) Tubers by Infrared Spectroscopy. *Procedia Chem.* **1**(6): 78–84.
- Miller, G.L, 1959, Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal Chem*, **3**(1): 426-428.
- Muharni, Juswardi dan Prihandayani, I., 2013, *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilikpenghasil Protease Dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan*, Disertasi tidak diterbitkan, FMIPA, Universitas Lampung, Sumatera Selatan.
- Noer S., 2021, Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA, *Biological Science and Education Journal*, **1**(1):1-6
- Nuryanti dan Salimy, D.H., 2008, Metode Permukaan Respon dan Aplikasinya pada Optimasi Eksperimen Kimia, *Risalah Lokakarya Komputasi*, **3**(2): 373-391.
- Octaviani, M.A., Dewi, D.R.S. dan Asrini, L.J., 2017, Optimasi Faktor yang Berpengaruh pada Kualitas Lilin Di Ud.X Dengan Metode Response Surface, *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, **16**(1): 29-38.
- Permatasari, N. U., 2019, *Eksplorasi dan Karakterisasi Biokimia Levansukrase Bakteri Halofilik melalui Kloning dan Ekspresi Heterolog Gen Levansukrase Rekombinan*, Disertasi tidak diterbitkan, Prodi Doktor Kimia, Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat.

- Pertiwi, R.M., Nurilmala, M., Abdullah, A., Nurjannah, 2020, Deteksi Bakteri Pembentuk Amina Biogenik pada Ikan Scombridae Secara Multiplex PCR, *JPHPI*, **23**(2): 359-371
- Prabudi, M., Nurtama, B. dan Purnomo, E.H., 2018, Aplikasi Response Surface Methodology (RSM) dengan Historical Data pada Optimasi Proses Produksi Burger, *Jurnal Mutu Pangan*, **5**(2): 109-115.
- Pramiadi, D., Yulianti, D. dan Rakhmawati, A., 2014, Isolasi dan uji aktivitas enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi Merapi, *Jurnal Sains Dasar*, **3**(1): 9-19.
- Purwanto, M.G.M., 2014, Perbandingan Analisis Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-Visible, *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*, **7**, (2); 1-71.
- Rini, C.S. dan Rochmah, J., 2020, *Bakteriologi Dasar*, UMSIDA Press, Sidoarjo.
- Rusdwitarsi, Y.N. and Wikandari P.R., 2014, Proteolytic Microorganisms Activity Isolatd From Hot Spring Singgahan, Tuban, *UNESA Journal of Chemistry*, **3**(3): 183-188.
- Saryono, Fitriani dan Soedjanaatmadja R.U.M.S., 2016, Beberapa Mikroorganisme Yang Menghasilkan Enzim Inulinase, Isolasi Dan Karakterisasi Enzim Dari *Aspergillus flavus*, *Chimica et Natura Acta*, **4**(3): 165-174.
- Singh, R. S., Singh, R.P. and Kennedy, J.F., 2016, Endoinulinase production by a new endoinulinase producer *Aspergillus tritici* BGPUP6 using a low cost substrate, *International Journal of Biological Macromolecules*, **9**(2): 1113-1122.
- Sjafaraenan, Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R. dan Sabran A., 2018, Profil DNA Gen Follicle Stimulating Hormone Reseptor (FSHR) pada Wanita Akne dengan Teknik PCR dan Sekuensing DNA, *Jurnal Biologi Makassar*, **3**(1): 1-11
- Suryani, Ambarsari, L., Harahap, E.S., 2009, Amplifikasi Gen 16S-rRNA Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas, Gunung Pancar Bogor, *J. Ris. Kim*, **3**(1): 83-89.
- Widowati, S., 2007, Potensi Inulin Sebagai Komponen Pangan Fungsional Dari Umbi Dahlia (*Dahliapinnata L*, *Rubrik Teknologi*, **48**(16): 76-80.
- Widodo, 2017, *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

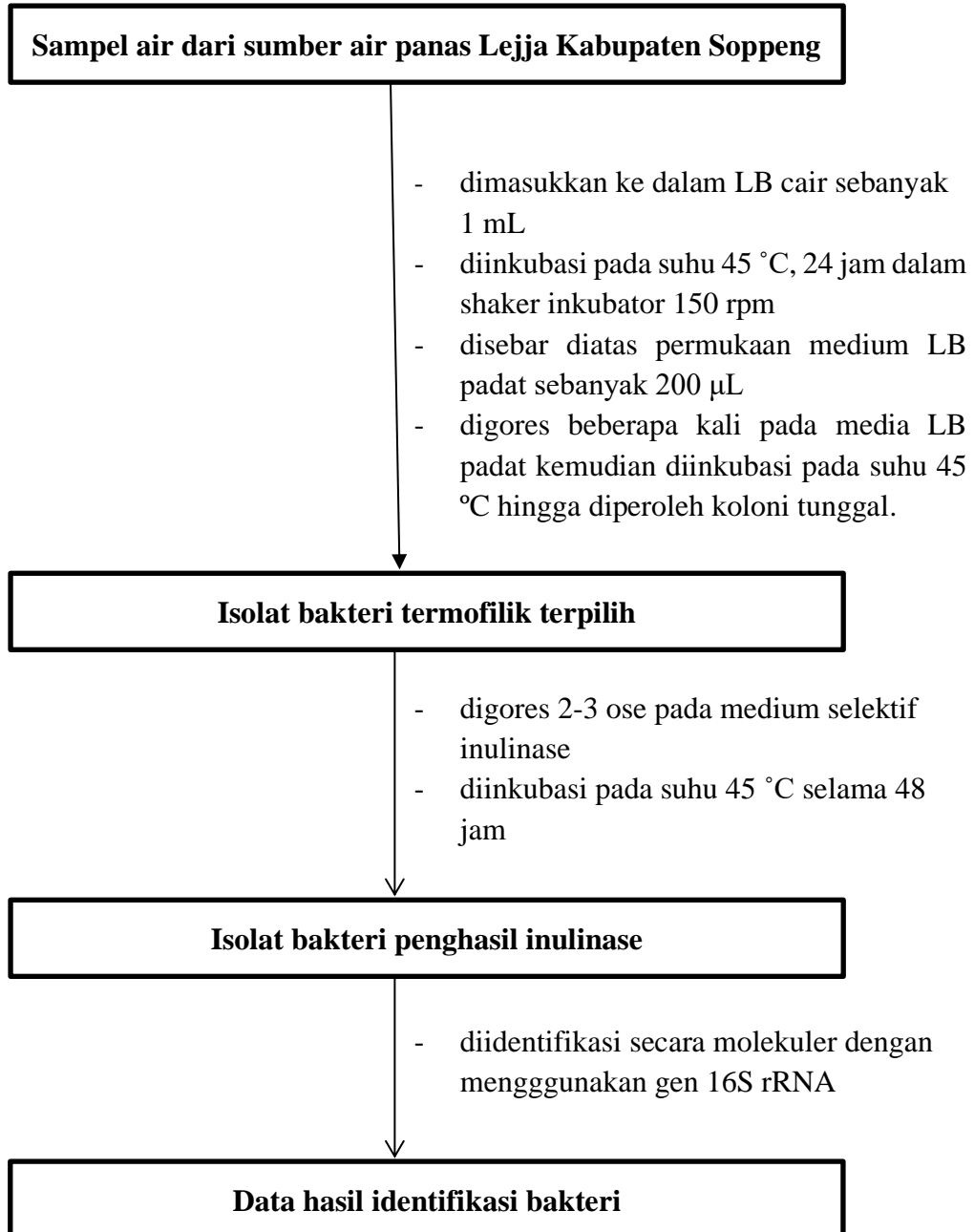
- Wijanarka dan Pujiyanto, S., 2002, Optimasi Produksi Enzim Inulinase Termostabiloleh Bakteri Termofilik Dari Umbi Dahlia (*Dahlia Variabilis*), *Jurnal Kimia*, **2**(1):1-4.
- Wijanarka, Kusdiyantini, E. dan Hermin, 2010, Optimasi Starter dalam Memproduksi Inulinase dan Identifikasi Khamir Inulinolitik BAN - 1 dari Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis Willd*), *Jurnal Biosfera*, **27**(3): 147-152
- Wijanarka, Aqlina, M. dan Kristina, 2018, Aktivitas Enzim Inulinase dan Laju Pertumbuhan Spesifik Isolat Bakteri IS-1 Pada Medium Tepung Umbi Dahlia, *Jurnal Biologi Papua*, **10**(2): 49-55.

Lampiran 1. Bagan Alir Penelitian

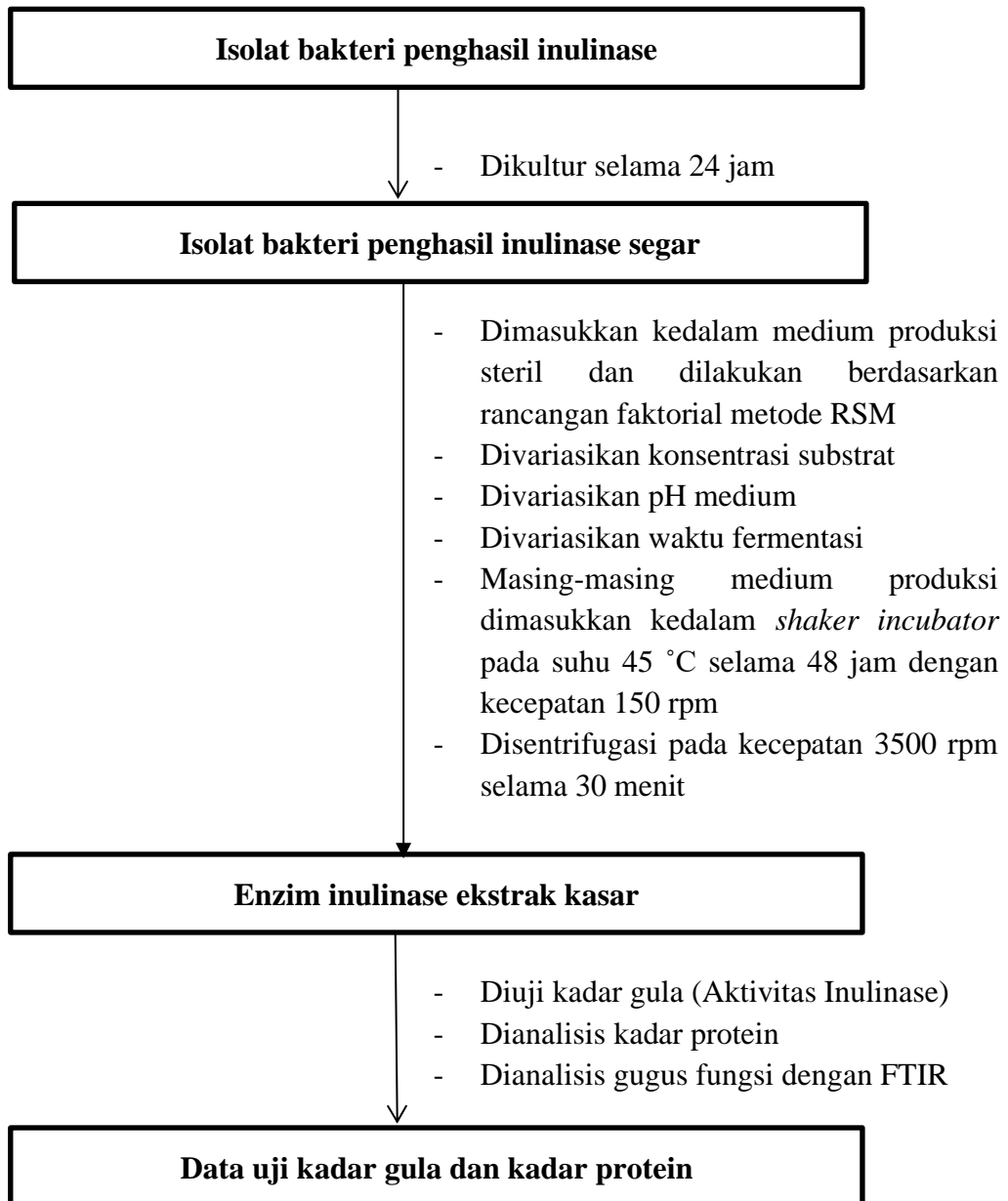


Lampiran 2. Bagan Kerja

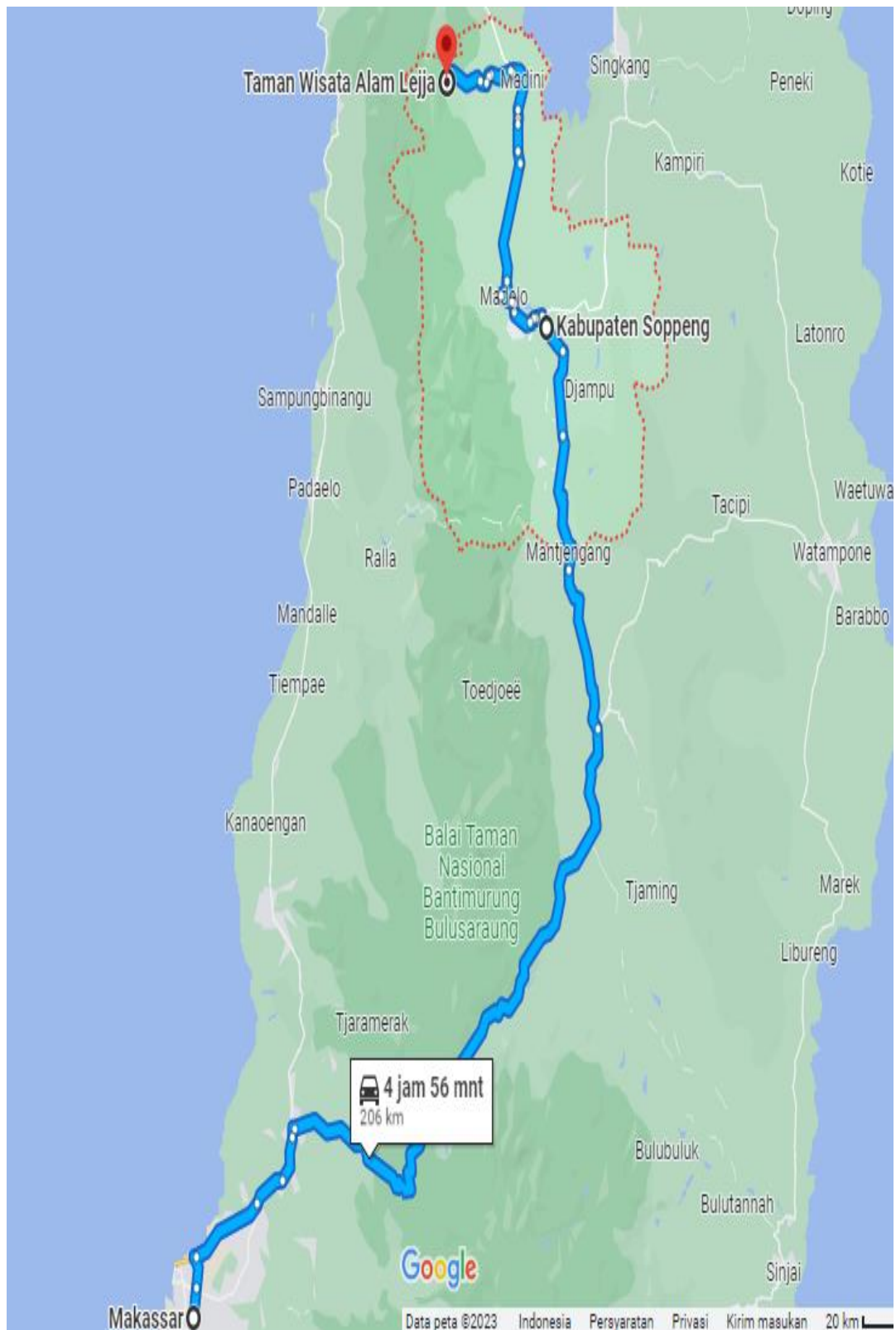
A. Skrining dan Identifikasi Bakteri Termofilik Asal Sumber Air Panas Lejja Kabupaten Soppeng Sulawesi Selatan



B. Optimalisasi Produksi Bakteri Termofilik Penghasil Inulinase
Sumber Air Panas Lejja

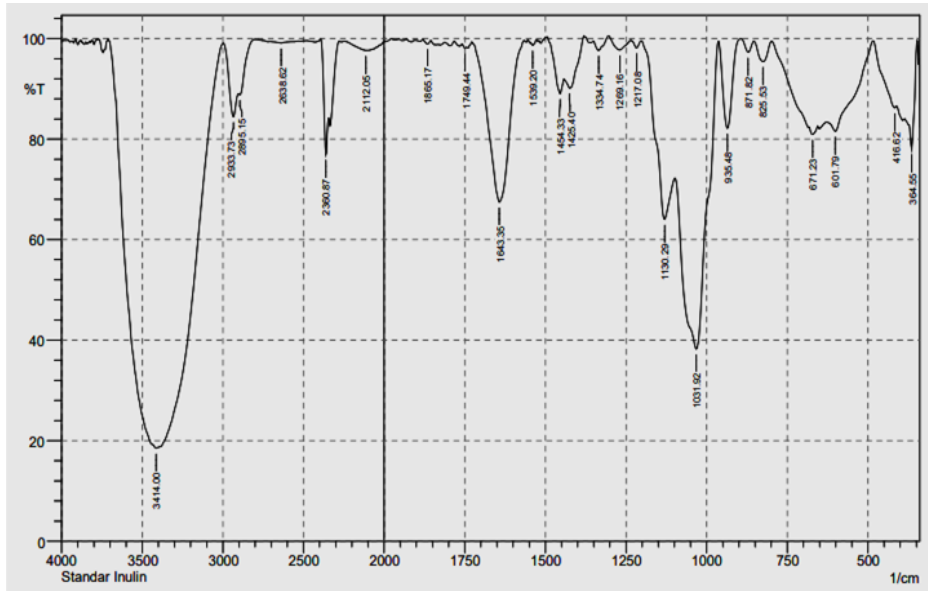


Lampiran 3. Lokasi Pengambilan Sampel

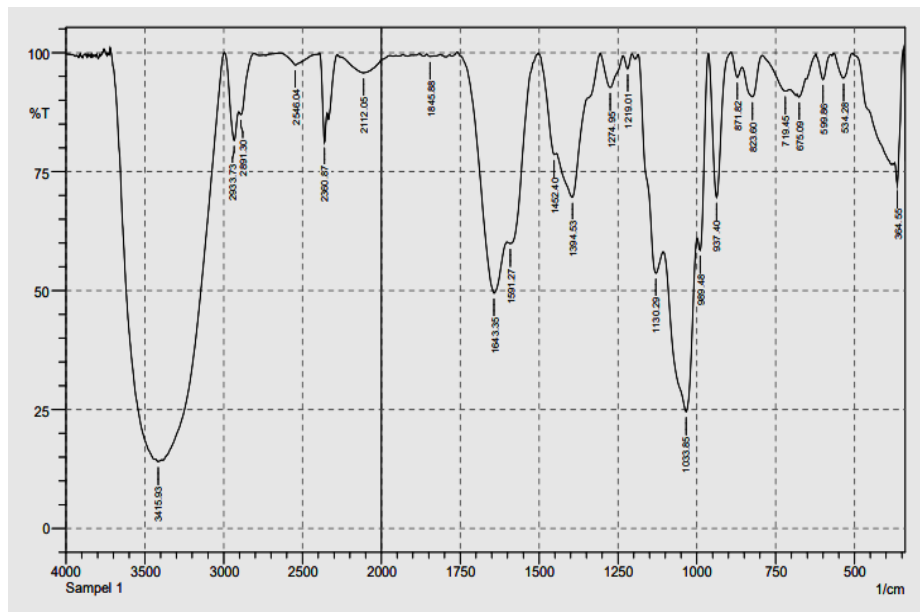


Lampiran 4. Karakteristik struktur inulin dengan FTIR

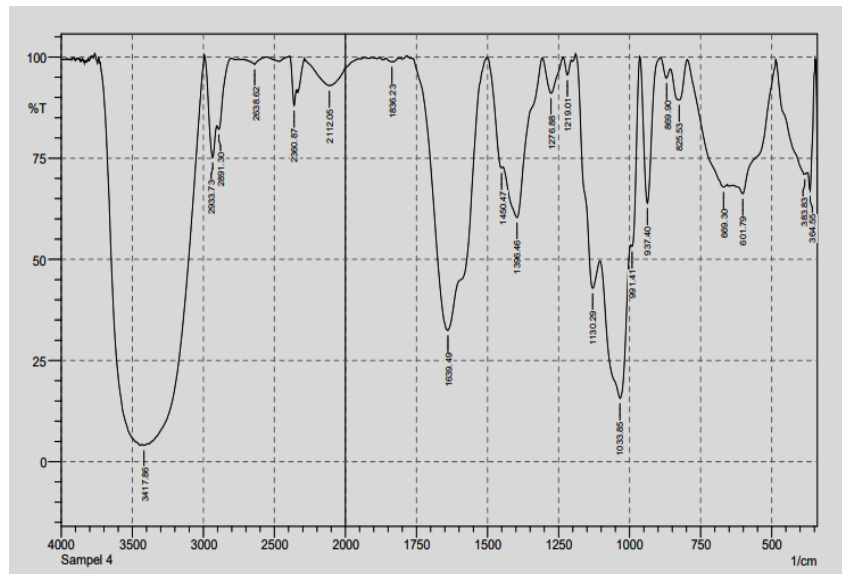
Standar inulin



Sampel isolat 1



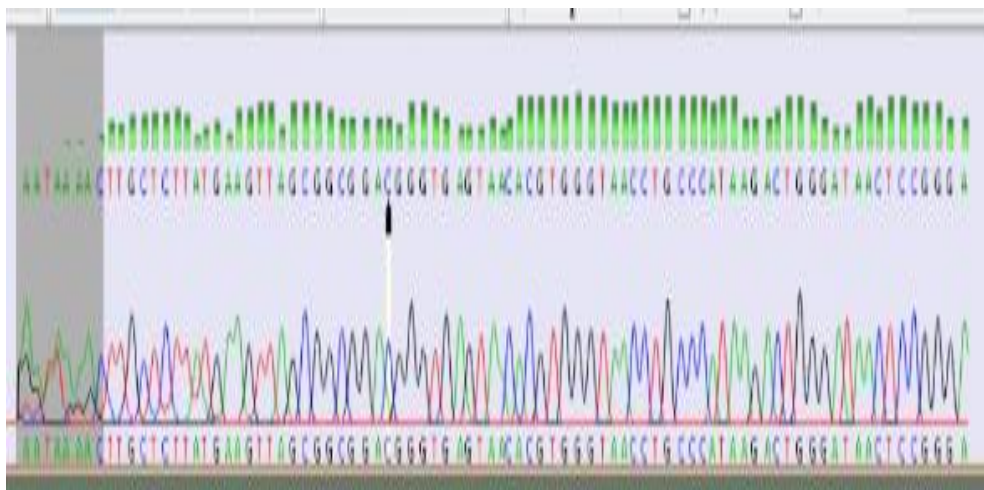
Sampel isolate 4

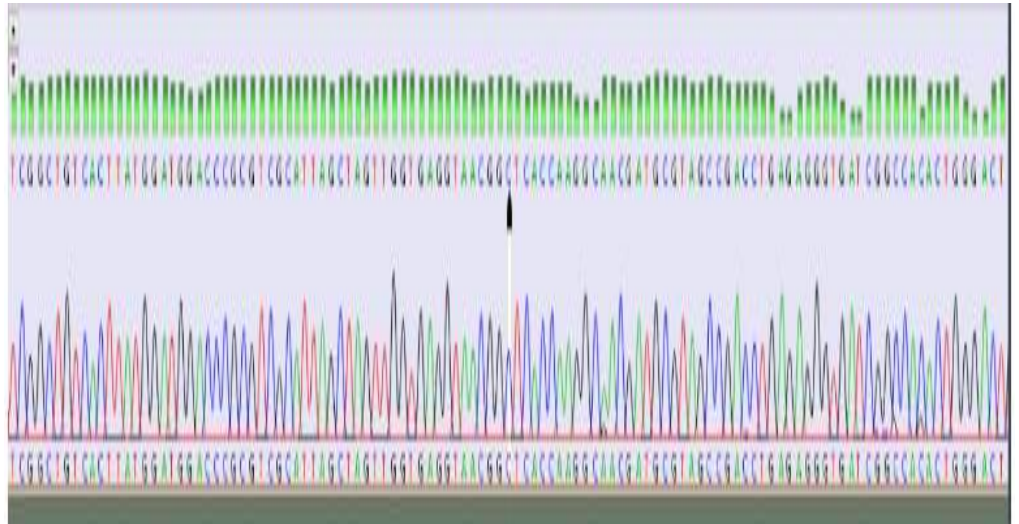
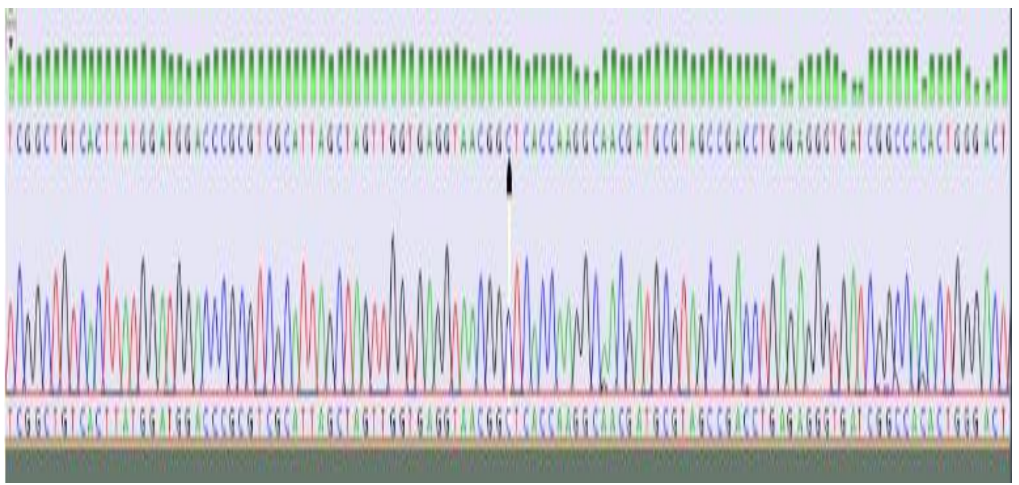
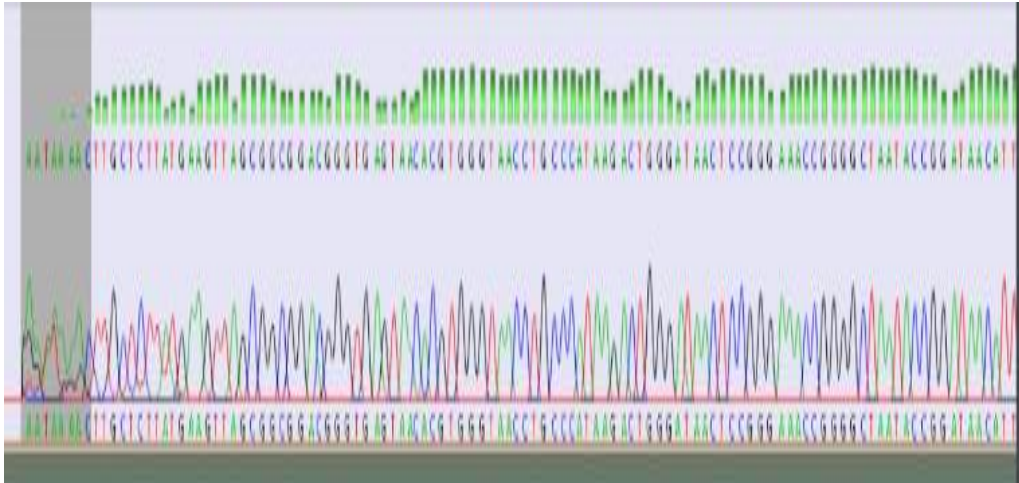


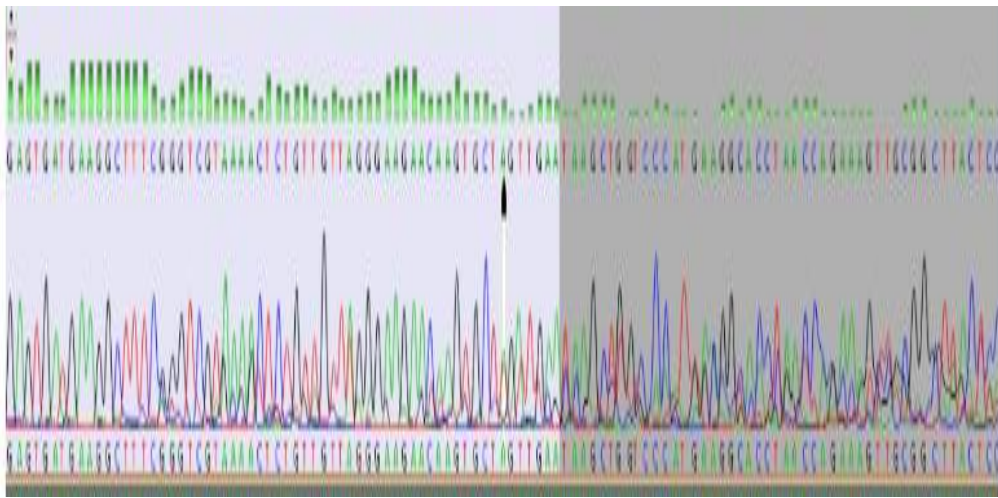
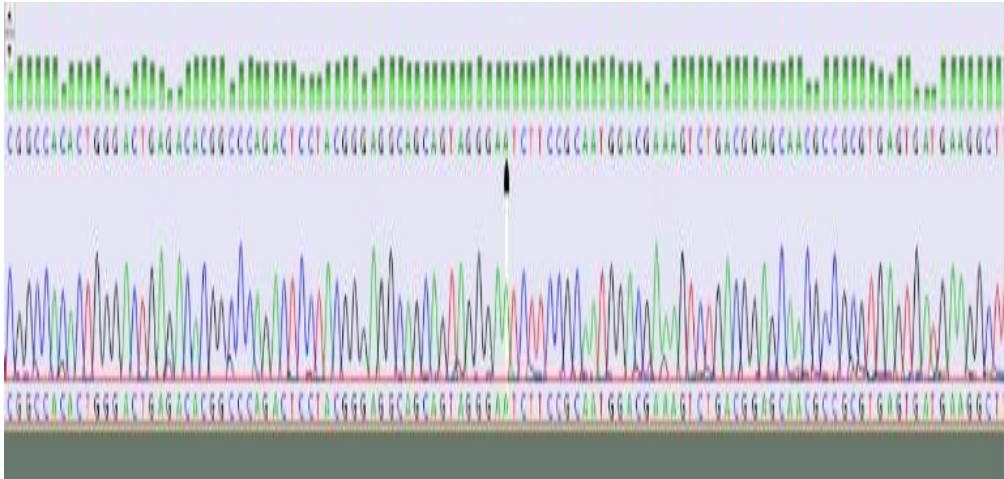
Lampiran 5. Urutan nukleotida dan kromatogram gen 16S rRNA

```
>isolat bakteri termofilik Lejja UH
AATAAACTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCATAAGACTGGGATAACTC
CGGGAAACCGGGCTAATACCGGATAACATTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGAAAGCGGGCTTCGGCTGCACTTATG
GATGGACCCGCTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACTGAGAGGGTGA
TCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGCAATGGACGAAAGTC
TGACGGAGCAACCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGA
ATAAGCTGGTCCCATGAAGGCACCTAACCAGAAAGTTGCGGCTTACTCCCGCCAGCCCTTCGCGGTTTATACCTATGGG
```

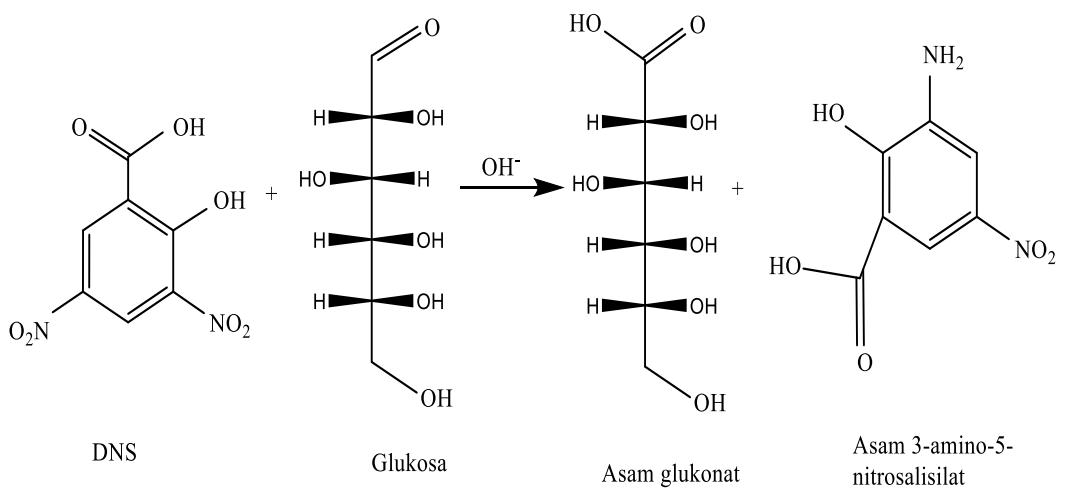
Kromatogram







Lampiran 6. Reaksi Gula Reduksi dengan Reagen DNS



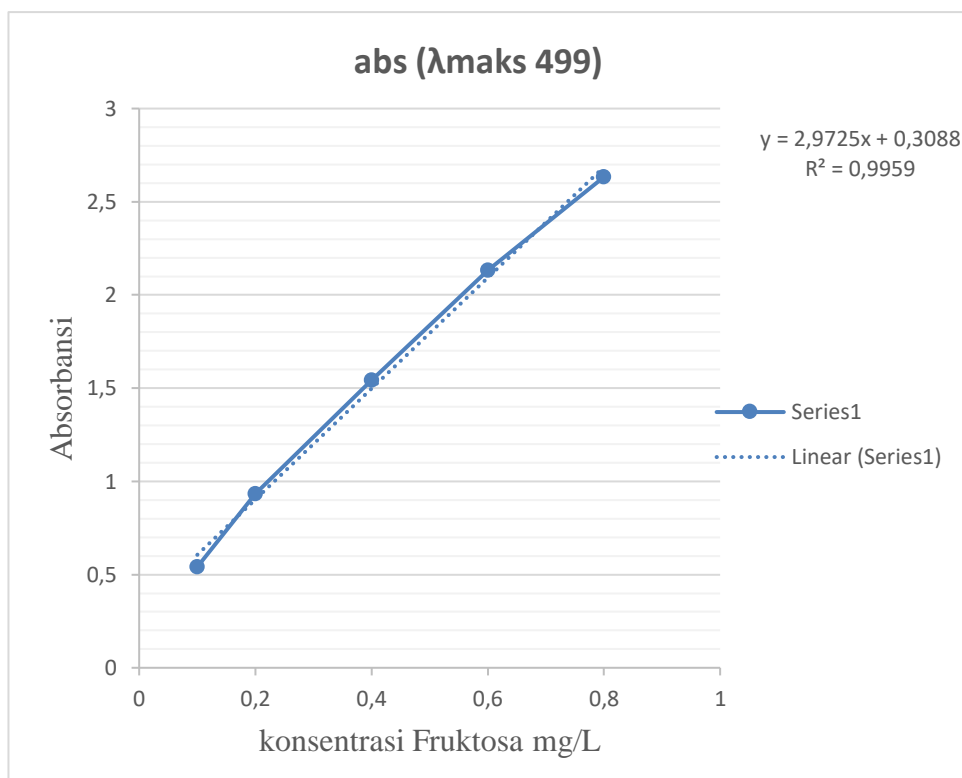
Lampiran 7. Tabel dan Perhitungan

1. Uji aktivitas Inulinase dengan metode RSM

- Pembuatan deret standar Fruktosa

Konsentrasi Fruktosa mg/mL	Absorbansi ($\lambda = 499$ nm)
0,1	0,541
0,2	0,935
0,4	1,543
0,6	2,134
0,8	2,633

- Kurva standar fruktosa



- **Data hasil uji aktivitas Inulinase**

Run Order	Waktu Inkubasi (Jam)	Konsentrasi Substrat (%)	pH	Absorbansi	Aktivitas Inulinase U/mL
1	3	7	7	1,994	15,281
2	12	3	5	1,580	11,879
3	12	3	8	1,528	11,393
4	12	12	8	1,890	14,776
5	12	12	5	1,914	15,000
6	25	7	7	1,837	14,281
7	25	7	7	2,085	16,598
8	25	15	7	2,497	20,449
9	25	7	7	1,991	15,720
10	25	7	4	1,945	15,290
11	25	7	7	2,077	16,524
12	25	7	7	2,069	16,449
13	25	7	10	0,983	6,300
14	25	0,5	7	1,355	9,777
15	25	7	7	1,888	14,757
16	38	3	5	1,801	13,944
17	38	3	8	1,511	11,234
18	38	12	5	1,740	13,374
19	38	12	8	1,639	12,431
20	48	7	7	0,980	6,274

- **Perhitungan uji aktivitas inulinase melalui persamaan regresi**

$$Y = ax+b$$

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{Y - b}{a \times \text{BM Fruktosa} \times t} \times P \times 1000$$

Keterangan: y = absorbansi pada panjang gelombang maksimum
 a = slope kurva standar fruktosa;
 b = intersep dengan sumbu x kurva standar fruktosa;
 BM fruktosa = berat molekul fruktosa (180,1 gr/mol);
 P = Faktor pengenceran
 t = waktu reaksi (menit)

1. Run order 1

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/mL)} &= \frac{1,994 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000 \\ &= 15,281 \end{aligned}$$

2. Run order 2

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/mL)} &= \frac{1,580 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000 \\ &= 11,879 \end{aligned}$$

3. Run order 3

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/mL)} &= \frac{1,528 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000 \\ &= 11,393 \end{aligned}$$

4. Run order 4

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/mL)} &= \frac{1,890 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000 \\ &= 14,776 \end{aligned}$$

5. Run order 5

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/mL)} &= \frac{1,914 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000 \\ &= 15,000 \end{aligned}$$

6. Run order 6

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/mL)} &= \frac{1,837 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000 \\ &= 14,281 \end{aligned}$$

7. Run order 7

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas enzim (U/mL)} &= \frac{2,085 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000 \\ &= 16,598 \end{aligned}$$

8. Run order 8

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{2,497 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 20,449$$

9. Run order 9

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,991 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 15,720$$

10. Run order 10

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,945 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 15,290$$

11. Run order 11

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{2,077 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 16,524$$

12. Run order 12

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{2,067 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 16,449$$

13. Run order 13

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{0,983 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 6,300$$

14. Run order 14

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,355 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 9,777$$

15. Run order 15

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,888 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 14,757$$

16. Run order 16

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,801 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 13,944$$

17. Run order 17

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,511 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 11,234$$

18. Run order 18

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,740 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 13,374$$

19. Run order 19

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{1,639 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

$$= 12,431$$

20. Run order 20

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{0,980 - 0,3088}{2,9725 \times 180 \times 2} \times 10 \times 1000$$

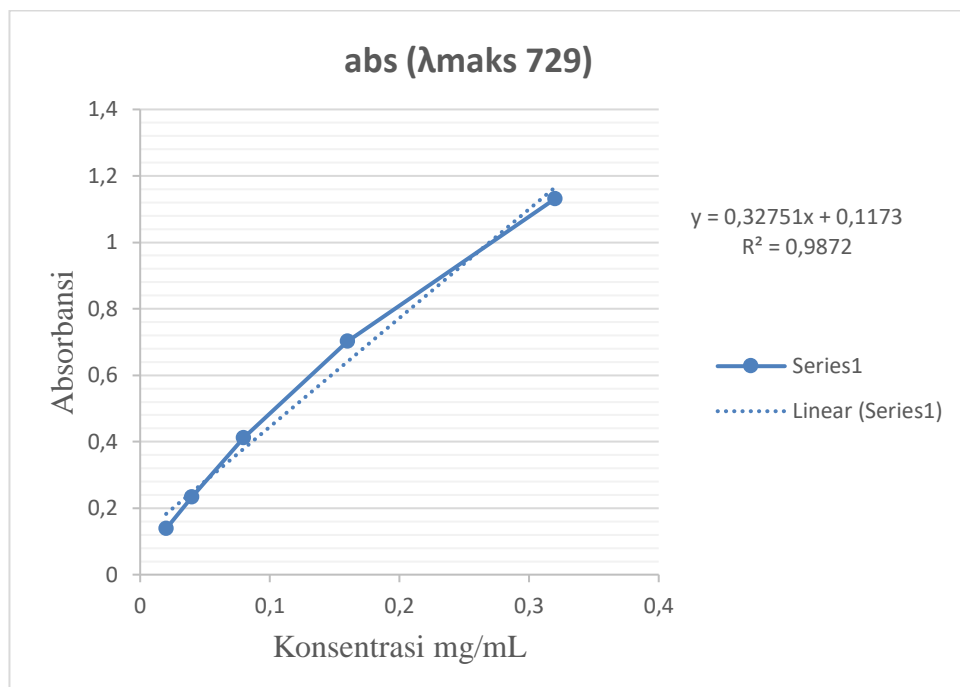
$$= 6,274$$

2. Penentuan kadar Protein

- Pembuatan deret standar BSA

Konsentrasi BSA mg/mL	Absorbansi ($\lambda = 720 \text{ nm}$)
0,02	0,138
0,04	0,233
0,08	0,412
0,16	0,703
0,32	1,131

- **Kurva standar BSA**



- **Data hasil Penentuan kadar protein**

Run Order	Waktu Inkubasi (Jam)	Konsentrasi Substrat (%)	pH	Absorbansi	Kadar Protein mg/mL
1	3	7	7	0,182	0,1976
2	12	3	5	0,243	0,3838
3	12	3	8	0,256	0,4235
4	12	12	8	0,409	0,807
5	12	12	5	0,464	1,0586
6	25	7	7	0,178	0,1853
7	25	7	7	0,181	0,1943
8	25	15	7	0,373	0,7807
9	25	7	7	0,191	0,2250
10	25	7	4	0,535	1,2754

11	25	7	7	0,178	0,1853
12	25	7	7	0,188	0,2159
13	25	7	10	0,208	0,2769
14	25	0,5	7	0,165	0,1456
15	25	7	7	0,177	0,1823
16	38	3	5	0,289	0,5243
17	38	3	8	0,249	0,4021
18	38	12	5	0,445	1,0006
19	38	12	8	0,306	0,5762
20	48	7	7	0,166	0,1487

- **Perhitungan kadar protein**

Contoh perhitungan kadar protein dan aktivitas spesifik pada run order 1
Kadar Protein

$$Y = ax + b$$

$$x = \frac{y - 0,1173}{3,275}$$

$$x = \frac{0,182 - 0,1173}{0,3275}$$

$$= 0,1976 \text{ mg/mL}$$

Sehingga dapat dihitung aktivitas spesifik Inulinase pada run order 1

$$\text{Aktivitas spesifik (U/mg protein)} = \frac{\text{aktivitas enzim}}{\text{kadar protein}}$$

$$= \frac{15,281 \times 0,25}{0,1976 \times 0,25}$$

$$= 77,35 \text{ U/mg}$$

- **Data Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Inulinase**

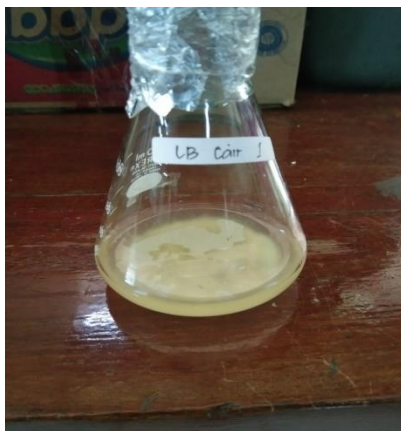
Run Order	Waktu Inkubasi (Jam)	Konsentrasi Substrat (%)	pH	Aktivitas Spesifik Inulinase U/mg
1	3	7	7	77,35
2	12	3	5	30,95
3	12	3	8	26,90
4	12	12	8	16,59
5	12	12	5	14,17
6	25	7	7	77,05
7	25	7	7	85,34
8	25	15	7	26,19
9	25	7	7	69,85
10	25	7	4	11,99
11	25	7	7	89,15
12	25	7	7	76,20
13	25	7	10	22,75
14	25	0,5	7	67,12
15	25	7	7	80,96
16	38	3	5	26,60
17	38	3	8	27,94
18	38	12	5	13,37
19	38	12	8	21,57
20	48	7	7	42,18

Lampiran 8. Foto Penelitian

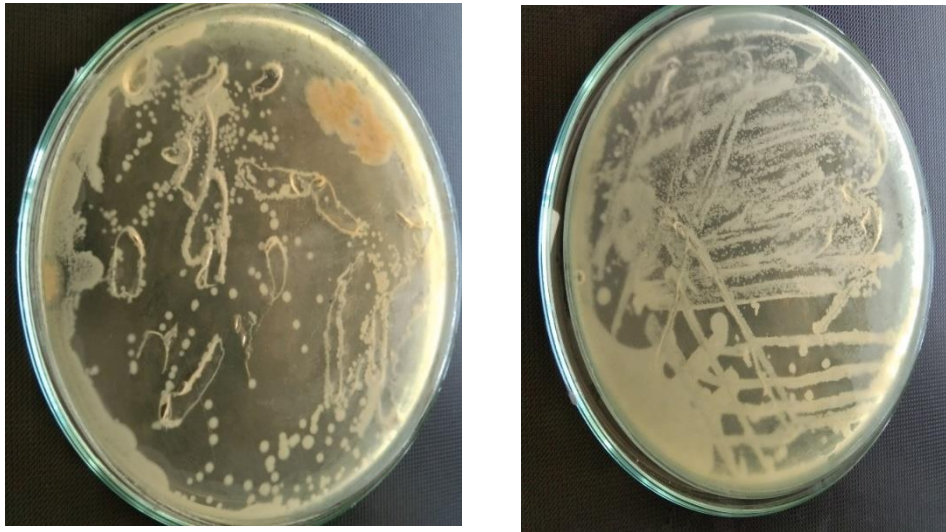
- A. Titik pengambilan sampel sumber air panas Lejja Kabupaten Soppeng, Sulawesi Selatan



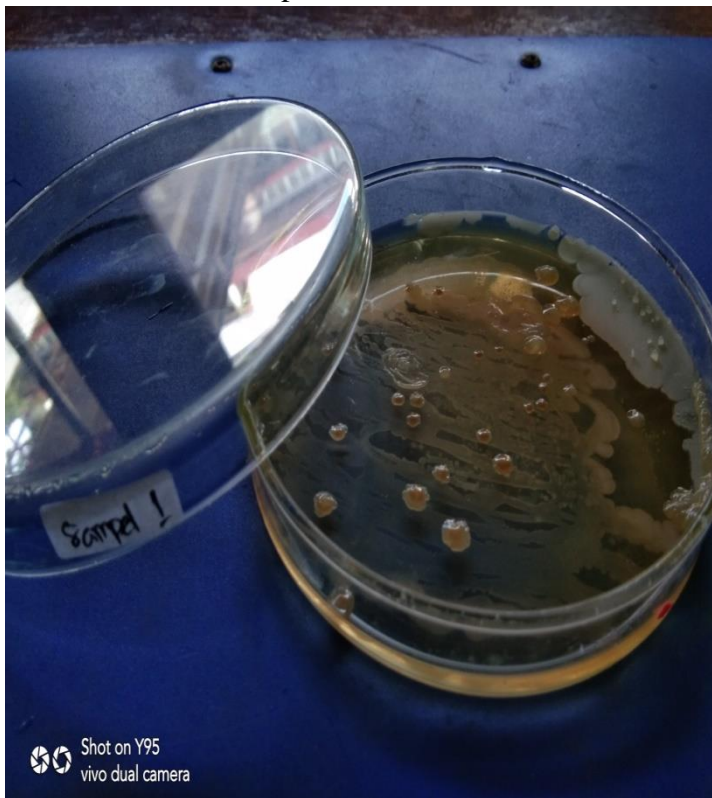
- B. Hasil pertumbuhan bakteri pada medium Luria Bertani cair menunjukkan kekeruhan pada media



C. Hasil pertumbuhan bakteri pada medium Luria Bertani padat



D. Pertumbuhan bakteri pada medium selektif inulinase



E. Optimalisasi produksi dengan desain eksperimen metode RSM



F. Uji aktivitas Inulinase



G. Penentuan Kadar Protein

