

## Lampiran 1

### **Pembuatan Koloidal Kitin (Metode Hwang, Bioproduct Research Center, Univ. Yonsei Korea).**

Seratus gram kitin komersial (Sigma) ditambah 2 liter HCl pekat, disimpan semalam pada suhu 4<sup>o</sup>C, kemudian dilakukan filtrasi dengan menggunakan *glasswool* dan ditambahkan 1 liter aquades dingin. Selanjutnya disentrifuse 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan diambil dan ditambah 2 liter aquades dingin, kemudian pH dibuat 7 dengan menambahkan NaOH 10 N. Disentrifuse 3000 rpm selama 15 menit lagi. Presipitat diambil dan ditambahkan 2 liter aquades dingin untuk menghilangkan NaCl, kemudian disentrifuse lagi 3000 rpm selama 15 menit. Presipitat yang merupakan koloidal kitin diambil dan disimpan pada suhu 4<sup>o</sup>C.



## Lampiran 2

### Pembuatan Media Agar Kitin

Media agar kitin dibuat dengan komposisi (mg/mL) : 0,1%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,02%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,1 % ekstrak yeast, 1,5% agar dan 0,3% koloidal kitin. Semua bahan dicampur dan ditambahkan akuades hingga volumenya 100 mL. pH media diatur menjadi 6,5 dengan penambahan HCl 0,1 N. Media kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* sehingga tercampur sempurna. Setelah homogen, media disterilisasi dengan autoklaf pada temperatur  $121^\circ\text{C}$  pada tekanan 2 atm selama 15 menit.



### Lampiran 3

#### Pembuatan Media Produksi

Media produksi yang digunakan dibuat dengan komposisi (mg/mL) : 0,3% koloidal kitin , 1% pepton, 0,5% ekstrak yeast, 0,1% NaCl, 0,1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,05% MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,001% FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,001% ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dan masing-masing 0,0001% CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, MnSO<sub>4</sub>.nH<sub>2</sub>O dan CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O . Semua bahan dicampur dan dipanasi dengan *magnetic stirrer*. pH media diatur menjadi 7 dengan penambahan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N. seluruh media disterilisasi dengan autoklaf pada temperature 121<sup>0</sup>C pada tekanan 2 atm selama 15 menit.



## Lampiran 4

### Pembuatan Larutan Buffer (Rahayu dan Sudarmadji, 2000).

#### 1. Larutan Buffer pH 4 dan pH 5

Menggunakan Buffer Sitrat.

Larutan A = 0,1 M Larutan Asam Sitrat (21,01 gr dalam 1000 ml)

Larutan B = 0,1 M Larutan Na-Sitrat (29,41 gr  $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$  dalam 1000 ml).

X ml Larutan A + Y ml Larutan B, encerkan sampai 1000 ml

- pH 4 : Larutan X = 33,0 ml  
Larutan Y = 17,0 ml
- pH 5 : Larutan X = 20,5 ml  
Larutan Y = 29,5 ml

#### 2. Larutan Buffer pH 6, pH 7, pH 8

Menggunakan Buffer Phosphat

Larutan A = 0,2 M larutan Na-phosphat monobasis (27,8 gr dalam 1000 ml)

Larutan B = 0,2 M larutan Na-phosphat dibasis (52,65 gr  $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$  atau 71,7 gr  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$  dalam 1000 ml)

X ml Larutan A + Y ml Larutan B, encerkan sampai 200 ml

- pH 6 : Larutan X = 87,7 ml  
Larutan Y = 12,3 ml
- pH 7 : Larutan X = 39 ml  
Larutan Y = 61,0 ml
- pH 8 : Larutan X = 5,3 ml  
Larutan Y = 94,7 ml

### 3. Larutan Buffer pH 9

Menggunakan Buffer Asam Borat-Borax

Larutan A = 0,2 M Larutan Asam Borat (12,4 gr dalam 1000 ml)

Larutan B = 0,05 M Larutan Borax (19,05 gr dalam 1000 ml, setara dengan 0,2 M Na-Borat)

50 ml Larutan A + X ml Larutan B, diencerkan sampai 200 ml

- pH 9 : Larutan X = 7,3 ml



## Lampiran 5. Data Penelitian

**Tabel 04. Densitas Optik Pertumbuhan Isolat BK 5 pada Media Produksi**

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54
U1	98	42	45	13	51	36	14	60	21	15
U2	99	42	44	12	49	47	13	48	21	19
U3	98	49	42	15	39	40	16	43	25	32
<b>Rerata</b>	98,33	44,333	43,667	13,333	46,333	41	14,333	50,333	22,333	22
<b>OD</b>	0,007	0,353	0,360	0,875	0,334	0,387	0,844	0,298	0,651	0,658

**Tabel 05. Aktivitas Enzim Isolat BK 5 pada Suhu 45°C**

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam)									
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54
U1	35	28	27	26	26	29	31	29	24	20
U2	39	35	29	26	27	30	29	28	22	20
U3	43	39	29	25	28	29	31	32	22	17
<b>Rerata</b>	39	34	28,333	25,667	27	29,333	30,333	29,667	22,667	19
<b>K1</b>	36	26	29	24	25	26	29	28	15	20
<b>K2</b>	39	36	28	24	26	29	29	30	24	17
<b>K3</b>	41	37	25	24	27	29	31	30	26	19
<b>Rerata</b>	38,33	33	27,333	24	26	28	29,667	29,333	21,667	18,67
<b>Absorbansi Kontrol</b>	0,413	0,481	0,563	0,620	0,585	0,553	0,528	0,533	0,664	0,729
<b>Absorbansi Sampel</b>	0,408	0,469	0,548	0,591	0,569	0,533	0,518	0,528	0,645	0,721
<b>Aktivitas Enzim</b>	0,083	0,2	0,25	0,483	0,267	0,333	0,166	0,083	0,316	0,133

**Tabel 06. Aktivitas Enzim Isolat BK 5 pada Berbagai pH**

Ulangan	Berbagai pH					
	4	5	6	7	8	9
U1	32	30	62	69	61	59
U2	32	31	62	70	60	62
U3	25	30	64	71	61	63
<b>Rerata</b>	29,667	30,333	62,667	70	60,667	61,333
<b>K1</b>	30	31	57	65	57	64
<b>K2</b>	30	29	63	68	59	57
<b>K3</b>	28	30	63	70	57	57
<b>Rerata</b>	29,333	30	61	67,667	57,667	59,333
<b>Absorbansi Kontrol</b>	0,533	0,523	0,215	0,170	0,240	0,227
<b>Absorbansi Sampel</b>	0,528	0,518	0,203	0,152	0,217	0,212
<b>Aktivitas Enzim</b>	0,083	0,083	0,2	0,3	0,383	0,25

Tabel 06. Aktivitas Enzim Isolat BK 5 Pada Berbagai Suhu

Ulangan	Berbagai Suhu ( $^{\circ}$ C)							
	45 $^{\circ}$	50 $^{\circ}$	55 $^{\circ}$	60 $^{\circ}$	65 $^{\circ}$	70 $^{\circ}$	75 $^{\circ}$	80 $^{\circ}$
U1	61	59	58	55	61	66	70	70
U2	60	58	61	54	58	73	76	77
U3	61	60	62	52	63	58	79	81
Rerata	60,667	59	60,333	53,667	60,667	72,333	75	76
K1	57	59	59	52	59	67	71	71
K2	59	50	57	53	59	70	71	74
K3	57	52	58	48	60	74	75	74
Rerata	57,667	53,667	58	51	59,333	70,333	72,333	73
Absorbansi Kontrol	0,239	0,270	0,237	0,292	0,227	0,153	0,141	0,137
Absorbansi Sampel	0,217	0,229	0,219	0,270	0,217	0,141	0,125	0,119
Aktivitas Enzim	0,367	0,683	0,3	0,367	0,167	0,2	0,267	0,3

Tabel 07. Termostabilitas Isolat BK 5 Pada Suhu 50 $^{\circ}$ C

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam ke -)				
	1	2	3	4	5
U1	59	67	63	76	77
U2	45	45	53	54	56
U3	43	43	54	64	64
Rerata	49	51,67	56,67	64,67	65,67
K1	58	60	62	75	76
K2	42	43	44	47	51
K3	40	41	44	63	63
Rerata	46,67	48	50	61,67	63,33
Absorbansi Kontrol	0,331	0,319	0,304	0,210	0,198
Absorbansi Sampel	0,310	0,287	0,247	0,189	0,183
Aktivitas Enzim	0,35	0,533	0,9	0,35	0,25

Tabel 08. Termostabilitas Isolat BK 5 Pada Suhu 60 $^{\circ}$ C

Ulangan	Waktu Inkubasi (Jam ke -)				
	1	2	3	4	5
U1	52	57	56	50	70
U2	52	39	41	43	47
U3	34	71	70	52	58
Rerata	46	55,67	55,67	48,33	58,33
K1	48	57	56	50	69
K2	47	34	38	42	46
K3	33	66	66	50	57
Rerata	42,67	52,33	53,33	47,33	57,33
Absorbansi Kontrol	0,370	0,281	0,281	0,325	0,242
Absorbansi Sampel	0,337	0,254	0,273	0,316	0,234
Aktivitas Enzim	0,55	0,45	0,133	0,15	0,133