

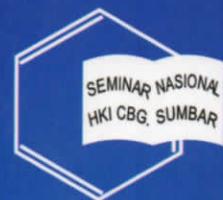
Minda Azhar
UNP

Minda Azhar
KI Padang - UNP



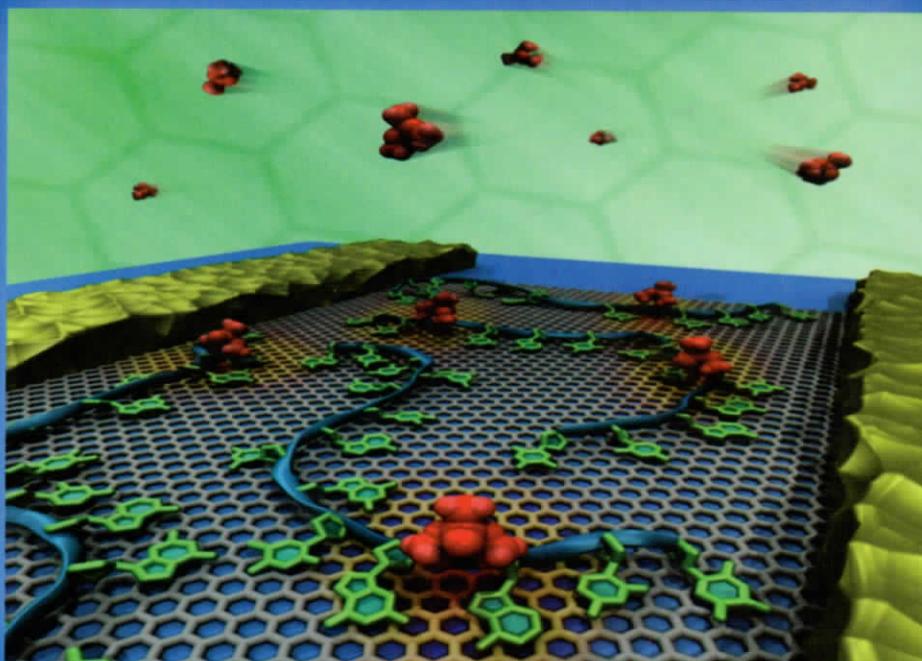
Cabang Sumatera Barat

Prosiding



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA

Padang, 7 Desember 2013



**Penelitian Sains Terapan dan
Pendidikan Dalam Mendukung
Kemandirian Bangsa dan Peningkatan
Mutu Pendidikan**

**HIMPUNAN KIMIA INDONESIA
(HKI) CABANG SUMBAR**

Minda Azhar
Kima - UNP

PROSIDING SEMINAR NASIONAL

*“Penelitian Sains Terapan dan Pendidikan dalam
Mendukung Kemandirian Bangsa dan
Peningkatan Mutu Pendidikan”*

PROSIDING SEMINAR NASIONAL

*“Penelitian Sains Terapan dan Pendidikan dalam
Mendukung Kemandirian Bangsa dan
Peningkatan Mutu Pendidikan”*

DISUSUN OLEH:
HIMPUNAN KIMIA INDONESIA (HKI)
CABANG SUMBAR

PROSIDING
SEMINAR NASIONAL

"Penelitian Sains Terapan dan Pendidikan dalam Mendukung Kemandirian Bangsa dan Peningkatan Mutu Pendidikan"

1 (satu) jilid; A4
373 Hal

ISBN : 978-602-17878-2-3

Hak Cipta © 2014 pada Penulis

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini dengan cara apapun, termasuk dengan penggunaan mesin fotocopy, tanpa izin sah dari penerbit

Percetakan	: Sukabina
Penyusun	: Himpunan Kimia Indonesia Cabang Sumbar
Editor	: Prof. Dr. Novesar Jamarun Prof. Dr. Syukri Arief Prof. Dr. Safni Prof. Dr. Saryono Prof. Dr. Jhon Hendri Dr. Djaswir Darwis Dr. Mawardi Dr. Zulhadjri Dr. Budhi Oktavia Dr. Ananda Putra Dr. Diana Vanda Wellia Imelda, M.Si.
Layout	: Sari Jumiatti
Desain Sampul	: Jafril

Hak Cipta dilindungi Undang-undang
Isi diluar tanggung jawab Penerbit dan Percetakan

Tim Editorial

- Prof. Dr. Novesar Jamarun
- Prof. Dr. Syukri Arief
- Prof. Dr. Safni
- Prof. Dr. Saryono
- Prof. Dr. Jhon Hendri
- Dr. Djaswir Darwis
- Dr. Mawardi
- Dr. Zulhadjri
- Dr. Budhi Oktavia
- Dr. Ananda Putra
- Dr. Diana Vanda Wellia
- Imelda, MSi.

Panitia Seminar

- Pengarah : Prof. Dr. Novesar Jamarun
Prof. Dr. Ali Amran
Prof. Dr. Edison Munaf
Prof. Dr. Hazli Nurdin
Dr. Adlis Santoni
Andromeda, MSi
Dr. Hardeli
Prof. Dr. Syukri Arief
- Ketua : Dr. Syukri
- Wakil Ketua : Dr. Zulhadjri
Dr. M. Taufik Eka Prasada
- Sekretaris : Dr. Budhi Oktavia
- Wk.Sekretaris : M. Ikhlas Armin, MSc.
- Bendahara : Andromeda, MSi.

Seksi Ilmiah dan Prosiding :

Prof. Dr. Safni, Dr. Mai Efdi, Imelda, MSi., Dr. Ananda Putra, Dr. Diana Vanda Wellia, Dr. Mawardi, Dr. Jon Effendi

Seksi Sekretariat dan Acara:

Olly Norita Tetra, MSi, Sherly Kasuma W.N., MSi, Hary Sanjaya, MSi.

Seksi Humas dan Dokumentasi :

Edi Nasra, MSi, Dr. Indang Dewata, Dr. Upita Septiani, Dra.Asnailis, Fitri Amelia, MSi., Elda Pelita, MSi.

Seksi Dana :

Rahmayeni, MS, Dr. Djaswir Darwis, , Dr. Eti Yerizel, Dr.Zulkarnain Chaidir

Seksi Konsumsi :

Marniati Salim, MS, Iryani, MS, Dr. Refilda, Bayharti, MSc., Sri Benti Etika, MSi

Seksi Perlengkapan dan Tempat :

Hazil Anwar, MSi, Yerimadesi, Msi, Deski Beri, MSi, Yulizar Yusuf, MS, Zamzibar Zuki, MP., Refinel, MS,, Dr. Zilfa, Eli Desni Rahman, M.Si

Seksi Transportasi :

Iswendi, MS, Dr. Afrizal, Bustanul Arifin, MS, Indrawati, MS, Ike Yolanda, MSi

Kata Sambutan Ketua HKI Cabang Sumbar

Assalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh

Puji syukur kita panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-NYA seminar Nasional HKI cabang Sumatera Barat dengan tema "Penelitian Sains Terapan dan Pendidikan dalam Mendukung Kemandirian Bangsa dan Peningkatan Mutu Pendidikan" dapat terselenggara pada tanggal 7 Desember 2013 dan prosidingnya pun sudah dapat diterbitkan.

Sesuai dengan tema dari seminar nasional di atas, sebagai ketua HKI cabang Sumbar, saya berharap riset-riset yang sudah dilakukan oleh peneliti-peneliti di perguruan tinggi dapat diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari, pendidikan ilmu kimia semakin disukai dan hasil-hasil penelitian dapat dipublikasikan. Melalui pendidikan ilmu kimia dan dilanjutkan dengan riset (penelitian) serta penerapannya dalam bidang industri diharapkan nantinya dapat mengeksplorasi sumber-sumber kekayaan alam Indonesia umumnya dan Sumatera Barat khususnya dan menghasilkan karya-karya yang berdaya jual tinggi.

Selanjutnya saya mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada panitia penyelenggara serta seluruh pengurus HKI cabang Sumbar atas segala usaha dan upaya yang telah dilakukan. Semoga seminar nasional ini dapat dilakukan setiap tahun dan meningkatkan skalanya menjadi internasional. Diharapkan seminar kedepan tidak hanya dihadiri oleh para akademisi tapi juga oleh para praktisi dan industri.

Pada kesempatan ini saya juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil.

Demikian sambutan saya, semoga prosiding ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalam,

Ketua HKI cabang Sumbar

Prof.Dr.H. Novesar Jamarun

Kata Pengantar

Segala puji dan syukur marilah kita panjatkan kepada Allah SWT atas telah terselenggaranya Seminar Nasional Himpunan Kimia Indonesia Cabang Sumatera Barat untuk yang kedua kalinya, bertempat di Universitas Negeri Padang, pada hari Sabtu tanggal 7 Desember 2013.

Seminar ini telah menjadi wadah yang sangat baik bagi saling tukar informasi penelitian dan pendidikan bidang kimia sesuai dengan tema seminar yaitu Penelitian Sains Terapan dan Pendidikan Dalam Mendukung Kemandirian Bangsa dan Peningkatan Mutu Pendidikan. Luaran lainnya adalah diharapkan muncul kerjasama antar Perguruan Tinggi dan Korporasi baik skala daerah, nasional dan tentu harapan selanjutnya adalah internasional.

Sebagai pendukung hasil-hasil yang telah diseminarkan maka Panitia merumuskan Prosiding Seminar ini dalam rangka mendokumentasikan berbagai hasil Penelitian Sains dan Pendidikan. Sebagai tambahan, Prosiding ini juga sangat bermanfaat bagi seluruh pemakalah, peserta dan pihak-pihak manapun yang ingin mengetahui perkembangan penelitian bidang Kimia dosen, mahasiswa dan peneliti yang bernaung dibawah HKI Cabang Sumatera Barat.

Kami berharap semoga Prosiding ini dapat bermanfaat sebagai tolak ukur atau sumber rujukan untuk penelitian-penelitian selanjutnya baik penelitian sains maupun pendidikan. Atas kerjasama seluruh pihak mulai Pengurus HKI, Panitia yang berasal dari beberapa Perguruan Tinggi di Sumatera Barat dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu disini, kami ucapkan terima kasih.

Padang, Desember 2013

Ketua Panitia

Dr. Syukri

Daftar Isi

Tim Editor dan Panitia Seminar	v
Kata Sambutan Ketua HKI Cabang Sumbar	vii
Kata Pengantar	ix
Daftar Isi	xi
Daftar Acara Seminar	xv
Dinamika Kelarutan <i>Methyl Tymol Blue</i> (MTB) dalam Mikroemulsi Sistem Air, Tween-20 dan Sikloheksana oleh Ali Amran dan Deski Beri	1-6
Studi Kontaminasi Cu dan Zn dalam Sawi dan Kol pada Beberapa Daerah di Sumatera Barat oleh Amrin dan Edi Nasra	7-10
Sintesis Dan Karakterisasi Selulosa Bakterial Berserat Terorientasi Dalam Tabung Silikon oleh Ananda Putra	11-14
Amobilisasi Lipase Hasil Isolasi <i>Darimucor Miehei</i> Dalam Matriks Opp untuk Esterifikasi Laktosa dan Asam Oleat oleh Anna Roosdiana, Rasjad Indra, Diah Mardiana, dan Hary Agustawan	15-19
Preparasi Apatit Lantanum Silikat dengan Metode Hidrotermal Sederhana oleh Atiek Rostika Noviyanti, Solihudin, dan Rukiah	20-24
Profil Hormon Estrogen dan Progesteron Terhadap Tikus (<i>Rattus Norvegicus</i>) Model Kanker Mammae Yang Diinduksi DMBA (7,12-Dimethylbenz(A)Anthracene) oleh Aulia Firmawati, Anna Roosdiana, Dyah Ayu Oktavianie, dan Herawati	25-29
Karakterisasi Zeolit Alam Sebagai Fasa Diam pada Kromatografi Cair oleh Budhi Oktavia, Desy Kurniawati, dan Dasnawati	30-35
Sintesis Secara Enzimatis Alkilamida dari Minyak Inti Buah Ketapang dengan Substrat Urea oleh Dedy Suhendra, Erin Ryantin Gunawan, dan Murniati	36-43
Optimasi Analisis Fe, Co dan Ni Secara Simultan dengan Voltametri Stripping Adsorptif (Adsv) Untuk Penentuan Logam Dalam Konsentrasi Runut oleh Deswati, Hamzar Suyani, Umiati Loekman, dan Hilfi Pardi	44-50
Pengaruh pH dan Variasi Fasa Gerak Terhadap Penentuan Kadar Asam Askorbat Dan Asam Benzoat Menggunakan HPLC oleh Desy Kurniawati, Budhi oktavia, Zul Afkar, dan Edi Nasra	51-57
Pemurnian Menggunakan Teknik Rekayasa Destilasi Penurunan Tekanan Terhadap Karakter Minyak Nilam oleh Diah Mardiana, Bambang Ismuyanto, dan A.S. Dwi Saptati	58-62
Penurunan Kadar Logam dalam Limbah Air Sungai dengan Menggunakan Mineral Alam Indonesia yang Teremban TiO ₂ oleh Diana Rakhmawaty Eddy, Iwan Hastiawan, dan Yusi Deawati	63-70
Synthesis and Application of Sn-Doped TiO ₂ Thin Films Prepared by Peroxo Sol-Gel Method oleh Diana V. Wellia, Tuti Mariana Lim, and Timothy Thatt Yang Tan	71-78
Identifikasi Betasianin dan Uji Antioksidan dari Ekstrak Daun Bayam Merah (<i>Amaranthus Tricolor L</i>) Sebagai Zat Warna Makanan oleh Djaswir Darwis, Yunazar Manjang, dan Fitri Yoni Yuliza	79-86
Efektivitas Surfaktan Terhadap Transportasi Fenol dalam Teknik Membran Cair Fasa Ruah oleh Djufri Mustafa, Zaharasma Kahar, dan Khairunnisa	87-91

Pretreatment Basa Terhadap Tongkol Jagung dan Aplikasinya dalam Produksi Bioetanol oleh Elida Mardiah, Mitra Oktavia, dan Zulkarnain Chaidir	92-97
Karakterisasi Resin Damar dan Zeolit dari <i>Bottom Ash</i> Sebagai Bahan Elektroda Superkapasitor oleh Emriadi, Admin Alif, Afdhal Muttaqin, dan Olly Norita Tetra	98-102
Silika Sekam Padi Sebagai Bahan Pengisi Membran Selulosa Asetat Untuk Pervaporasi Etanol-Air oleh Evy Ernawati, Solihudin, dan Iman Rahayu	103-106
Analisa Mineral Magnetik Dengan Metode Difraksi Sinar -X Pada Endapan Pasir Besi Di Kabupaten Padang Pariaman oleh Fadhilah	107-109
Fotodegradasi Senyawa <i>Methyl Violet</i> Menggunakan Sinar UV 254 nm Dengan Bantuan TiO ₂ /PEG Sebagai Fotokatalis oleh Hary Sanjaya dan Hardeli	110-115
Kajian Kelayakan Kimia Pasir Besi Daerah Padang Pariaman untuk Bahan Baku Semen pada PT. Semen Padang oleh Heri Prabowo, Fadhillah, dan Bambang Heriyadi	116-119
Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol <i>Curcuma Longa</i> L. Pada Tikus Model Diabetes Militus Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Viabilitas Spermatozoa oleh Herlina Pratiwi dan Djoko Winarso	120-124
Studi Spektroskopi <i>Blending</i> Garam Logam Transisi MCl ₂ (M = Mn, Fe, Co, Ni) dengan ZnO oleh Hidayaturrahmat, Eka Mai Sosila Detri, Prieta Rahmanda Putri, Rika Fitri Yeni, Admi, Emdeniz, Yetria Rilda, dan Syukri	125-128
Karakterisasi Berilium Porfirin Sebagai Bahan Dasar Fotodetektor oleh I Gusti Made Sanjaya, Gawang Pamungkas, dan Dian Novita	129-132
Studi Adsorpsi Atom Aluminium pada Permukaan Grafena dengan Metode Am1 dari Paket Hyperchem oleh Imelda, Emdeniz, dan Rikha Septiani Yuda	133-141
Pengaruh Suhu Sintering Terhadap Efektivitas Sintesis Biomaterial Kalsium Hidroksiapatit Dari Limbah Cangkang Kepiting oleh Indah Raya, Andi Ilham, dan M. Syahrul	142-148
Mempelajari Produksi Bioetanol dari Ampas Tebu dengan Pretreatment (NaOH-NH ₄ OH) Secara <i>Simultaneous Sacharification Fermentation Method</i> (SSF) oleh Marniati Salim, Elida Mardiah, dan Melysa Putri	149-152
Karakterisasi Material Alam Tanah Napa Sumatera Barat dengan X-Ray Fluorescence (XRF) oleh Mawardi, Hari Sanjaya, dan Desy Kurniawati	153-156
Aktivitas Antioksidan Kulit Biji Buah Pinang Yaki <i>Areca Vestiara</i> Giseke oleh Max R.J Runtuwene dan Paulina V.J. Yamlean	157-162
Identifikasi Gen 16S rRNA Bakteri Termofilik Yang Memperlihatkan Aktivitas Enzim Penghidrolisis Inulin Tipe Exo- Dari Sumber Air Panas Rimbo Panti oleh Minda Azhar, Sumaryati Syukur, Dessy Natalia, Mardaleni Fitri, Vovien Vionica dan Jamsari	163-171
Fitoremediasi: Akumulasi Dan Distribusi Logam Berat Nikel, Cadmium Dan Chromium Dalam Tanaman <i>Ipomea reptana</i> oleh Muliadi, Deasy Liestianty, Yanny, dan Sabir Sumarna	172-176
Pektin Kulit Durian Sebagai Biosorben Logam Berat Pb oleh Nina Arlofa, Shohifah Annur, dan Retno Wulandari	177-180
Pengaruh Konsentrasi Ca(OH) ₂ Terhadap Pembentukan <i>Precipitated Calcium Carbonat</i> oleh Novesar Jamarun dan Ramadanis	181-184
Pembuatan Material Komposit Kitin-Kitosan dari Limbah Kulit Udang oleh Rahmayeni, Yeni Stiadi, dan Refrani Andyta	185-191
Penggunaan Asap Cair Tempurung Kelapa Untuk Mempertahankan Kualitas Daging Ayam Broiler oleh Refilda, Nesa Wani Harahap, dan Indrawati	192-196

IDENTIFIKASI GEN 16S rRNA BAKTERI TERMOFILIK YANG MEMPERLIHATKAN AKTIVITAS ENZIM PENGHIDROLISIS INULIN TIPE EXO- DARI SUMBER AIR PANAS RIMBO PANTI

Minda Azhar^{1*#}, Sumaryati Syukur^{2*}, Dessy Natalia^{3*},
Mardaleni Fitri^{1*}, Vovien Vionica^{4*}, Jamsari^{4*}

^{1*}Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang. Jl. Prof. Hamka, Air Tawar Padang.

^{2*}Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Andalas. Kampus Unand Limau Manis.

^{3*}Kelompok Riset Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung. Jl. Ganesha 10, Bandung.

^{4*}Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian. Universitas Andalas. Kampus Unand Limau Manis, Padang.

E-mail : minda@fmipa.unp.ac.id

Abstrak. Bakteri termofilik merupakan sumber potensial enzim termostabil penghidrolisis inulin yang mengubah inulin ke fruktosa dan prebiotik *fructo-oligosaccharides* (FOS). Isolasi dan identifikasi gen 16S rRNA bakteri termofilik penghidrolisis inulin yang memperlihatkan aktivitas enzim tipe exo- dari sumber air panas Rimbo Panti di Pasaman telah dilakukan. Skrining bakteri termofilik penghidrolisis inulin dilakukan menggunakan metoda *direct* dan *indirect* pada medium yang mengandung inulin-RBB sebagai satu-satunya sumber karbon. Gen 16S rRNA bakteri diisolasi dengan teknik PCR dan ditentukan urutan basa nukleotidanya dengan metoda *dideoxy*-Sanger. Satu isolat bakteri termofilik penghidrolisis inulin telah diperoleh dari 48 isolat. Isolat ini ditandai dengan UBCT-055. Menurut analisis gen 16S rRNA, isolat ini diidentifikasi sebagai *Bacillus*. Aktivitas enzim penghidrolisis inulin isolat ini menunjukkan tipe exo- berdasarkan data pada TLC.

Key words: *Bacillus* sp, 16S rRNA gene, inulin, inulin hydrolysis enzyme, thermophilic bacteria

I. Pendahuluan

Pembuatan fruktosa dari inulin dapat digunakan enzim penghidrolisis inulin sebagai katalis. Proses ini jauh lebih efektif dan efisien dibandingkan dari pati. Pembuatan fruktosa dari pati melibatkan tiga enzim, yaitu amilolisis pati dengan katalis α -amilase dan amyloglucosidase, diikuti dengan perubahan glukosa ke fruktosa yang dikatalisis oleh glukosa isomerase. Proses ini menghasilkan maksimal hanya sekitar 42% fruktosa, sisanya 50% glukosa dan 8% oligosakarida^[1]. Hidrolisis inulin menggunakan enzim penghidrolisis inulin seperti inulinase menghasilkan fruktosa di atas 95% yang dikenal sebagai *pure fructose syrup* atau *high fructose syrup*. Bahkan menurut Zittan^[1] hidrolisis sempurna inulin dengan inulinase dapat dihasilkan lebih dari 98% fruktosa pada suhu 60-65°C.

Enzim penghidrolisis inulin merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan glikosida pada inulin seperti inulinase, levanase dan invertase. Inulinase atau levanase dapat mengkatalisis pemutusan ikatan $\beta(2\rightarrow1)$ -fructofuranosidic dari ujung terminal fruktosa pada inulin dikenal dengan tipe *exo-*, sedangkan yang mengkatalisis pemutusan ikatan $\beta(2\rightarrow1)$ -fructofuranosidic pada bagian dalam untai inulin dikenal sebagai tipe *endo-*. Kelompok enzim ini dapat dihasilkan oleh bakteri termofilik.

Bakteri termofilik penghasil enzim penghidrolisis inulin merupakan pilihan yang paling tepat untuk membuat fruktosa dan prebiotik *fructo-oligosaccharides* (FOS) dari inulin. Penggunaan bakteri ini menguntungkan karena enzim yang diekspresikan lebih mudah dimurnikan akibat perlakuan panas dan bersifat termostabil. Selain itu, reaksi enzimatik pada suhu tinggi memungkinkan kelarutan substrat lebih tinggi, memperendah viskositas, memperkecil resiko kontaminan dan kecepatan reaksi makin tinggi^[2]. Kelarutan inulin dalam air makin besar jika suhu dinaikkan^[3].

Strain bakteri termofilik yang mempunyai aktivitas inulinase ternyata dimiliki oleh genus *Bacillus*^[4]. Kebanyakan bakteri termofilik termasuk genus *Bacillus*^[5]. Gao telah menentukan urutan basa nukleotida sebagian gen 16S rRNA bakteri termofilik yang mengekspresikan endoinulinase termostabil yang ternyata diidentifikasi sebagai spesies *Bacillus smithii* T7^[6].

Sumatera Barat mempunyai potensi untuk memproduksi fruktosa dan prebiotik FOS dari inulin menggunakan enzim termostabil penghidrolisis inulin dari bakteri sumber air panas. Tanaman dahlia sebagai sumber inulin tumbuh subur di dataran tinggi Sumatera Barat. Rimbo Panti terletak di Kabupaten Pasaman Sumatera Barat merupakan lokasi mata air panas, dan kolam pemandian air panas. Tempat ini terletak di jalan lintas Bukittinggi-Medan dengan jarak sekitar 200 km dari kota Padang. Informasi bakteri termofilik penghasil enzim penghidrolisis inulin yang berasal dari bakteri sumber air panas Rimbo Panti di Pasaman belum pernah dilaporkan sebelumnya.

Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan analisis gen 16S rRNA. Analisis kesamaan urutan basa gen 16S rRNA praktis untuk definisi spesies. Derajat kesamaan urutan basa nukleotida gen 16S rRNA $\geq 97\%$ sering dipertimbangkan sebagai kelompok spesies yang sama^[7]. Penggunaan analisis gen 16S rRNA sebagai pendekatan definisi spesies secara molekuler pada bakteri dapat menunjukkan hubungan kekerabatan. Tujuan penelitian adalah mengisolasi bakteri yang memperlihatkan aktivitas enzim penghidrolisis inulin dari isolat yang berasal dari Rimbo Panti di Pasaman. Bakteri penghidrolisis inulin yang ditemukan, diidentifikasi berdasarkan morfologi, mikroskopik dan analisis gen 16S rRNA. Tipe aktivitas enzim penghidrolisis inulin ditentukan menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC).

2. Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi bakteri, reagen kimia, DNA, inulin, dan inulin-RBB. Zat untuk ekstraksi inulin adalah etanol, aquades dan karbon aktif. Reagen *gram staining* adalah kristal violet, etil-alkohol, ammonium oksalat, iodine, kalium iodida dan safranin.

Bahan untuk ekstraksi dan analisis DNA antara lain SDS, EDTA, kloroform, isoamilalkohol, etanol, tris-base, gliserol, asam asetat glasial, isopropanol, ethidium bromide, bromophenol blue, agarose, buffer PCR 10x dan dNTPs. Enzim yang digunakan pada penelitian ini meliputi Taq Polymerase. Zat untuk menentukan tipe aktivitas enzim penghidrolisis inulin adalah fruktosa, glukosa, sukrosa, reagen Nelson-Somogyi, silika gel 60 F₂₅₄, asam asetat, kloroform, air, anilin, diphenylamine, aseton, asam fosforat.

DNA yang digunakan pada penelitian ini adalah DNA kromosom yang diisolasi dari bakteri penghidrolisis inulin, primer BactF1 dan UniB1, dan marker DNA 1kb. Inulin diekstraksi dari umbi tanaman dahlia. Sebagai pembanding digunakan inulin *chicory* (Sigma Aldrich).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi inulin dari umbi dahlia dan pembuatan inulin-RBB

Ekstraksi inulin dari umbi tanaman dahlia dilakukan sesuai prosedur Andyani^[8]. Inulin-RBB dibuat sesuai prosedur yang dimuat pada Castro^[9]. Inulin-RBB dibuat pada kondisi optimum yang diperkirakan kadar RBB paling banyak terikat pada inulin^[10].

Isolasi bakteri penghidrolisis inulin

Bakteri penghidrolisis inulin diisolasi dari 48 isolat bakteri yang berasal dari sumber air panas Rimbo Panti di Pasaman. Bakteri ini diisolasi pada media seleksi yang mengandung (g/L); 2g (NH₄)₂SO₄, 14g KH₂PO₄, 6g K₂HPO₄·3H₂O, MgSO₄·7H₂O, trisodium

citrate, inulin atau inulin-RBB, dan agar^[9]. Bakteri penghidrolisis inulin diisolasi menggunakan metoda *direct* dan *undirect isolation*.

Morfologi, dan mikroskopik sel

Morfologi koloni dilakukan dengan pengamatan bentuk koloni. Mikroskopik bakteri dilakukan dengan *gram staining* sesuai prosedur dari Merck KGaA, 64271 Darmstadt (Germany, 2007).

Menentukan ratio aktivitas enzim penghidrolisis inulin dan aktivitas invertase

Satu koloni bakteri dikulturkan pada 5 mL media seleksi. Kultur diinkubasi selama 20-24 jam pada shaker suhu 50°C, 150 rpm. Kultur didinginkan pada suhu 4°C, selanjutnya disentrifugasi pada 5000xg, 4°C selama 10 menit. Supernatan disimpan pada suhu -20°C sebagai *crude* enzim.

Aktivitas enzim penghidrolisis inulin pada substrat inulin ditentukan dengan mengukur gula pereduksi yang terbentuk dengan metoda Somogyi-Nelson^[11]. Sebagai larutan standar adalah larutan fruktosa 10, 30, 50, 70 dan 60 mg/mL. Aktivitas invertase (substrat sukrosa) ditentukan dengan mengukur gula pereduksi (glukosa dan fruktosa). Sebagai larutan standar adalah equimolar larutan fruktosa dan glukosa (10, 30, 50, 70 dan 60 mg/mL). Absorbansi diukur pada λ 510 nm menggunakan spektrofotometer.

Campuran reaksi terdiri dari 75 μ L 2% (w/v) inulin atau sukrosa dilarutkan dalam buffer asetat (pH 5) dan 75 μ L krude enzim diinkubasi pada suhu 55°C selama 1 dan 24 jam. Satu unit aktivitas enzim penghidrolisis inulin didefinisikan sebagai μ mol fruktosa yang dihasilkan permenit oleh ekstrak enzim bebas sel. Satu unit invertase didefinisikan sebagai μ mol gula pereduksi yang dihasilkan permenit oleh 1 mL ekstrak enzim bebas sel.

Pengujian krude enzim penghidrolisis inulin

Penentuan tipe aktivitas enzim dilakukan pada produk hidrolisis inulin akibat aktivitas enzim penghidrolisis inulin dengan TLC sesuai prosedur yang disadur dari Ertan dan Ekinci^[12]. Produk hidrolisis inulin sebanyak 3 μ L ditotolkan pada *plate* TLC (silika gel 60 F₂₅₄). Fasa gerak adalah campuran asam asetat, kloroform dan air (35:30:5,v/v/v). Karbohidrat pada *plate* TLC dideteksi dengan reagen aniline-diphenylamine (1 mL aniline dan 1 g diphenylamine dalam 100 mL aseton dengan 10 mL asam fosforik 85%).

Isolasi DNA kromosom bakteri dan amplifikasi gen 16S rRNA

Isolasi DNA kromosom bakteri dilakukan sesuai prosedur *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega). Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan dengan teknik PCR menggunakan alat C1000 Thermal Cycler, BioRad. Komposisi master mix sebagai berikut: 2,5 μ L Dream Tag buffer10x, 2,5 μ L dNTP mix 2mM, 1 μ L MgCl₂ 2,5mM, 0,5 μ L primer BactF1 (5'AGAGTTT-GATC(A/C)TGGCTCAG3') 20 μ M, 0,5 μ L primer UniB1 (5'GGTTAC (G/C)TTGTTACGACTT3') 20 μ M, 0,4 μ L sample 150ng/ μ L. 0,125 μ L Dream Tag. ddH₂O ditambahkan sampai volume 25 μ L. Proses PCR dilakukan dengan denaturasi awal 94°C selama 2 menit, denaturasi 94°C selama 0,3 menit, annealing 48°C selama 30 detik, elongasi 72°C selama 1,5 menit, elongasi akhir 72°C selama 5 menit. Siklus PCR dilakukan 29 kali.

Pemurnian ampikon PCR dan sekuensing gen 16S rRNA

Ampikon dimurnikan sesuai prosedur pada *Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit* (Geneaid). Ampikon gen 16S rRNA murni 800 ng dan primer BactF1 dan UniB1 masing-masing 10 pm dikirim ke Macrogen di Korea. Metoda sekuensing menggunakan *dideoxy-Sanger* pada DNA sequencer otomatis.

Analisis gen 16S rRNA

Data urutan basa nukleotida gen 16S rRNA dalam format *file* ab1 dianalisis *in silico* menggunakan program Segmen dari DNASTAR. Urutan basa nukleotida gen 16S rRNA isolat UBCT-055 ditentukan homologinya dengan urutan basa nukleotida gen 16S rRNA lainnya pada *GenBank* menggunakan program BLASTn pada <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Data gen 16S rRNA dibuat pohon filogenetik menggunakan program MEGA5^[13]. Penjajaran sekuens basa nukleotida digunakan program ClustalW2 pada <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2>.

3. Hasil Dan Pembahasan

Ekstraksi inulin dan pembuatan inulin-RBB

Prinsip ekstraksi inulin berdasarkan kelarutan inulin dalam pelarut air dan etanol. Kelarutan inulin dalam air lebih besar dibandingkan dalam etanol. Kelarutan inulin dalam kedua pelarut ini makin tinggi jika suhu dinaikkan. Pada metoda ini umbi dahlia yang telah dipotong ditambah aguades, diblender membentuk jus umbi dahlia. Jus umbi dahlia dipanaskan pada suhu 70-80°C selama 30 menit untuk mempertinggi kelarutan inulin dalam air. Jus umbi dahlia disaring. Filtrat didinginkan sampai suhu ruang, kemudian ditambahkan etanol untuk mengendapkan inulin yang terlarut dalam air. Agar inulin lebih banyak mengendap, campuran tersebut didiamkan pada *freezer* semalam. Endapan inulin dipisahkan dari supernatan dengan sentrifugasi. Inulin diperoleh sekitar 50 g dari 1000 g umbi dahlia yang telah dikupas. Inulin berbentuk serbuk berwarna putih (Gambar 1a). Inulin direaksikan dengan RBB membentuk inulin-RBB berwarna biru (Gambar 1b).



Gambar 1. Inulin dari umbi dahlia (a) Inulin-RBB (b)

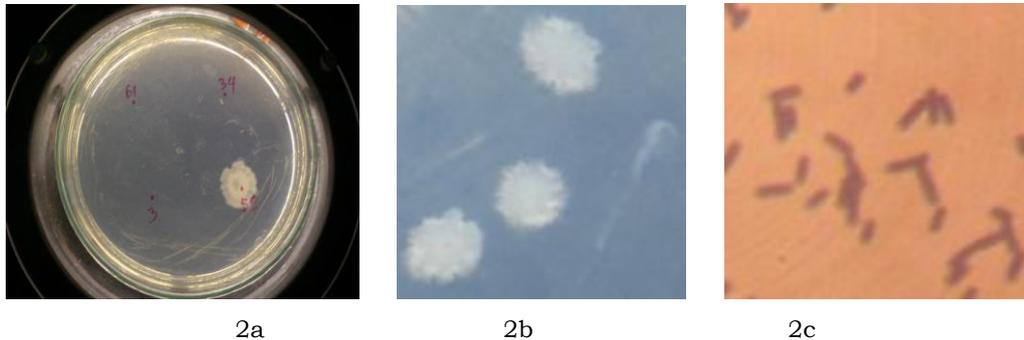
Isolasi bakteri penghidrolisis inulin, morfologi koloni dan mikroskopik sel

Isolasi bakteri penghidrolisis inulin dilakukan pada 48 isolat bakteri yang berasal dari sumber air panas Rimbo Panti di Pasaman. Setiap isolat bakteri diremajakan pada media NB cair (g/L: 3g Beef extract, 5g pepton) pada 150 rpm, suhu 50°C selama 18-20 jam. Bakteri penghidrolisis inulin diisolasi menggunakan media yang mengandung inulin atau inulin-RBB sebagai satu-satunya sumber karbon^[9].

Bakteri penghidrolisis inulin diisolasi menggunakan metoda *direct* dan *undirect isolation*. Pada metoda *direct isolation*, kultur bakteri setiap isolat yang telah ditumbuhkan pada media NB langsung ditumbuhkan pada media padat dan diinkubasi pada suhu 50°C selama 18-48 jam. Bakteri penghidrolisis inulin tidak berhasil ditemukan menggunakan metoda ini. Pada metoda *undirect isolation*, kultur bakteri ditumbuhkan pada media cair yang mengandung inulin selama 1 minggu pada suhu 50°C, kemudian kultur ditumbuhkan pada media padat suhu 50°C selama 18-48 jam. Satu bakteri penghidrolisis inulin dengan kode laboratorium UBCT-055 berhasil ditemukan menggunakan metoda *undirect isolation* (Gambar 1a). Isolat bakteri UBCT-055, selanjutnya dibuat koloni tunggal (Gambar 2b). Bentuk koloni bakteri UBCT-055 adalah sirkuler, margin sedikit *undulate* dengan elevasi *low convex*, ukuran koloni moderat, dengan tekstur *smooth*, appearance *dull*, tidak ada pigmentasi dan sifat optik *opaque*. Pengujian *gram staining* menunjukkan bakteri gram positif (Gambar 2c).

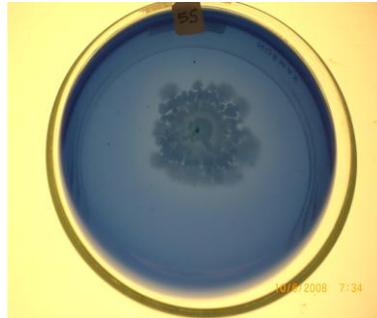
Metoda *undirect isolation* juga telah berhasil digunakan untuk mengisolasi bakteri penghidrolisis inulin (inulinase) dari bakteri tanah^[4], mengisolasi bakteri pendegradasi inulin dari sumber air panas Bukik Kili dan Padang Balimbiang di Solok^[14,15], dan mengisolasi bakteri selulase dari sumber air panas Egyptian^[16]. Keberhasilan metoda *undirect isolation* untuk mengisolasi bakteri penghidrolisis inulin dapat menandakan bahwa

gen pengkode enzim penghidrolisis inulin akan diekspresikan jika ada inulin. Gen ini diduga termasuk kelompok gen fakultatif. Dengan demikian, gen ini ditranskripsi jika diperlukan.



Gambar 2. Bakteri penghidrolisis inulin UBCT-055 (a) Seleksi bakteri penghidrolisis inulin (b) Koloni bakteri UBCT-055, (c) Uji *gram staining*

Media seleksi yang mengandung inulin dahlia, inulin chicory dan inulin-RBB sebagai satu-satunya sumber karbon dapat menumbuhkan isolat UBCT-055. Tetapi isolat ini tidak tumbuh, jika pada media tersebut tidak ditambahkan inulin (data tidak diperlihatkan). Hal ini dapat terjadi karena enzim penghidrolisis inulin adalah enzim *extracellular* atau *exoenzyme*. Enzim *extracellular* terutama merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis molekul-molekul besar seperti inulin, selulosa, pati, lipid, kasein dan gelatin. Enzim penghidrolisis inulin yang diekspresikan bakteri akan mengkatalisis reaksi hidrolisis inulin-RBB yang menyebabkan warna biru inulin-RBB menjadi berkurang. Oleh sebab itu, pada media seleksi padat yang mengandung inulin-RBB terlihat zona bening di sekitar bakteri penghidrolisis inulin tersebut (Gambar 3).



Gambar 3. Bakteri UBCT-055 pada media seleksi mengandung inulin-RBB

Pengujian krude penghidrolisis inulin bakteri

Pengujian krude inulinase yang dilakukan adalah membandingkan aktivitas inulinase dan invertase (I/S) serta pengujian produk hidrolisis inulin akibat aktivitas inulinase menggunakan TLC. Absorbansi gula pereduksi (fruktosa, glukosa) akibat aktivitas inulinase pada inulin dan sukrosa dimuat pada Tabel 1.

Perbedaan antara aktivitas katalitik inulinase dan invertase digunakan ratio α ($\alpha=I/S$, I adalah aktivitas inulinase, S adalah aktivitas invertase). Jika $\alpha > 10^{-2}$, maka aktivitas katalitiknya adalah inulinase, sedangkan jika $\alpha < 10^{-4}$ maka enzim dinamakan invertase^[17]. Pada umumnya inulinase dari semua mikroorganisme memperlihatkan aktivitas inulinase dan invertase dengan harga α yang bervariasi. Aktivitas invertase pada inulinase diperlukan untuk mengkatalisis hidrolisis ujung akhir antara fruktosa dan glukosa yang tersisa setelah aksi inulinase sempurna pada molekul inulin. Sampai saat ini dipostulatkan bahwa inulinase memiliki katalitik umum baik untuk sisi pengikatan inulin dan juga untuk

sukrosa^[18]. Aktivitas inulinase UBCT-055 pada waktu inkubasi 1 jam adalah 1,39139 unit/L, sedangkan aktivitas invertase adalah 1,54920 unit/L. Pada waktu inkubasi 24 jam terjadi penurunan aktivitas enzim yaitu aktivitas inulinase $1,1517 \cdot 10^{-1}$ unit/L, aktivitas invertase $1,4762 \cdot 10^{-1}$ unit/L. Rasio aktivitas inulinase dan invertase (I/S) pada waktu inkubasi 1 jam adalah 0,898, 24 jam adalah 0,7780. Dengan demikian aktivitas *crude* enzim ekstraseluler isolat UBCT-055 menunjukkan aktivitas katalitik inulinase. Aktivitas inulinase termasuk aktivitas enzim penghidrolisis inulin

Tabel 1. Absorbansi gula pereduksi akibat aktivitas inulinase dan invertase UBCT-055

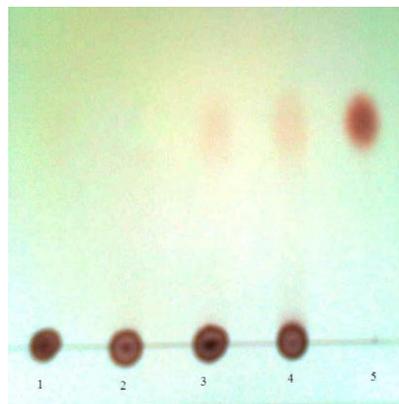
No	Aktivitas	Kete-rangan	A1	A2	A3	A _{rerata}	A _{s-k}	Gula pereduksi (µg/mL)
1	Inulinase Inkubasi 1 jam	Kontrol	0,266	0,260	0,264	0,263	0,096	15,0270005
		Sampel	0,342	0,353	0,381	0,359		
	Inulinase Inkubasi 24 jam	Kontrol	0,266	0,260	0,264	0,263	0,247	29,8527246
		Sampel	0,505	0,510	0,515	0,510		
2	Invertase Inkubasi 1 jam	Kontrol	0,256	0,262	0,266	0,261	0,121	16,7313288
		Sampel	0,389	0,384	0,374	0,382		
	Invertase Inkubasi 24 jam	Kontrol	0,256	0,262	0,266	0,261	0,343	38,2638215
		Sampel	0,602	0,619	0,591	0,604		

Keterangan

Persamaan linear larutan standar fruktosa adalah $y = -0,05705 + 0,010185x$

Persamaan linear larutan standar equimolar fruktosa dan glukosa adalah $y = -0,0515 + 0,01031x$

Produk hidrolisis inulin akibat aktivitas enzim penghidrolisis inulin diuji menggunakan TLC. Sebagai standar digunakan larutan fruktosa 1%. Sebagai kontrol digunakan larutan inulin 1% dan larutan inulin 1% yang telah ditambah inulinase nonaktif. Noda fruktosa setelah direaksikan dengan reagen aniline-diphenilamine terlihat berwarna coklat kemerahan. Produk hasil hidrolisis inulin dengan katalis inulinase (noda posisi totalan ke-3 dan ke-4 memiliki R_f yang sama dengan fruktosa (noda pada posisi totalan ke-5) (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa produk hidrolisis inulin akibat aktivitas enzim penghidrolisis inulin adalah fruktosa. Dengan demikian enzim penghidrolisis inulin pada isolat bakteri UBCT-055 menunjukkan tipe aksi exo-.



Gambar 4. Produk hidrolisis inulin akibat aktivitas inulinase pada TLC.
 1. Inulin (kontrol) 2. Hidrolisis 0 menit (kontrol); 3 Hidrolisis 1 jam;
 4. Hidrolisis 24 jam dan 5. Fruktosa (standar).

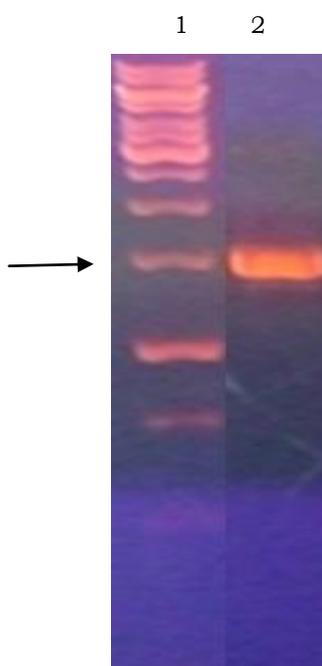
Identifikasi bakteri secara molekuler

Identifikasi isolat bakteri UBCT-055 penghasil enzim penghidrolisis inulin dilakukan secara molekuler dengan mengidentifikasi gen 16S rRNA. Identifikasi molekuler gen 16S rRNA diawali dengan mengisolasi DNA kromosom bakteri. Kromosom itu dijadikan templat untuk amplifikasi gen 16S rRNA secara PCR menggunakan primer BactF1 dan UniB1. Primer ini menghasilkan fragmen gen 16S rRNA pada proses PCR karena kedua primer ini

annealing pada daerah konserf bagian dalam dari gen 16S rRNA. Posisi primer BactF1 (posisi pada gen 16S rRNA *E.coli*) adalah nukleotida ke 8 sampai 27, sedangkan posisi UniB1 adalah pada nukleotida ke 1510 sampai 1492^[19].

Produk PCR dielektroforesis pada gel agarose 0,8%. Produk tersebut sejajar dengan ukuran marker 1500 bp (Gambar 5). Konsentrasi produk PCR (amplikon) yang diperoleh pada penelitian ini diperkirakan 150ng/ μ L. Besarnya konsentrasi amplikon dapat menandakan bahwa gen 16S rDNA hadir dalam multi kopi dalam kromosom bakteri ini. Gen 16S rRNA bakteri dapat hadir 1 sampai 15 kopi, 62% bakteri mempunyai lebih dari 1 kopi gen 16S rRNA^[20].

Amplikon murni gen 16S rRNA digunakan sebagai templat sekuensing. Pembacaan sekuens pasangan primer ini adalah 1422 pb Gambar 6. Dengan demikian ukuran fragmen gen 16S rDNA isolat UBCT-055 diperkirakan 1461 yaitu sekitar 1500 bp. Ukuran fragmen DNA ini pada gel agarosa 0,8% sejajar dengan pita 1500 pb marker DNA 1kb (Gambar 5). Fragmen gen 16S rRNA isolat UBCT-055 mempunyai homologi yang tinggi dengan 100 buah gen 16S rRNA bakteri pada *GenBank*. Sekuens gen 16S rRNA pada *GenBank* yang paling dekat homologinya dengan sekuens gen 16S rRNA isolat UBCT-055 kebanyakan adalah *Bacillus*.



Gambar 5. Fragmen gen 16S rRNA hasil PCR menggunakan primer BactF1 dan UniB1. Lajur 1 menunjukkan 1 kb DNA ladder. Lajur 2 fragmen gen 16S rRNA isolat UBCT-055 yang sejajar dengan marker ukuran 1500 pb (tanda panah)

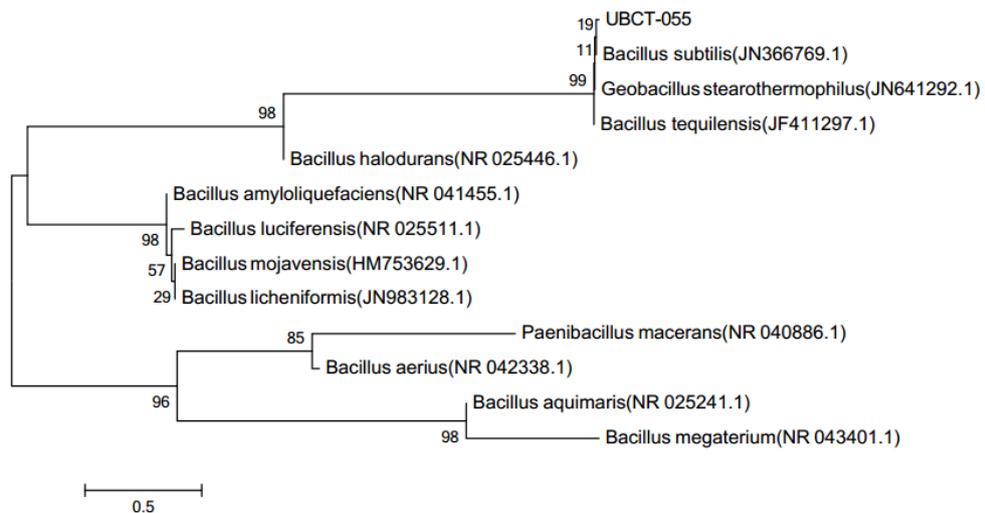
Analisis perbandingan urutan basa nukleotida gen-gen 16S rRNA dapat digunakan untuk mengkonstruksi pohon filogenetik dan dapat menunjukkan hubungan kekerabatan. Pada pohon filogenetik urutan basa nukleotida gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat UBCT-055 merupakan *Bacillus* (Gambar 7). Hubungan kekerabatan terjauh dengan *Paenibacillus macerans* dengan derajat kemiripan 88%. Isolat UBCT-055 mempunyai hubungan kekerabatan terdekat dengan *Bacillus subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus tequilensis* dengan derajat kemiripan 99%.

Homologi ini merupakan *partial sequence* yaitu sekitar 95% dari gen utuh 16S rDNA *Bacillus subtilis* atau 94% dari gen utuh 16S rRNA *B.licheniformis*. Ukuran gen 16S rDNA *Bacillus subtilis* adalah 1535 bp dan *B.licheniformis* adalah 1549 (www.ncbi.nlm.nih.gov.). Derajat kesamaan urutan basa nukleotida gen 16S rRNA $\geq 97\%$ sering dipertimbangkan

sebagai kelompok spesies yang sama^[7]. Dengan demikian isolat UBCT-055 yang ditemukan termasuk genus *Bacillus*.

```
TGCAGTCGAG CGGACAGATG GGAGCTTGCT CCCTGATGTT AGCGGCGGAC GGGTGAGTAA CACGTGGGTA 70
ACCTGCCTGT AAGACTGGGA TAACTCOGGG AAAOCGGGGC TAATACCGGA TGGTTGTTTG AACCCGATGG 140
TTCAAACATA AAAGGTGGCT TCGGCTACCA CTTACAGATG GACCCGGGSC GCATTAGCTA GTTGGTGAGG 210
TAACGGCTCA CCAGGCCAHC GATGCGTAGC CGAOC TGAGA GGGTGA TOGG CCACACTGGG ACTGAGACAC 280
GGCCAGACT CCTACGGGAG GCAGCAGTAG GGAATCTTCC GCAATGGACG AAAGTCTGAC GGAGCAACGC 350
CGCGTGAGTG ATGAAGTTT TCGGATCGTA AAGCTCTGTT GTTAGGGAAG AACCAAGTACC GTTCGAATAG 420
GGCGGTACCT TGAOCGTACC TAACCAGAAA GCCACGGCTA ACTACGTGCC AGCAGCCGCG GTAATACGTA 490
GGTGGCAAGC GTTGTCCGGA ATTATTGGGC GTAAAGGGCT CGCAGGCGGT TTCTTAAGTC TGATGTGAAA 560
GCCCCCGGCT CAACCCGGGA GGGTCAITGG AAACCTGGGA ACTTGAGTGC AGAAGAGGAG AGTGGAAATC 630
CACGTGTAGC GGTGAAATGC GTAGAGATGT GGAGGAACAC CAGTGGCGAA GGCGACTCTC TGGTCTGTAA 700
CTGACGCTGA GGAGCGAAG CGTGGGAGC GAACAGGATT AGATAOCCTG GTAGTCCACG CCCTAAACGA 770
TGAGTGCTAA GTGTTAGGGG GTTTCGCCCC CTTAGTGTG CTGCTAACGC ATTAAGCACT CCGCCTGGGG 840
AGTACGGTGC CAAGACTGAA ACTCAAAGGA ATTGACGGG GCCCGCACAA GCGGTGGAGC ATGTGGTTTA 910
ATTGGAAGCA ACGCGAAGAA CCTTACCAGG TCTTGACATC CTCTGACAA CTAGAGATA GGACGTCCCC 980
TTCGGGGGCA GAGTGACAGG TGGTGCATGG TTGCTGTCG CTCGTGTCGT GAGATGTTGG GTTAAGTCCC 1050
GCAACGAGCG CAACCCCTGA TCTTAGTTGC CAGCAITCAG TTGGGCACTC TAAGGTGACT GCCGCTGACA 1120
AACCGGAGGA AGTGGGGAT GACGTCAAAT CATCATGCC CTTATGACCT GGGCTACACA CGTGCTACAA 1190
TGGACAGAAC AAAGGGCAGC GAAACCCGGA GGTTAAGCCA ATCCACAAA TCTGTCTCA GTTCGGATCG 1260
CAGTCTGCAA CTGACTGCG TGAAGCTGGA ATCGTAGTA ATCGCGGATC AGCATGCCGC GGTGAATACG 1330
TTCOCGGGOC TTGTACACAC CGCCCGTCAC ACCACGAGAG TTTGTAACAC CCGAAGTCCG TGAGGTAACC 1400
TTTTAGGACC CAGCCCGCGA AG 1422
```

Gambar 6. Urutan basa nukleotida gen 16S rRNA isolat UBCT-055



Gambar 7. Pohon filogenetik urutan basa nukleotida gen 16S rRNA. Angka pada titik cabang menyatakan nilai konfiden *bootstrap* berdasarkan pada 1000 replikasi. Skala garis 0,5 menunjukkan substitusi basa nukleotida *persite*. Nomor asses *GenBank* dalam tanda kurung

4. Kesimpulan dan Saran

Isolasi bakteri penghidrolisis inulin dari 48 isolat yang berasal dari Rimbo Panti di Pasaman berhasil ditemukan satu isolat yang diberi tanda isolat UBCT-055. Isolat bakteri ini termasuk gram positif dan berbentuk basil. Isolat bakteri UBCT-055 merupakan *Bacillus* berdasarkan analisis gen 16S rRNA. *Crude* enzim bakteri penghidrolisis inulin UBCT-055 menunjukkan aktivitas katalitik inulinase tipe exo- dengan harga I/S 0,898 pada waktu inkubasi 1 jam dan 0,780 pada waktu inkubasi 24 jam.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional melalui Penelitian Hibah Doktor atas nama Minda Azhar, dengan nomor kontrak: 486/SP2H/PP/DP2M/VI/2010.

Daftar Pustaka

1. Zittan, L. (1981). Enzymatic Hydrolysis of inulin-An Alternative Way to Fructose Production. *Starch*,33:373-377.
2. Vielle, C and Zeikus, G.J. (2001). Hyperthermophilic Enzymes: Sources, Uses, and Molecular Mechanisms for Thermostability. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, American Society Microbiology*. p.1-43.
3. Phelps, C.F. (1965). The Physical Properties of Inulin Solution. *Biochem.J* 95:41-47.
4. Allais,J.J., Hoyos-Lopez, G., Kammoun,S., Baratti,J.C. (1987). Isolation and Characterization of the Thermophilic Bacterial Strain with Inulinase Activity. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol53.No5. 942-945.
5. Souza, A.N., Martins, M.L.L. (2001). Isolation, Properties, and Kinetics of Growth of a Thermophilic *Bacillus*. *Brazilian Journal Of Microbiology*. 32:271-275.
6. Gao,W., Bao,Y., Liu,Y., Zhang, X. (2008). Characterization of Thermostable Endonulinase from a New Strain *Bacillus smithii* T7. *Appl Biochem Biotechnol*.DOI 10.1007/s12010-008-8313-1.
7. Stackebrandt E, Goebel BM (1994). Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44:846-849.
8. Andyani, N.F. (2001). Produksi Sirup Fruktosa dari Inulin *Dahlia Pinata* Cav secara Hidrolisis Asam. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pangan IPB. Bogor.
9. Castro, G.R., Baigori, M.D., Sineriz, F. (1995). A Plate Technique for Screening of Inulin Degrading Microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*. 22:51-56.
10. Azhar, M., Octavia, B., Maaruf, Y., Khairani, Efri, D. (2011). Penentuan kadar RBB pada senyawa inulin-RBB secara HPLC. *Jurnal Riset Kimia*. Vol.3, No.2
11. Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *J. Biol.Chem*.195:19-23.
12. Ertan, F., Ekinçi, F.(2002). The Production of Inulinase from *Alternaria alternate*, *Aspergillus niger*, and *Trichoderma harzianum*. *Journal of Marmara for Pure and Applied Sciences* 18:7-15
13. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28(10)2731-2739.
14. Azhar, M., Syukur, S., Natalia, D., Vovien, Jamsari, Munaf, E. (2013). Characterization of extracellular enzyme and identification of inulin degrading bacteria from hot spring West Sumatra. *International Journal of Chemistry*.Vol. 2(1): 33-41
15. Azhar, M., Syukur, S., Natalia, D., Vovien, Jamsari. (2011). Skrining dan identifikasi bakteri pendegradasi inulin dari sumber air panas Padang Balimbiang di Solok. *Jurnal Riset Kimia*. vol.5.no.1: 32-39.
16. Ibrahim, A.S.S and El-diwany, A. (2007). Isolation and Identification of New Cellulases Producing Thermophilic Bacteria an Egyptian Hot Spring and Some properties of the Crude Enzyme. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* I(4):473-478.
17. Ettalibi, M., Baratti, J.C. (1987). Purification, properties and comparison of invertase, exoinulinase and endoinulinase of *Aspergillus ficuum*. *Appl.Microbiol Biotechnol*. 26:13-20.
18. Ricca, E., Calabro, V., Curcio, S., Iorio, G. (2007). The state of the art in the production of fructose from inulin enzymatic hydrolysis. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27:129-145.
19. Baker, G.C., Smith, J.J., Cowan, D.A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*, 55:541-555.
20. Case, R.J., Boucher, Y., Dahllorf, I., Holmstrom, C., Doolittle, W.F., Kjelleberg, S. (2007). Use 16S rRNA and *rpoB* Genes as Molecular Markers for Microbial Ecology Studies. *Applied and Environmental Microbiology*.Vol 73.no1:278-288

ISBN : 978-602-17878-2-3



9 786021 787823



Cabang Sumatera Barat

**HIMPUNAN KIMIA INDONESIA (HKI)
CABANG SUMATERA BARAT**

Sertifikat

Diberikan Kepada :

Dr. Minda Azhar, M.Si

Atas peran sertanya sebagai

Pemakalah

Dalam Rangka Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia
"Penelitian Sains Terapan dan Pendidikan dalam Mendukung
Kemandirian Bangsa dan Peningkatan Mutu Pendidikan"

Di Universitas Negeri Padang

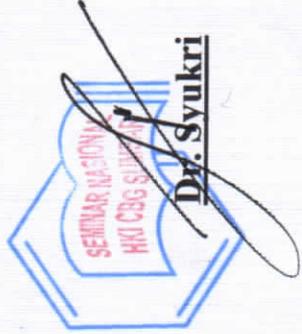
Sabtu, 7 Desember 2013

Ketua HKI Cabang Sumbar



Prof. Dr. Novesar Jamarun

Ketua Pelaksana



Dr. Syukri