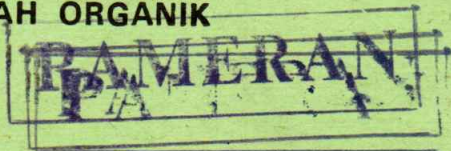


50  
IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan  
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi  
Universitas Airlangga

SELESAI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI AKTIFITAS ENZIM  
GLUKOAMILASE MIKROBA SAMPAH ORGANIK**



01 MAY 1996

Ketua Peneliti :

**Dra. Y. SRI WULAN MANUHARA**

**Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai Oleh : DIP/OPF Unair 1992/1993

SK. Rektor Nomor : 5186/PT.03.H/N/1992

Nomor Urut : 139

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA



# LEMBAGA PENELITIAN

Jl. Darmawangsa Dalam 2 Telp. (031) 42322 Surabaya 60286

## IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Aktifitas Enzim Glukoamilase Mikroba Sampah Domestik.
- b. Macam Penelitian : (v) Fundamental, ( ) Terapan, ( ) Pengembangan
2. Kepala Proyek Penelitian :
  - a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Dra. Y. Sri Wulan Manuhara
  - b. Jenis Kelamin : Wanita
  - c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda - Gol.III/a - 131801396
  - d. Jabatan Sekarang : Asisten Ahli Madya
  - e. Fakultas / Jurusan : FMIPA / Biologi
  - f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
  - g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Mikrobiologi Industri
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang
4. Lokasi Penelitian : Fakultas MIPA Universitas Airlangga
5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan, sebutkan :
  - a. Nama Instansi : -
  - b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 3 (tiga) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 1.500.000,00
8. Hasil Penilaian : ( ) Baik Sekali, (v) Baik, ( ) Sedang, ( ) Kurang

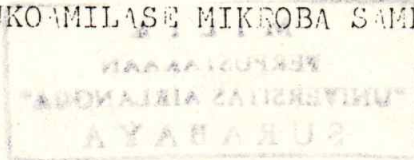


Mengetahui / Mengesahkan :  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof.Dr.dr. Soedijono  
Isolasi dan Identifikasi Aktifitas

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI AKTIFITAS ENZIM  
GLUKOMILASE MIKROBA SAMPAH ORGANIK



Peneliti :

Dra. Y. Sri Wulan Manuhara  
Dra. Dwi Winarni  
Dra. Alfiah Hayati  
Drs. Saikhu Akhmad Husen  
Dra. Ni Nyoman Tri Puspaningsih

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai : DIP Operasional Perawatan dan Fasilitas Tahun 1992/1993

SK Rektor Nomor : 5186/PTO3.H/N/1992

Tanggal : 6 Juli 1992

## RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI AKTIFITAS ENZIM  
GLUKOAMILASE MIKROBA SAMPAH ORGANIK

Ketua Peneliti : Y. Sri Wulan Manuhara

Anggota Peneliti : Dwi Winarni  
Alfiah Hayati  
Saikhu Akhmad Husen  
Ni Nyoman Tri Puspaningsih

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Airlangga

Sumber Biaya : DIP Operasional Perawatan dan Fasilitas  
Universitas Airlangga tahun 1992/1993  
SK Rektor Nomor : 5186/PTO3.H/N/1992 tang-  
gal 6 Juli 1992

Glukoamilase adalah enzim amilase yang mampu memecah pati menjadi unit-unit glukosa. Enzim ini dapat diproduksi oleh berbagai jenis jamur, ragi dan bakteri. Digunakan dalam industri sirup glukosa kadar tinggi, sirup fruktosa kadar tinggi (High Fructose Syrup). Kemampuan glukoamilase mengubah pati menjadi gula diukur dari besarnya aktifitas enzim terhadap jenis pati tertentu, semakin tinggi aktifitas enzim, semakin banyak glukosa yang dihasilkan.

Pati didapatkan melimpah pada tanaman. Jika tanaman dibuang, pati yang terkandung di dalamnya akan dimanfaatkan mikroba tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi dengan memecah dahulu sebelum dimanfaatkan mikroba. Pemecahan ini hanya dapat dilakukan oleh mikroba penghasil amilase yang salah satu jenisnya adalah glukoamilase. Jika nutrien yang diperlukan melimpah, mikroba pemanfaat nutrien ini akan dipacu untuk tumbuh dan meningkatkan jumlah populasinya. Jadi pada tempat pembuangan sampah organik yang banyak mengandung pati akan ditemukan mikroba penghasil glukoamilase melimpah.

Penelitian ini dilakukan dengan harapan hasilnya dapat dijadikan pertimbangan dalam upaya eksplorasi mikroba penghasil glukoamilase sekaligus membantu mengatasi penumpukan sampah organik yang belum banyak dimanfaatkan. Adapun tujuan penelitian ini adalah mengisolasi mikroba penghasil glukoamilase, menentukan aktifitas enzim tertinggi masing-masing isolat dan kadar glukosa tertingginya, serta mengetahui hubungan antara aktifitas enzim dengan pertumbuhan masing-masing isolat.

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unair bulan September sampai Desember 1992. Bahan penelitian berupa sampah yang diambil dari tempat pembuangan akhir kecamatan Sukolilo, Surabaya. Isolasi dilakukan dengan media differensial pati 1%, uji awal dihasilkannya glukoamilase dengan menambahkan

larutan Lugol ke biakan umur 24 jam, koloni dengan area jernih di sekitarnya adalah koloni mikroba-mikroba penghasil glukosilase. Diameter area jernih diukur dengan mikroskop Vernier, tiga mikroba dengan diameter terbesar yang dipilih adalah mikroba 1 dengan diameter rata-rata =  $11,50 \pm 0,40$  mm, mikroba 2 dengan diameter rata-rata koloni =  $14,17 \pm 0,29$  mm dan mikroba 3 =  $8,63 \pm 0,41$  mm.

Aktifitas enzim ditentukan terhadap biakan isolat mikroba 1, 2 dan 3 dalam media cair 1% dengan uji Somogyi-Nelson. Aktifitas enzim tertinggi yang dicapai glukosilase produk mikroba 1 adalah 0,7513 unit dicapai pada umur biakan 11 jam, mikroba 2 = 1,0598 pada umur biakan 11 jam dan mikroba 3 (0,8736) pada umur biakan 32 jam, dengan kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis dicapai oleh mikroba 2 sebesar 10,6477 Ug/ml/menit.

Dari hasil penelitian ini didapatkan kesimpulan bahwa aktifitas enzim glukosilase yang diproduksi mikroba sampah organik (mikroba endogenous) bervariasi menurut jenis mikroba dan dipengaruhi oleh jumlah mikroba dalam media produksi. Disarankan agar mikroba ini dimanfaatkan sebagai agen pendaaur ulang sampah yang efektifitasnya masih harus diteliti melalui rekayasa mikrobial.

KATA PENGANTAR

Tim peneliti mengucapkan puji syukur kepada Tuhan Yang Mahaesa, karena telah berhasil menyelesaikan penelitian ini.

Pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian yang membiayai penelitian ini, Ketua Jurusan Biologi dan Pimpinan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas hingga penelitian ini dapat terlaksana.

Tentunya masih banyak kekurangan di dalam laporan penelitian ini. Untuk itu kritik dan saran yang membangun kami terima dengan senang hati.

Harapan kami, semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi mereka yang memerlukannya.

Surabaya, pertengahan Januari 1993

Tim Peneliti

## DAFTAR ISI

	halaman
RINGKASAN PENELITIAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tinjauan Tentang Glukoamilase	4
2.2. Tinjauan Tentang Sampah di Kotamadya Surabaya	5
2.3. Dekomposisi Pati Oleh Mikroba	7
2.4. Tahapan Pertumbuhan Populasi Mikroba	7
BAB III METODA PENELITIAN	9
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	9
3.2. Sampel Penelitian	9
3.3. Variabel Penelitian	9
3.4. Bahan dan Alat Penelitian	9
3.5. Urutan Kerja Penelitian	10
3.5.1. Isolasi mikroba penghasil glukoamilase	10

3.5.2.	Pembuatan kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba	11
3.5.3.	Penyiapan inokulum	12
3.5.4.	Produksi glukamilase	12
3.5.5.	Pengambilan sampel dan perlakuan terhadap sampel	12
3.5.6.	Penentuan aktifitas enzim	13
3.5.7.	Penentuan kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis	16
3.5.8.	Pembuatan grafik hubungan antara umur biakan, aktifitas enzim dan jumlah mikroba	16
3.6.	Analisis Data	16
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	17
4.1.	Hasil Penelitian	17
4.1.1.	Pengukuran diameter area jernih di sekitar koloni mikroba	17
4.1.2.	Persamaan kurva baku hubungan antara serapan cahaya dengan jumlah mikroba	17
4.1.3.	Aktifitas enzim	18
4.1.4.	Grafik hubungan antara aktifitas enzim dan pertumbuhan mikroba	18
4.1.5.	Kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis	20
4.2.	Pembahasan	21



BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	24
	5.1. Kesimpulan	24
	5.2. Saran	24
DAFTAR PUSTAKA		25
LAMPIRAN		

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Data hasil penentuan aktifitas enzim
- Lampiran 2 Data hasil hitung jumlah mikroba sepanjang waktu produksi
- Lampiran 3 Data serapan cahaya dan jumlah sel mikroba 1, 2 dan 3
- Lampiran 4 Hasil pengukuran serapan cahaya terhadap larutan glukosa dengan kadar yang telah ditentukan yang diuji dengan uji Somogyi-Nelson

## DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 1. Komposisi sampah di Kotamadya Surabaya menurut CDM tahun 1976 dan ITS tahun 1984 ..	5
Tabel 2. Produksi sampah warga kota Surabaya per hari dari tahun 1986 sampai 1992 .....	6
Tabel 3. Penentuan konsentrasi glukosa untuk pembuatan kurva baku .....	14
Tabel 4. Diameter rata-rata area jernih mikroba 1, 2 dan 3 .....	17
Tabel 5. Kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis glucoamilase produk mikroba 1, 2 dan 3 ...	20

## DAFTAR GAMBAR

halaman

Gambar 1.	Aktifitas enzim glukoamilase produk mikro- ba 1, 2 dan 3 sepanjang waktu produksi ...	18
Gambar 2.	Hubungan antara aktifitas enzim produk mi- kroba 1 dengan pertumbuhannya sepanjang waktu produksi .....	19
Gambar 3.	Hubungan antara aktifitas enzim produk mi- kroba 2 dengan pertumbuhannya sepanjang waktu produksi .....	19
Gambar 4.	Hubungan antara aktifitas enzim produk mi- kroba 3 dengan pertumbuhannya sepanjang waktu produksi .....	20

BAB I  
PENDAHULUAN1.1. Latar Belakang Masalah

Pemanfaatan mikroba dalam bidang industri sebenarnya bukan merupakan hal baru. Sebagai contoh, pembuatan cuka, alkohol, roti, dan lain-lain bisa dilacak mulai 5000 tahun sebelum Masehi. Mikroba-mikroba tersebut sampai saat ini dapat dimanfaatkan langsung dari sel vegetatifnya, produk metabolismenya, maupun enzim yang dihasilkannya (Sardjoko, 1991).

Salah satu enzim yang dapat diproduksi mikroba, yang penggunaannya dalam bidang industri meningkat dari tahun ke tahun adalah glukamilase. Glukamilase adalah enzim yang mampu memecah pati menjadi unit-unit glukosa bebas (Atlas, 1984). Enzim ini dapat dihasilkan oleh jamur (Aspergillus niger dan Rhizopus sp), khamir (Saccharomyces cereviseae), dan berbagai jenis bakteri. Di dalam industri, enzim ini dilibatkan pada produksi sirup glukosa kadar tinggi (90-97% D-glukosa), gula kristal, dan sirup fruktosa kadar tinggi (High Fructose Syrup/HFS) yang lebih manis dari sirup glukosa tetapi tidak akan mengakibatkan peningkatan kadar gula darah jika dikonsumsi (Crueger, 1982; Panji, 1988). Produk-produk tersebut selain dapat dikonsumsi langsung, digunakan pula sebagai bahan baku di dalam industri pangan dan farmasi (Sardjoko, 1991).

Glukamilase digolongkan sebagai enzim ekstraselular (Timotius, 1982; Syukur, 1983; Suriawiria, 1985) yaitu enzim yang setelah diproduksi di dalam sel mikroba, akan dikeluarkan ke

lingkungan untuk mendegradasi pati menjadi unit-unit glukosa dari lingkungannya sebelum diserap masuk ke dalam tubuh mikroba (Syukur, 1983; Suriawiria, 1985). Glukoamilase juga digolongkan sebagai enzim adaptif, karena hanya diproduksi jika di lingkungan terdapat pati, sedangkan dalam keadaan tak ada pati diproduksi dalam jumlah minimal yang sangat sedikit (Syukur, 1983). Dengan demikian, tempat-tempat pembuangan sampah terutama dimana pati didapatkan melimpah, merupakan lingkungan yang akan dapat memacu mikroba penghasil glukoamilase meningkatkan produksi enzim dan berbiak di lingkungan yang menguntungkan tersebut.

Beranjak dari latar belakang di atas, peneliti mencoba melakukan identifikasi aktifitas enzim mikroba sampah organik penghasil glukoamilase yang dikaitkan pula dengan pola pertumbuhannya, dengan harapan hasil penelitian ini dapat dijadikan pertimbangan dalam upaya eksplorasi mikroba penghasil glukoamilase yang dapat dijadikan alternatif pengganti mikroba yang biasa digunakan dalam industri, sekaligus membantu mengatasi penumpukan sampah di tempat-tempat pembuangan sampah. Juga, hasil penelitian ini diharapkan nantinya mampu menekan biaya produksi mengingat bahwa pemanfaatan mikroba terutama dalam industri pangan meski skala industri besar tetap mempunyai nilai produk yang rendah.

## 1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut..

- (a) Berapakah aktifitas enzim glukoamilase tertinggi yang dapat dicapai oleh mikroba sampah yang diisolasi ?.
- (b) Bagaimanakah hubungan antara aktifitas enzim yang diproduksi masing-masing isolat mikroba dengan pertumbuhan populasinya ?.

### 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan sebagai berikut.

- (a) Mengisolasi mikroba penghasil enzim glukoamilase
- (b) Menentukan :
  - (b.1) aktifitas enzim tertinggi masing-masing isolat, dan
  - (b.2) kadar glukosa hasil hidrolisis enzim.
- (c) Mengetahui hubungan antara aktifitas enzim dengan pertumbuhan populasi masing-masing mikroba.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan Tentang Glukoamilase

Enzim glukoamilase yang dikenal pula sebagai  $\alpha$ -1,4 glukon glukohidrolase (Crueger, 1984) dan amiloglukosidase adalah salah satu jenis enzim amilase-enzim yang mampu menghidrolisis pati menjadi glukosa. Berbeda dengan jenis amilase yang lain glukoamilase mampu menghidrolisis pati dengan jalan memutus ikatan glikosidik  $\alpha$ -1,4 secara berurutan dari ujung non pere-duksi dan ikatan cabang  $\alpha$ -1,6 (Syukur, 1983; Atlas, 1984; Pan-ji, 1988). Menurut Crueger(1984), kemampuan glukoamilase memecah ikatan cabang  $\alpha$ -1,6 lebih lambat dari kemampuannya memutus ikatan  $\alpha$ -1,4 sehingga pada akhir hidrolisis seringkali didapa-ti sedikit dekstrin pada hasil hidrolisisnya.

Dalam industri pemanis, glukoamilase biasanya digunakan setelah penggunaan amilase. Jadi setelah pati didegradasi o-leh amilase menjadi unit-unit dekstrin, baru glukoamilase bekerja. Proses ini dapat menghasilkan unit glukosa sampai 98% (Crueger, 1984).

Glukoamilase dapat diproduksi berbagai jenis mikroorganis ma di antaranya adalah: Aspergillus niger, A. soitoi, Rhizopus, ragi (yeast), dan berbagai jenis bakteri.

Glukoamilase digolongkan ke dalam jenis enzim ekstraselu-lar yaitu enzim yang setelah disintesis di dalam sel dikeluar-kan ke lingkungan di sekitar sel dan akan menghidrolisis pati di luar sel. Selain itu glukoamilase hanya diproduksi jika di



lingkungan sel terdapat pati, sedangkan dalam keadaan tak ada pati, diproduksi dalam jumlah minimal yang sangat sedikit (Syukur, 1983). Fowler, et.al. (1990) menyatakan bahwa gen pengatur sekresi glukoamilase pada A. niger hanya akan terekspresi jika di lingkungan terdapat pati. Sifat glukoamilase yang disekresikan oleh berbagai jenis mikroba tersebut di atas ternyata sangat beragam (Takahashi, et.al, 1985; Dharmsthiti, et.al, 1986; Vinihen, et.al, 1989). Sebagai contoh, jenis glukoamilase yang dihasilkan oleh Rhizopus sp, A. niger, Amylomyces sp, dan ragi Endomycopsis fibuligera mampu mendegradasi pati kasar (raw starch) sedangkan glukoamilase produk mikroba lain yang diketahui hanya mampu mendegradasi pati terlarut (soluble starch).

## 2.2. Tinjauan Tentang Sampah di Kotamadya Surabaya

Komposisi sampah di Kodya Surabaya menurut hasil penelitian CDM (Camp Dresser and Mc. Kee Int.Inc) tahun 1976 dan oleh Institut Teknologi 10 Nopember Surabaya tahun 1984 dirinci dalam tabel berikut.

Tabel 1. Komposisi sampah di Kotamadya Surabaya menurut CDM tahun 1976 dan ITS tahun 1984

Jenis sampah	CDM	ITS
Organik	94 %	89 %
Kertas	2 %	4 %
Gelas/ logam	1 %	3 %
Plastik	2 %	3 %
Lain-lain	1 %	1 %

Sumber : Buku Pra Rencana 5 tahun pengelolaan sampah di Kotamadya Surabaya th. 1987/1988 - 1991/1993 dalam Purwadio (1988)

Jumlah sampah yang dihasilkan Kodya Surabaya, seiring dengan pertambahan penduduk dan perkembangan industri meningkat dari tahun ke tahun seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Produksi sampah warga kota Surabaya per hari dari tahun 1986 sampai 1992

Tahun	Sampah	
	m <sup>3</sup> / hari	ton/hari
1986	5.612	1.413
1987	6.013	1.561
1988	6.426	1.607
1989	6.894	1.716
1990	7.383	1.830
1991	7.895	1.949
1992	8.468	2.075

Sumber : Buku Pra Rencana 5 tahun pengelolaan sampah di kotamadya Surabaya th. 1987/1988 - 1991/1992 dalam Purwadio (1988)

Komponen terbanyak sampah yang terbuang dari waktu ke waktu adalah sampah organik. Jenis sampah ini mendominasi pula pada tempat-tempat pembuangan akhir di kota-kota lain di Indonesia, yang jika dibandingkan dengan sampah anorganik perbandingannya 1:4 sampai 1:5 (Hasan Purbo, 1982 dalam Purwadio, 1988). Dari komposisi tersebut, terbanyak dihasilkan dari daerah pemukiman, sebanyak 79,2 %, menyusul pasar dan lokasi-lokasi khusus 11,4 %, daerah industri 7,9 % dan dari konstruksi 1,5 %.

Sampah organik, pada kenyataannya belum banyak dimanfaatkan seperti halnya sampah anorganik (Purwadio, 1988).

### 2.3. Dekomposisi Pati Oleh Mikroba

Prosentase sampah organik yang besar pada tempat-tempat pembuangan akhir akan memacu mikroba pendekomposisi untuk meningkatkan aktifitas dan pertumbuhan, populasinya (Soedarsono, 1981).

Pati terutama terdapat pada sisa-sisa tanaman. Keberadaan pati di tanah merupakan sumber energi dan sumber karbon bagi pertumbuhan sel-sel baru mikroba pemanfaat pati. Dekomposisi pati di tempat-tempat pembuangan sampah di Kodya Surabaya yang mempunyai suhu lingkungan lebih dari 30°C memungkinkan dekomposisi berlangsung lebih cepat. Tercampurnya pati dengan bahan-bahan lain juga mendukung kecepatan dekomposisi ini (Sutedjo, 1991).

Pati dengan mudah dapat didekomposisi oleh mikroba. Hasil dekomposisi yang utama adalah gula. Mikroba pendekomposisi pati adalah mikroba yang aktif menghasilkan enzim amilase yang satunya adalah glukamilase.

### 2.4. Tahapan Pertumbuhan Populasi Mikroba

Menurut Timotius (1982) tahapan pertumbuhan populasi mikroba adalah sebagai berikut.

- (a) Tahap permulaan : pada tahap ini kecepatan pertumbuhan sama dengan nol atau lebih dari nol tapi belum mencapai maksimum. Kecepatan pertumbuhan dimulai dari nol kemudian meningkat mendekati maksimum. Tahap ini merupakan gejala adaptasi terhadap lingkungan yang baru dimana sel memerlukan bahan-bahan penting, enzim-enzim yang perlu disintesis kembali. Seringkali tidak ditemukan tahap permulaan jika inokulum berasal dari biakan yang ma-

sih aktif membelah (tahap logaritma) sehingga dapat langsung masuk ke tahap logaritma

(b) Tahap logaritma : tahap ini dimulai jika kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum, dan selama kecepatan pertumbuhannya selalu maksimum. Massa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial dengan waktu generasinya sebagai konstanta. Selama tahap ini biakan dalam keadaan paling homogen dengan sel-sel semua tumbuh pada kecepatan dan interval yang sama. Pertumbuhan sel pada tahap logaritma sering disebut pertumbuhan eksponensial

(c) Tahap tetap maksimum : tahap ini terjadi setelah tahap logaritma dimana kecepatan pertumbuhan populasi mikroba berangsur-angsur turun dan akhirnya saat memasuki tahap ini kecepatan pertumbuhannya sama dengan nol.

Adanya tahap tetap maksimum disebabkan antara lain karena kekurangan nutrisi, akumulasi hasil-hasil metabolisme akhir dan lain-lain. Jika disebabkan kekurangan nutrisi, jumlah sel total (sel yang hidup dan sel yang mati) tetap, sedangkan jika disebabkan akumulasi hasil-hasil metabolisme yang menghambat pertumbuhan, maka jumlah total bakterinya akan bertambah banyak.

BAB III

METODA PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Airlangga. Penelitian dimulai bulan September 1992 dan berakhir bulan Desember 1992.

3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini berupa sampah yang diambil dari tempat pembuangan akhir kecamatan Sukolilo, Surabaya.

3.3. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah besarnya aktifitas enzim dan jumlah mikroba selama waktu produksi.

3.4. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Bacto Agar, ekstrak ragi (yeast extract), akuades, pati terlarut (soluble starch), reagen Somogyi I, reagen Somogyi II, reagen Nelson, akuademineral, larutan fisiologis NaCl 0,85%, dan larutan Lugol.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : tabung reaksi, cawan petri, mikropipet, makropipet, jarum ose, pembakar spiritus, penangas air, gelas beker 1000 ml, erlenmeyer 250 ml, erlenmeyer 500 ml, penjepit kayu, Vernier microscope OSK 4685, spektrofotometer Hitachi 150-20, sentrifuge, inku-

bator, dan shaker.

### 3.5. Urutan Kerja Penelitian

#### 3.5.1. Isolasi mikroba penghasil glukoamilase

Isolasi mikroba penghasil glukoamilase dilakukan dengan media differensial pati 1% (1% pati dan 0,5% ekstrak ragi dalam agar 5%). Adapun urutan proses isolasi adalah sebagai berikut :

- (a) dibuat suspensi sampah dalam larutan NaCl 0,85% (1g/100 ml);
- (b) suspensi sampah dibiakkan dalam cawan petri berisi media differensial pati 1%, pada suhu inkubasi 32<sup>o</sup>C dan waktu inkubasi 24 jam ;
- (c) diamati morfologi koloni yang tumbuh, koloni yang sama dan batas koloni ditandai dengan spidol di bagian bawah cawan petri ;
- (d) dituangkan larutan Lugol ke dalam biakan. Koloni mikroba penghasil glukoamilase akan dikelilingi area jernih di sekitar koloni, karena gula hasil hidrolisis pati oleh glukoamilase yang diproduksi ke sekitar koloni tidak dapat bereaksi dengan larutan Lugol. Sedangkan area media yang belum terhidrolisis akan berwarna biru hitam. Batas area jernih ditandai dengan spidol ;
- (e) mikroba penghasil glukoamilase dipindahkan ke media differensial pati 1% yang dimiringkan dalam tabung reaksi, dan diinkubasi pada 32<sup>o</sup>C selama 24 jam.

Mikroba yang nantinya dipilih untuk diamati produksi enzimnya adalah tiga jenis mikroba yang koloninya pada biakan agar mampu menampilkan area jernih saat uji dengan larutan Lugol

dengan urutan diameter terbesar.

Pengukuran diameter area jernih dilakukan dengan menggunakan mikroskop Vernier yang berskala milimeter dengan ketelitian sampai 0,005 mm.

### 3.5.2. Pembuatan kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba

Kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba diperlukan untuk menentukan jumlah mikroba tiap-tiap biakan pada tahap penyiapan inokulum (untuk menentukan jumlah mikroba awal) dan tahap produksi (untuk pembuatan kurva pertumbuhan).

Tiga mikroba yang terpilih dibiakkan dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml media cair pati 1% (pati 1%, ekstrak ragi 0,5% dalam akuades). Biakan dikocok dengan shaker. Masing-masing biakan diambil 10 ml kemudian disentrifugasi 2000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, "endapan" mikroba dilarutkan dalam larutan NaCl 0,85% sampai volume semula, kemudian dibuat beberapa enceran dan masing-masing enceran diukur besarnya serapan cahaya pada  $\lambda=660$  nm dan setelah itu dibiakkan pada media agar pati 1% dalam cawan petri. Jumlah mikroba dihitung setelah biakan berumur 24 jam (diinkubasi pada suhu 32°C).

Data serapan cahaya terukur dan jumlah mikroba terhitung dituangkan dalam bentuk grafik dengan serapan cahaya pada sumbu x dan jumlah mikroba pada sumbu y. Kemudian dihitung persamaan grafiknya.



### 3.5.3. Penyiapan inokulum

Tiga biakan terpilih yang sudah dibiakkan pada agar miring dan berumur 24 jam - masing-masing 1 ose - dipindahkan dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml media cair, kemudian dikocok selama 24 jam. Kemudian dilakukan sentrifugasi dan pengukuran serapan cahaya seperti cara kerja pada sub sub bab 3.5.2.

Data serapan cahaya dikonversikan ke jumlah mikroba (dengan memasukkan data pada persamaan kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba pada sub sub bab 3.5.2). Jumlah mikroba ketiga biakan tadi disesuaikan dengan jalan menambahkan media cair baru pada biakan dengan jumlah mikroba lebih besar.

### 3.5.4. Produksi glukoamilase

Produksi glukoamilase dengan fermentasi cair dilakukan pada erlenmeyer 1000 ml dengan volume produksi 250 ml (media cair pati 1%) dengan 3% inokulum (prosentase inokulum ditentukan berdasar pustaka Biotechnology, A Textbook of Industrial Microbiology oleh Crueger, 1984). Proses produksi dilakukan selama 40-47 jam (sampai pengukuran gula tereduksi hasil hidrolisis menunjukkan penurunan). Biakan dikocok dengan shaker pada suhu 32°C.

### 3.5.5. Pengambilan sampel dan perlakuan terhadap sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara aseptis rata-rata 3 jam sekali. Sampel disentrifugasi pada 2000 rpm. Pengukuran serapan cahaya untuk menentukan jumlah mikroba dilakukan terhadap endapan mikroba seperti cara 3.5.2., sedangkan pengukuran akti-



fitas enzim dilakukan terhadap supernatan yang mengandung glu - koamilase.

### 3.5.6. Penentuan aktifitas enzim

Aktifitas enzim ditentukan dengan uji gula tereduksi metoda Somogyi Nelson terhadap supernatan masing-masing sampel.

#### 3.5.6.1. Uji gula tereduksi metoda Somogyi-Nelson

Uji gula tereduksi metoda Somogyi-Nelson dilakukan duplo, meliputi urutan langkah kerja sebagai berikut :

- (a) 1 ml larutan pati terlarut diisikan ke dalam tabung reaksi sejumlah dua kali jumlah sampel, ditambah dua tabung sebagai kontrol. Tabung-tabung tersebut kemudian diinkubasi pada suhu  $42^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit,
- (b) ke dalam masing-masing tabung diisikan 0,1 ml supernatan. Reaksi dalam suhu  $42^{\circ}\text{C}$  dibiarkan selama 10 menit,
- (c) reaksi dihentikan dengan jalan memindahkan tabung-tabung tersebut ke dalam penangas air  $100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit,
- (d) ke dalam masing-masing tabung diisikan 1,6 ml reagen Somogyi I, kemudian 0,4 ml reagen Somogyi II. Campuran dikocok, mulut tabung ditutup kelereng dan dipanaskan dalam penangas air  $100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit, kemudian tabung-tabung dimasukkan dalam es yang sedang mencair selama 5 menit, selanjutnya ditambahkan ke dalam tabung reagen Nelson 2 ml dan 4,9 ml akuademineral dan dikocok kuat sambil menutup mulut tabung dengan ibu jari hingga seluruh gas yang terjadi keluar. Larutan diukur serapan cahayanya pada spektro-

fotometer pada panjang gelombang 520 nm (jika terjadi endapan, sebaiknya larutan disentrifugasi terlebih dahulu sebelum diukur serapan cahayanya).

(catatan : Untuk mengeliminir pengaruh glukosa yang terbentuk dari hidrolisis pati sepanjang waktu produksi terhadap hasil uji, dilakukan juga uji Somogyi-Nelson terhadap supernatan masing-masing sampel yang sudah dinaktifkan terlebih dahulu glukamilase yang terdapat di dalam supernatan dalam penangas suhu 100°C selama 10 menit).

### 3.5.6.2. Pembuatan kurva standar hubungan serapan cahaya dengan kadar glukosa

Kurva standar hubungan serapan cahaya dengan kadar glukosa diperlukan untuk menghitung besarnya aktifitas enzim dan menentukan kadar glukosa hasil hidrolisis. Adapun urutan kerja pembuatan kurva tersebut adalah :

- (a) 200 mg D-glukosa pro analisis dilarutkan dalam akuades sampai volume 1000 ml
- (b) larutan (a) dipindahkan ke dalam 11 tabung reaksi dengan volume yang ditentukan sebagai berikut,

Tabel 3. Penentuan konsentrasi glukosa untuk pembuatan kurva baku

No tabung	Larutan glukosa (ml)	Akuades (ml)	Konsentrasi glukosa yang diperoleh ( $\mu\text{g/ml}$ )
1	0	2,0	0
2	0,2	1,8	20
3	0,4	1,6	40
4	0,6	1,4	60
5	0,8	1,2	80
6	1,0	1,0	100
7	1,2	0,8	120
8	1,4	0,6	140

No tabung	Larutan glukosa (ml)	Akuades (ml)	Konsentrasi glukosa yang diperoleh ( $\mu\text{g/ml}$ )
9	1,6	0,4	160
10	1,8	0,2	180
11	2,0	0	200

- (c) dilakukan uji Somogyi-Nelson seperti pada 3.5.6.1.
- (d) dibuat grafik serapan cahaya (sumbu x) dengan kadar glukosa yang telah ditentukan sehingga didapat persamaan garis lurus hubungan antara serapan cahaya dengan kadar glukosa.

### 3.5.6.3. Penghitungan aktifitas enzim

Aktifitas enzim masing-masing sampel dihitung berdasar

rumus :

$$\text{A.E.} = \frac{f_s \times A \times K \times f_0}{t} \cdot 10^3$$

dengan A.E. = aktifitas enzim dalam unit

$f_s$  = faktor pengenceran contoh/sampel

A = serapan cahaya terukur

K = konsentrasi glukosa pada serapan cahaya = 1

$f_0$  = faktor pengenceran ekstrak enzim

$10^3$  = perubahan harga konsentrasi glukosa terukur

t = waktu pengujian

### 3.5.7. Penentuan kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis

Kadar glukosa tertinggi ditentukan berdasar serapan cahaya tertinggi masing-masing perlakuan (saat uji Somogyi-Nelson) yang dikonversikan pada persamaan kurva standar.

### 3.5.8. Pembuatan grafik hubungan antara umur biakan, aktifitas enzim dan jumlah mikroba

Data hasil penentuan aktifitas enzim dan jumlah mikroba digrafikkan terhadap umur biakan. Umur biakan pada sumbu x, aktifitas enzim dan jumlah mikroba pada sumbu y.

## 3.6. Analisis Data

Analisis data penelitian dilakukan terhadap data aktifitas enzim ketiga jenis mikroba yang digunakan untuk mengetahui mikroba mana yang produk enzimnya mempunyai aktifitas tertinggi, dan hubungan antara data aktifitas enzim dengan pertumbuhan masing-masing mikroba untuk mengetahui saat fase pertumbuhan apa glukamilase diproduksi optimum.

## BAB IV

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

## 4.1.1. Pengukuran diameter area jernih di sekitar koloni mikroba

Diameter area jernih di sekitar koloni mikroba (mikroba terpilih 1, 2 dan 3) diukur dengan mikroskop vernier OSK 4685 dengan ketelitian sampai 0,005 mm pada perbesaran mikroskop 50 kali. Pengukuran diameter masing-masing area jernih dilakukan dengan jalan memutar-pindahkan tepian area jernih yang diukur sembilan kali, kemudian hasil pengukuran dirata-rata (tabel 4).

Tabel 4. Diameter rata-rata area jernih mikroba 1, 2 dan 3

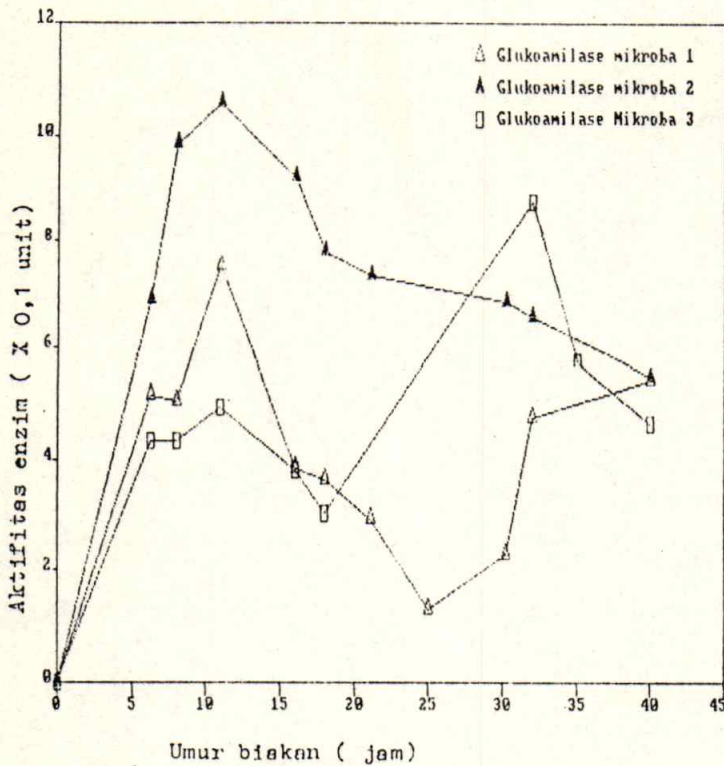
mikroba	diameter rata-rata area jernih (mm)
1	11,50 ± 0,40
2	14,17 ± 0,29
3	8,63 ± 0,41

## 4.1.2. Persamaan kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba

Persamaan kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba merupakan regresi linier dari data serapan cahaya terhadap jumlah masing-masing mikroba (Lampiran 3).

4.1.3. Aktifitas enzim

Data hasil penentuan aktifitas enzim berdasar uji Somogyi-Nelson (lampiran 1) dituangkan dalam grafik di bawah ini.

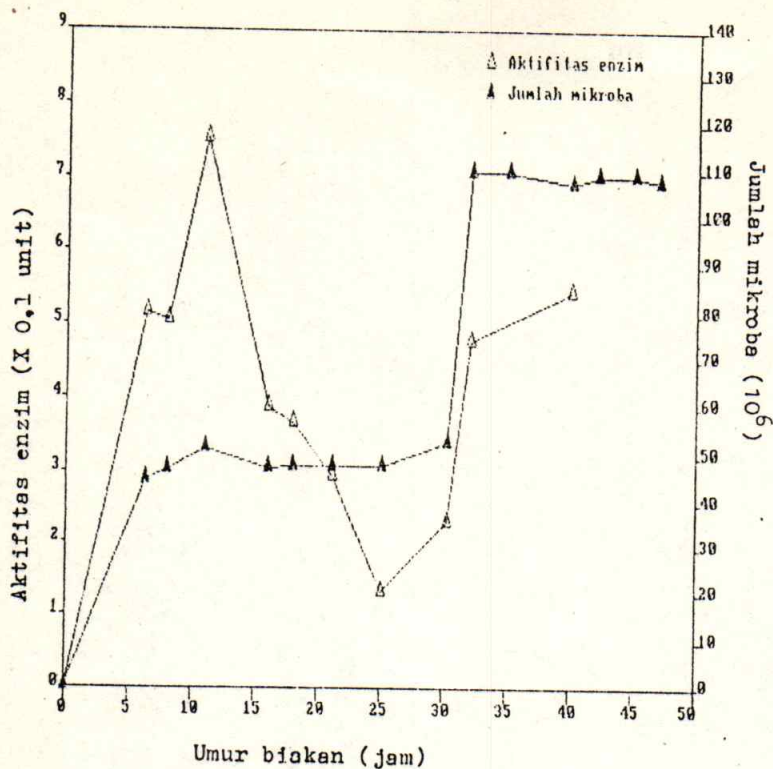


Gambar 1. Aktifitas enzim glukamilase produk mikroba 1, 2 dan 3 sepanjang waktu produksi

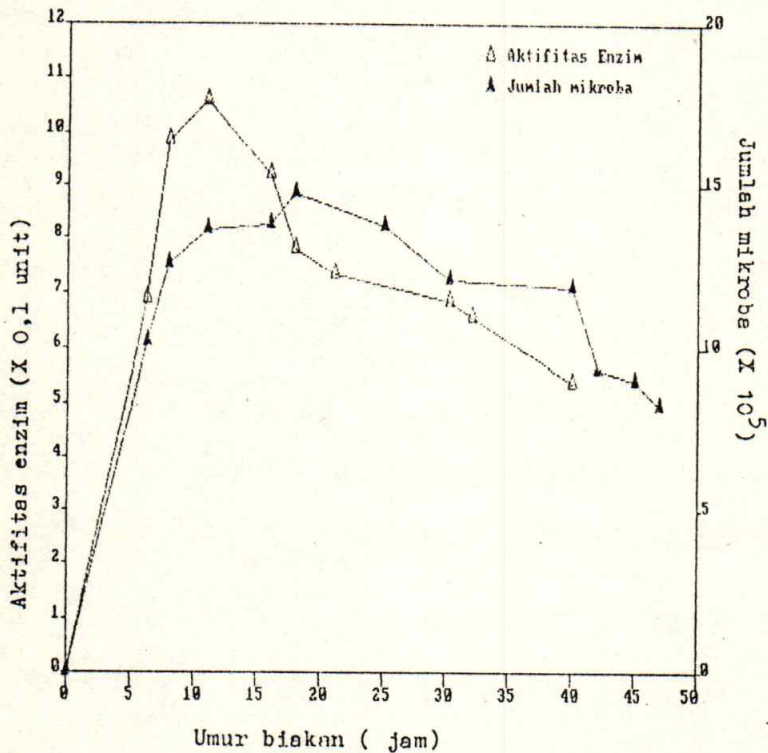
Aktifitas enzim tertinggi dicapai oleh mikroba 1 (0,7513 unit) pada umur biakan 11 jam, oleh mikroba 2 (1,0598 unit) di saat umur biakan 11 jam dan oleh mikroba 3 (0,8736 unit) pada umur biakan 32 jam

4.1.4. Grafik hubungan antara aktifitas enzim dan pertumbuhan mikroba

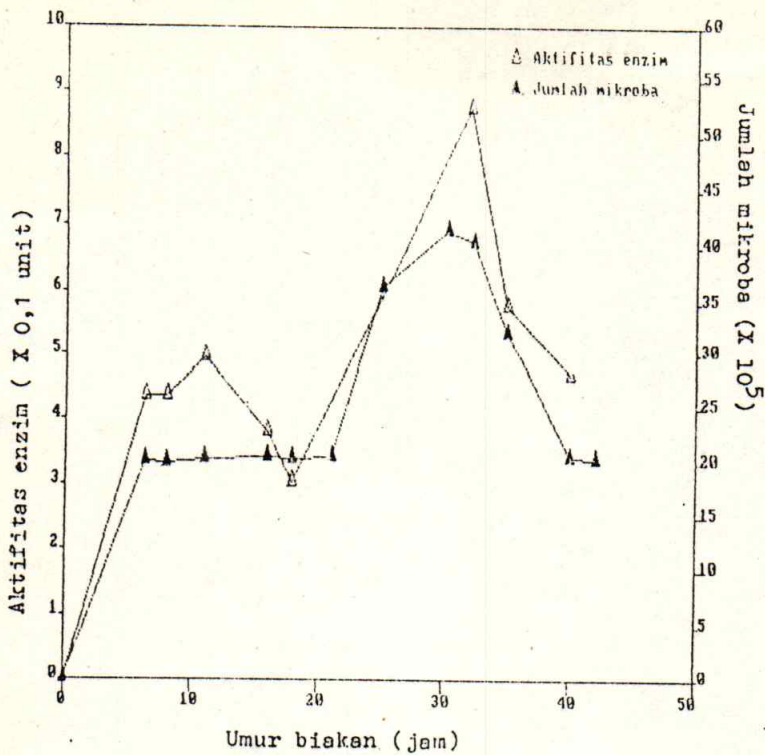
Grafik hubungan antara aktifitas enzim dan pertumbuhan mikroba 1, 2 dan 3 ditentukan berdasar data pada lampiran 1 dan 2.



Gambar 2. Hubungan antara aktifitas enzim produk mikroba 1 dengan pertumbuhannya sepanjang waktu produksi



Gambar 3. Hubungan antara aktifitas enzim produk mikroba 2 dengan pertumbuhannya sepanjang waktu produksi



Gambar 4. Hubungan antara aktifitas enzim produk mikroba 3 dengan pertumbuhannya sepanjang waktu produksi

4.1.5. Kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis

Kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis ditentukan berdasarkan konversi serapan cahaya tertinggi saat uji Somogyi-Nelson pada persamaan grafik (lampiran 4) dengan x adalah kadar glukosa dan y adalah serapan cahaya, adalah seperti terlihat pada tabel 5.

Tabel 5. Kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis glucoamilase produk mikroba 1, 2 dan 3

mikroba	kadar glukosa tertinggi hasil hidrolisis ( $\mu\text{g/ml/menit}$ )
1	7,4566
2	10,6477
3	8,7208



#### 4.2. Pembahasan

Dari Gambar 1 yang menunjukkan perbandingan aktifitas enzim mikroba 1, 2 dan 3 sepanjang waktu produksi, menunjukkan bahwa aktifitas enzim tertinggi dicapai oleh glukamilase produk mikroba 2 ( 1,0598 unit ) pada umur biakan 11 jam, kemudian disusul oleh glukamilase produk mikroba 3 ( 0,8736 unit ) pada umur biakan 32 jam dan glukamilase produk mikroba 1 ( 0,7513 unit ) pada umur biakan 11 jam. Jadi jika mempertimbangkan faktor waktu panen dan aktifitas enzimnya, pilihan yang paling menguntungkan adalah pada mikroba 2.

Jika diamati hubungan antara aktifitas glukamilase dengan pertumbuhan populasi mikroba 1 (gambar 2) nampak bahwa peningkatan aktifitas enzim berkaitan dengan kondisi populasi mikroba. Setelah jam ke 11 terjadi penurunan aktifitas enzim, dan pada saat itu pula ternyata populasi mikroba ada dalam keadaan statis, tidak menunjukkan adanya peningkatan jumlah populasi, Tetapi setelah jam ke 25, aktifitas enzim mulai meningkat bersamaan dengan terjadinya peningkatan jumlah populasi mikroba. Jadi pada kondisi biakan mikroba 1 aktifitas enzim akan meningkat hanya jika mikroba masih aktif melakukan peningkatan jumlah populasinya, sedangkan saat populasi tidak menunjukkan adanya pertumbuhan, aktifitas enzim akan terus menurun. Pola yang sama terjadi pula pada profil grafik hubungan aktifitas en-

zim mikroba 2 dan 3 yang akan meningkat jika populasi masih menunjukkan adanya pertumbuhan (gambar 3 dan 4).

Jika dibandingkan, profil Gambar 2, 3 dan 4 menunjukkan adanya perbedaan. Pada mikroba 2 dan 3 (Gambar 3 dan 4), aktifitas enzim maksimum dicapai pada akhir tahap logaritma, sedangkan aktifitas enzim maksimum mikroba 1 dicapai sebelum akhir tahap logaritma.

Menurut Timotius (1982), mikroba akan dapat langsung memasuki tahap logaritma kalau inokulum yang diinokulasikan ke media baru tersebut ada dalam keadaan logaritma, jadi tidak memerlukan waktu adaptasi (tahap permulaan) lagi. Hal ini terjadi pada biakan mikroba 2 yang dapat langsung memasuki tahap logaritma tanpa harus melalui tahap permulaan, jadi enzim yang dihasilkan dan dikeluarkan ke lingkungan yang kemudian dapat digunakan untuk mengubah pati jadi glukosa dapat menunjang peningkatan jumlah populasi mikroba, dengan kata lain peningkatan aktifitas enzim akan menyebabkan peningkatan jumlah glukosa hasil hidrolisis, peningkatan glukosa ini dimanfaatkan semaksimal mungkin untuk meningkatkan jumlah populasi.

Berbeda halnya dengan mikroba 1, peningkatan aktifitas enzim nampalnya menyebabkan glukosa melimpah terlalu banyak sehingga pertumbuhan terhambat. Mendukung hal ini, Timotius (1982) menyatakan bahwa akan terjadi tahap tetap di mana kecepatan pertumbuhan populasi mikroba berangsur turun sampai kecepatan pertumbuhannya sama dengan nol, jika terjadi akumu-

lasi hasil-hasil metabolisme. Kompensasi terhadap keadaan ini ditunjukkan dengan adanya penurunan aktifitas enzim (mulai umur biakan = 10 jam) saat populasi mikroba memasuki tahap tetap. Untuk memenuhi kebutuhan nutrisi, menyediakan glukosa yang cukup untuk tumbuh kembali, diperlukan peningkatan aktifitas enzim yang nampak setelah umur biakan 25 jam. Tahap tetap maksimum baru dicapai setelah umur biakan 30 jam. Fenomena ini juga terjadi pada biakan mikroba 3 dimana terjadi penurunan aktifitas enzim saat pertumbuhan populasi mikroba tetap (setelah jam ke-10) dan meningkat terus seiring peningkatan kecepatan tumbuh populasi mikroba sampai akhir tahap logaritma.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

- (1) Aktifitas enzim glukoamilase yang diproduksi oleh mikroba endogenous beragam menurut jenis mikroba.
- (2) Aktifitas enzim glukoamilase yang diproduksi oleh mikroba endogenous dipengaruhi oleh jumlah mikroba.

5.2. Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan agar mikroba endogenous dimanfaatkan sebagai agen pendaur ulang sampah yang efektifitasnya masih harus diteliti lebih lanjut melalui rekayasa mikrobial.

L A M P I R A N

Lampiran 1Hasil Penentuan Aktifitas Enzim

Aktifitas enzim ditentukan berdasarkan rumus.

$$A.E. = \frac{f_s \times A \times K \times f_0}{t} \cdot 10^3$$

di mana :  $f_s$  = 10  
 $A$  = nilai hasil pengukuran serapan cahaya  
 $K$  = 91,2856  
 $f_0$  = 1  
 $t$  = waktu pengujian = 10 menit

Hasil penentuan aktifitas enzim dapat diamati pada tabel berikut.

Umur biakan (jam)	Aktifitas enzim (unit)		
	produk mikroba 1	produk mikroba 2	produk mikroba 3
0	0	0	0
6,25	0,5167	0,6883	0,4354
8	0,5057	0,9359	0,4345
11	0,7513	1,0598	0,4939
16	0,3852	0,9202	0,3807
18	0,3650	0,7814	0,3031
21,08	0,2930	0,7348	-
25	0,1314	-	-
30,25	0,2300	0,6837	0,8736
32	0,4774	0,6560	0,5760
40	0,5449	0,5413	0,4665

Lampiran 2

Data hasil hitung jumlah mikroba sepanjang waktu produksi

Umur biakan (jam)	Jumlah mikroba / ml		
	1	2	3
0	0	0	0
6,25	45 .10 <sup>6</sup>	10,19.10 <sup>5</sup>	20,18.10 <sup>5</sup>
8	47 .10 <sup>6</sup>	12,53.10 <sup>5</sup>	19,93.10 <sup>5</sup>
11	51,42.10 <sup>6</sup>	13,56.10 <sup>5</sup>	20,36.10 <sup>5</sup>
16	47,5 .10 <sup>6</sup>	13,77.10 <sup>5</sup>	20,4 .10 <sup>5</sup>
18	47,59.10 <sup>6</sup>	14,76.10 <sup>5</sup>	20,35.10 <sup>5</sup>
21,083	47,63.10 <sup>6</sup>	-	20,4 .10 <sup>5</sup>
25	47,63.10 <sup>6</sup>	13,7 .10 <sup>5</sup>	36,3 .10 <sup>5</sup>
30,25	52,67.10 <sup>6</sup>	12,03.10 <sup>5</sup>	41,51.10 <sup>5</sup>
32	109,9 .10 <sup>6</sup>	-	40,33.10 <sup>5</sup>
35	110,09.10 <sup>6</sup>	-	31,98.10 <sup>5</sup>
40	107,54.10 <sup>6</sup>	11,84.10 <sup>5</sup>	20,4 .10 <sup>5</sup>
42	109,29.10 <sup>6</sup>	9,43.10 <sup>5</sup>	20,38.10 <sup>5</sup>
45	108,96.10 <sup>6</sup>	9,03.10 <sup>5</sup>	-
47	107,7 .10 <sup>6</sup>	8,32.10 <sup>5</sup>	-

Lampiran 3

Data serapan cahaya terukur pada  $\lambda = 660$  nm dan jumlah sel mikroba 1, 2 dan 3 adalah sebagai berikut.

Mikroba	Serapan cahaya terukur	Jumlah sel/ml
1	0	0
	0,001	4,17 . 10 <sup>6</sup>
	0,002	4,89 . 10 <sup>6</sup>
	0,005	2,08 . 10 <sup>7</sup>
	0,01	2,44 . 10 <sup>7</sup>
	0,012	2,93 . 10 <sup>7</sup>
	0,025	1,04 . 10 <sup>8</sup>
2	0	0
	0,002	0,497 . 10 <sup>6</sup>
	0,002	0,275 . 10 <sup>6</sup>
	0,003	0,465 . 10 <sup>6</sup>
	0,012	1,927 . 10 <sup>6</sup>
	0,015	2,325 . 10 <sup>6</sup>
	0,016	3,982 . 10 <sup>6</sup>
3	0	0
	0,001	0,674 . 10 <sup>5</sup>
	0,002	1,710 . 10 <sup>5</sup>
	0,006	4,040 . 10 <sup>5</sup>
	0,008	14,105 . 10 <sup>5</sup>
	0,014	12,000 . 10 <sup>5</sup>
	0,019	35,500 . 10 <sup>5</sup>
0,023	42,400 . 10 <sup>5</sup>	

Dari hasil regresi linier didapatkan persamaan kurva hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba, yaitu untuk :

(a) mikroba 1,  $y = (245,4820 x + 7,3418) 10^6$ ,

(b) mikroba 2,  $y = (137,6441 x + 0,0120) 10^6$ ,

(c) mikroba 3,  $y = (18,1494 x + 2,735) 10^5$ .



Lampiran 4

Hasil pengukuran serapan cahaya terhadap larutan glukosa dengan kadar yang telah ditentukan dari hasil uji Somogyi-Nelson

No	Kadar glukosa dalam larutan ( $\mu\text{g/ml}$ )	Serapan cahaya terukur pada = 520 nm
1	0	0
2	20	0,3
3	40	0,4
4	60	0,75
5	80	0,91
6	100	1,12
7	120	1,28
8	140	1,51
9	160	1,58
10	180	1,80
11	200	2,31
12	220	2,42

Persamaan kurva baku hubungan antara serapan cahaya terukur dengan kadar glukosa merupakan regresi linier dari data tersebut di atas. Persamaan regresi yang diperoleh adalah.

$$y = 0,0106 x + 0,0326$$

dengan y adalah serapan cahaya terukur dan x adalah kadar glukosa.