

LAMPIRAN- LAMPIRAN



Lampiran 1. Karakteristik kapang *Aspergillus niger*

Karakteristik kapang *A. niger*

Koloni

- Warna : hitam
- Diameter : 2,5 – 3 cm
- Bentuk permukaan : seperti bubuk

Conidial head

- Warna : hitam
- Ukuran : 112,5 – 175 μm (diameter)
- Tipe : *radiate*

Conidiophore

- Warna : transparan
- Cabang : tidak ada
- Panjang : 1300 – 5000 μm
- Diameter : 20 μm
- Permukaan : halus
- Dekat conidial head mengecil/tidak : tidak

Sel kaki : ada

Vesikel

- Bentuk : globose
- Ukuran : 57,5 – 80 μm
- Warna : coklat

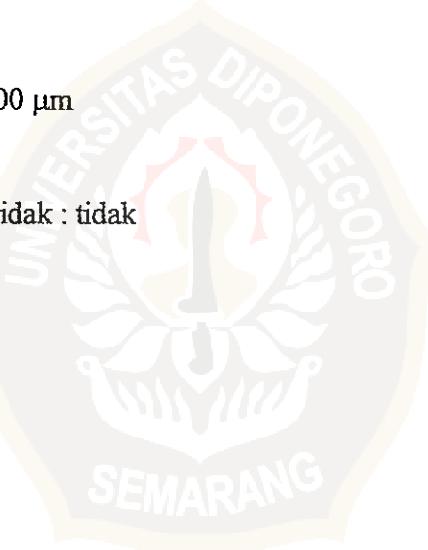
Metula : biseriate

Phialid

- Warna : coklat hitam
- Ukuran : 5 μm

Conidia

- Bentuk : globose
- Ukuran : 5 μm
- Warna : coklat hitam
- Permukaan : echinulate
- Rantai konidia : radier



Lampiran 2. Kurva standar glukosa

Tabel 2.1. Absorbansi larutan glukosa standar

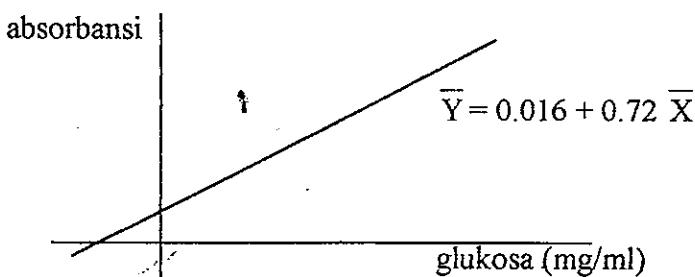
X	Y	X^2	XY
0.2	0.15	0.04	0.03
0.4	0.31	0.16	0.124
0.6	0.46	0.36	0.276
0.8	0.59	0.64	0.472
1.0	0.73	1.0	0.730
$\Sigma = 3$	$\Sigma = 2.24$	$\Sigma = 2.2$	$\Sigma = 1.632$
$\bar{X} = 0.6$	$\bar{Y} = 0.73$		

$$b = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

$$b = \frac{(5 \times 1.632) - (3 \times 2.24)}{(5 \times 2.2) - (3)^2}$$

$$b = 0.72$$

$$\begin{aligned}\bar{Y} &= a + b \bar{X} \\ a &= \bar{Y} - b \bar{X} \\ &= 0.448 - (0.72 \times 0.6) \\ &= 0.016\end{aligned}$$



Gambar 2.1. Grafik persamaan kurva standar

Lampiran 3. Data dan perhitungan pertumbuhan

Tabel 3.1. Pertumbuhan kapang *Aspergillus niger*

Perlakuan	Skor pertumbuhan			Total	Rerata
	1	2	3		
pH 3	4	4	4	12	4
pH 4	4	4	4	12	4
pH 5	4	3	3	10	3.33
pH 6	3	3	3	9	3
pH 7	3	3	3	9	3
Total				52	

$$\text{Faktor koreksi} = 52^2 / 15 = 180.26667$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah kuadrat total} &= (4^2 + 4^2 + 4^2 + \dots + 3^2) - 180.26667 \\ &= 3.73333\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah kuadrat perlakuan} &= ((12^2 + 12^2 + 10^2 + 9^2 + 9^2) / 3) - 180.26667 \\ &= 3.06666\end{aligned}$$

$$\text{Jumlah kuadrat galat} = 3.73333 - 3.06666 = 0.66667$$

$$\text{Kuadrat tengah perlakuan} = 3.06666 / 4 = 0.766665$$

$$\text{Kuadrat tengah galat} = 0.66667 / 10 = 0.066667$$

Tabel 3.2. Anova pertumbuhan

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel $\alpha = 1\%$
Perlakuan	4	3.06666	0.766665	11.49**	5.99
Galat	10	0.66667	0.066667		
Toatal	14	3.73333			

Ket : ** Berbeda sangat nyata

$$BNT \text{ (beda nyata terkecil)} = t_{(0.01/2; 10)} \times \sqrt{2KTG/n}$$

$$= 3.169 \times \sqrt{2 \times 0.66667 / 3}$$

$$= 0.67$$

Tabel 3.2. Selisih rerata tiap perlakuan

	pH 7	pH 6	pH 5	pH 4	pH 3
pH 7	-	-	0.33	1*	1*
pH 6	-	-	-	1*	1*
pH 5	-	-	-	0.67*	0.67*
pH 4	-	-	-	-	-
pH 3	-	-	-	-	-

Ket : * berbeda nyata



Lampiran 4. Data dan perhitungan aktivitas enzim

Tabel 4.1. Nilai absorbansi gula reduksi

Ulangan	1		2		3	
Perlakuan	a	b	A	b	a	b
pH 3	0.1675	0.4749	0.2007	0.4949	0.2076	0.4948
pH 4	0.2596	0.5229	0.1549	0.4089	0.1972	0.5452
pH 5	0.2366	0.3979	0.2441	0.4089	0.2218	0.4034
pH 6	0.2218	0.3819	0.2041	0.3615	0.2110	0.3872
pH 7	0.1938	0.3419	0.2076	0.3325	0.2218	0.3468

a : absorbansi pengukuran gula reduksi pada filtrat enzim sebelum direaksikan dengan larutan CMC (dengan pengenceran 10 kali)

b : absorbansi pengukuran gula reduksi pada filtrat enzim setelah direaksikan dengan larutan CMC (dengan pengenceran 10 kali)

Tabel 4.2. Kandungan gula reduksi setelah absorbansi sampel diplotkan pada persamaan kurva standar glukosa
(kadar gula reduksi = kadar gula reduksi b – kadar reduksi a)

Ulangan	1	2	3
pH 3	4.269	4.086	3.989
pH 4	3.657	3.528	4.833
pH 5	2.240	2.289	2.522
pH 6	2.223	2.186	2.446
pH 7	2.056	1.735	1.736

Tabel 4.3. Aktivitas selulase (unit/ml filtrat/ menit)

Perlakuan	Unit aktivitas			Total	Rerata
	1	2	3		
pH 3	1.581	1.513	1.477	4.571	1.524
pH 4	1.354	1.307	1.790	4.451	1.484
pH 5	0.829	0.848	0.934	2.611	0.870
pH 6	0.823	0.809	0.906	2.538	0.846
pH 7	0.761	0.643	0.643	2.047	0.682
Total				16.218	

$$\text{Faktor koreksi} = 16.218^2 / 15 = 17.534902$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah kuadrat total} &= (1.581^2 + 1.513^2 + 1.477^2 + \dots + 0.643^2) - 180.26667 \\ &= 2.018388\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah kuadrat perlakuan} &= ((4.571^2 + 4.451^2 + 2.61^2 + \dots + 2.047^2) / 3) - 180.26667 \\ &= 1.8499033\end{aligned}$$

$$\text{Jumlah kuadrat galat} = 2.018388 - 1.8499033 = 0.1684847$$

Tabel 4.4. Anova aktivitas selulase

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel $\alpha = 1\%$
Perlakuan	4	1.8499033	0.4624758	27.45**	5.99
Galat	10	0.1684847	0.01684847		
Total	14	2.018388			

Ket : ** Berbeda sangat nyata

$$\text{BNT (beda nyata terkecil)} = t_{(0.01/2; 10)} \times \sqrt{2KTG/n}$$

$$\begin{aligned}&= 3.169 \times \sqrt{2 \times 0.01684847 / 3} \\ &= 0.336\end{aligned}$$

Tabel 4.5. Selisih rerata tiap perlakuan

	pH 7	pH 6	pH 5	pH 4	pH 3
pH 7	-	0.164	0.188	0.802*	0.842*
pH 6	-	-	0.024	0.638*	0.678*
pH 5	-	-	-	0.614*	0.654*
pH 4	-	-	-	-	0.04
pH 3	-	-	-	-	-

Ket : * Berbeda nyata

Lampiran 5. Data kurva standar protein

Tabel 5.1. Absorbansi larutan protein standar

X	Y	X^2	XY
0.1	0.046	0.01	4.6×10^{-3}
0.2	0.097	0.04	0.0194
0.3	0.114	0.09	0.0342
0.4	0.187	0.16	0.0748
0.5	0.222	0.25	0.111
0.6	0.495	0.36	0.297
0.7	0.602	0.49	0.4214
0.8	0.699	0.64	0.5592
1.0	0.745	1.0	0.745
$\Sigma = 4.6$	$\Sigma = 3.207$	$\Sigma = 3.04$	$\Sigma = 2.266$
$\bar{X} = 0.511$	$\bar{Y} = 0.563$		

$$b = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

$$b = \frac{(9 \times 2.266) - (4.6 \times 3.207)}{(9 \times 2.01) - (4.6)^2}$$

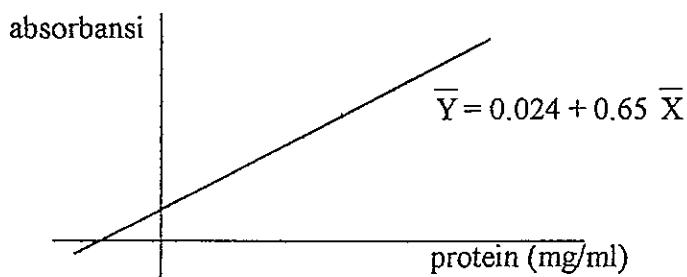
$$b = 0.65$$

$$\bar{Y} = a + b \bar{X}$$

$$a = \bar{Y} - b \bar{X}$$

$$= 0.3563 - (0.65 \times 0.511)$$

$$= 0.024$$



Gambar 5.1. Grafik persamaan kurva standar

$$r = b S_x / S_y$$

$$S_x = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}$$

$$= 0.4112687$$

$$S_y = \frac{\sum (Y - \bar{Y})^2}{n - 1}$$

$$= 0.5003668$$

$$r = (0.65 \times 0.4112687) / 0.5003668$$

$$= 0.5343$$

Lampiran 6. Data kadar protein dan aktivitas spesifik enzim

Tabel 6.1. Kadar protein dan aktivitas spesifik selulase (unit aktivitas/mg protein)

PH	3	4	5	6	7
Kadar protein	1.267	1.254	0.900	0.862	0.487
Aktivitas spesifik	1.202	1.183	0.967	0.981	0.911



Lampiran 7. Cara pembuatan larutan

1. Larutan CMC (Carboxymethyl Cellulose).

Satu gram CMC dilarutkan ke dalam 100 ml buffer sitrat dengan pemanasan dan dipanaskan 50° C sebelum digunakan. Disterilisasi pada suhu 121° C dan pada tekanan 2 atm selama 15 menit.

2. Larutan DNS (Dinitrosalicylid acid).

satu gram DNS dilarutkan ke dalam 20 ml larutan Na OH 2 N ditambahkan 50 ml akuades, 30 gram garam Rochele dan volume ditepatkan 100 ml dengan menambahkan akuades. Disterilisasi pada suhu 121° C dan pada tekanan 2 atm selama 15 menit (Sudarmadji, Suhardi dan Bambang, 1984).

3. Buffer sitrat 0,5 M pH 4,8.

Larutan asam sitrat 0,1 M (21,01 gr dalam 1000 ml) sebanyak 23 ml ditambah larutan Na sitrat 0,1 M (29,41 gr dalam 1000 ml) sebanyak 27 ml, kemudian diencerkan dengan akuades menjadi 100 ml (Sudarmadji, Suhardi dan Bambang, 1984).

4. Buffer sitrat.

- Buffer sitrat pH 3 : pipet 19,3 ml larutan asam sitrat 0,1 M dan 20,7 ml larutan Na₂HPO₄ 0,2 M ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda tera.

- b. Buffer sitrat pH 4 : pipet 22,9 ml larutan asam sitrat 0,1 M dan 24,3 ml larutan Na₂HPO₄ 0,2 M ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda tera.
- c. Buffer sitrat pH 5 : pipet 24,3 ml larutan asam sitrat 0,1 M dan 25,7 ml larutan Na₂HPO₄ 0,2 M ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda tera.
- d. Buffer sitrat pH 6 : pipet 17,9 ml larutan asam sitrat 0,1 M dan 32,1 ml larutan Na₂HPO₄ 0,2 M ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda tera.
- e. Buffer sitrat pH 7 : pipet 6,50 ml larutan asam sitrat 0,1 M dan 43,5 ml larutan Na₂HPO₄ 0,2 M ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda tera.

5. Larutan glukosa standar

Disiapkan larutan glukosa dengan konsentrasi 1 mg/ml dengan cara melarutkan 100 mg glukosa ke dalam 100 ml akuades, kemudian diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 mg/ml dengan cara :

Tabung	ml larutan glukosa	ml akuades	mg glukosa /ml
1	0.0	1.0	0.0
2	0.2	0.8	0.2
3	0.4	0.6	0.4
4	0.6	0.4	0.6
5	0.8	0.2	0.8
6	1.0	0.0	1.0

6. Larutan protein standar

Disiapkan larutan protein (Buvine Serum Albumin /BSA) dengan konsentrasi 300 mg/ml. kemudian dilakukan pengenceran sebagai berikut :

Tabung	ml larutan 300 mg/ml	ml akuades	mg protein/ml
1	0.0	1.0	0.0
2	0.1	0.9	30
3	0.2	0.8	60
4	0.3	0.7	90
5	0.4	0.6	120
6	0.5	0.5	150
7	0.6	0.4	180
8	0.7	0.3	210
9	0.8	0.2	240
10	1.0	0.0	300

(Sudarmadji, dkk., 1992)

7. Reagensia analisis protein terlarut metode Lowry - Folin (Sudarmadji, dkk., 1992)

Reagen A : 10 gr Na₂ CO₃ (anhidrat) dilarutkan dalam larutan NaOH 0,5 N hingga volume mencapai 100 ml.

Reagen B : 1 gr CuSO₄ 5 H₂O dilarutkan dalam akuades hingga volume mencapai 100 ml.

Reagen C : dilarutkan 2 gr K/Na tartarat ke dalam akuades hingga volume mencapai 100 ml.

Reagan D : campuran dari 15 ml pereaksi A, 0,75 ml pereaksi B dan 0,75 ml pereaksi C.

Reagen E : pengenceran 5 ml pereaksi Folin-tiocalteau 2 N menjadi 50 ml.

Lampiran 8. Uji normalitas dan homogenitas aktivitas enzim

A. Uji normalitas data aktivitas enzim

Uji normalitas data aktivitas enzim.

X_i	\bar{X}_i^2	$X_i - \bar{X}$	Z_i	DF	$F(Z_i)$	$S(Z_i)$	$(F(Z_i) - S(Z_i))$
0.643	0.4135	- 0.6677	-1.7585	-0.4608	0.0392	0.066	-0.0268
0.643	0.4135	- 0.6677	-1.7585	-0.4608	0.0392	0.133	-0.0938
0.761	0.5791	- 0.5021	-1.3223	-0.4066	0.0934	0.2	-0.1066
0.809	0.6545	- 0.4267	-1.1238	-0.3686	0.1314	0.266	-0.1346
0.823	0.6773	- 0.4039	-1.0637	-0.3554	0.1446	0.333	-0.1884
0.829	0.6874	- 0.3938	-1.0371	-0.3508	0.1492	0.4	-0.2508
0.848	0.7191	- 0.3621	-0.9537	-0.3289	0.1711	0.466	-0.2949
0.906	0.8208	- 0.2604	-0.6858	-0.2549	0.2451	0.533	-0.2879
0.934	0.8724	- 0.2088	-0.5499	-0.2088	0.2912	0.6	-0.3088
1.307	1.7083	0.6271	1.6516	0.4505	0.9502	0.66	0.2902
1.354	1.8333	0.7521	1.9808	0.4761	0.9761	0.733	0.2431
1.477	2.1815	1.1003	2.8978	0.4981	0.9981	0.8	0.1981
1.513	2.2892	1.2080	3.1815	0.4993	0.993	0.866	0.1270
1.581	2.4996	1.4184	3.7356	0.4999	0.999	0.933	0.0669
1.790	3.2041	2.1229	5.5910	-	0.5	1	-0.5
$\Sigma =$ 16.218	$\Sigma =$ 19.5536						
$\bar{X} =$ 1.0812							

$$\text{Ket : } Z_i = \frac{X_i - \bar{X}}{S}$$

$$F(Z_i) = 0.5 + DF$$

$$S^2 = \frac{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)}{n(n-1)} = \frac{(15 \times 19.5536) - (16.218)^2}{15 \times 14} = 0.1442$$

$$S = (S^2)^{1/2} = (0.1442)^{1/2} = 0.3797$$

L maksimum = 0.2902

Lo pada $\alpha 1\% = 0.294$

Ini berarti data terdistribusi normal.

B. Uji homogenitas aktivitas enzim

Uji homogenitas data aktivitas aktivitas enzim

	X_i	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$
pH 3	1.581	-0.057	3.249×10^{-3}
	1.513	-0.011	1.21×10^{-4}
	1.477	0.047	2.209×10^{-3}
Σ	4.571		5.579×10^{-3}
\bar{X}	1.524		
pH 4	1.354	-0.13	0.0169
	1.307	-0.177	0.013
	1.790	0.306	0.0936
Σ	4.0451		0.1418
\bar{X}	1.484		
pH 5	0.829	-0.041	1.0681×10^{-3}
	0.848	-0.022	4.84×10^{-4}
	0.934	0.064	4.096×10^{-3}
Σ	2.611		6.0261×10^{-3}
\bar{X}	0.870		
pH 6	0.823	-0.023	5.29×10^{-3}
	0.809	-0.037	1.369×10^{-3}
	0.906	0.06	3.6×10^{-3}
Σ	2.538		5.498×10^{-3}
\bar{X}	0.846		
pH 7	0.761	0.079	6.241×10^{-3}
	0.643	-0.039	1.521×10^{-3}
	0.643	-0.039	1.521×10^{-3}
Σ	2.047		9.283×10^{-3}
\bar{X}	0.682		

Uji homogenitas aktivitas enzim

Data	dk	1/dk	S_i^2	$\log S_i^2$	$dk \times \log S_i^2$
pH 3	2	0.5	2.7895×10^{-3}	2.555	5.11
pH 4	2	0.5	0.0709×10^{-3}	1.149	2.298
pH 5	2	0.5	3.1305×10^{-3}	2.504	5.008
pH 6	2	0.5	2.749×10^{-3}	2.561	5.122
pH 7	2	0.5	4.6415×10^{-3}	2.333	4.666
Σ	10	2.5	0.0133814		22.204

$$S_i^2 = \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n - 1}$$

$$S^2 = (\sum(n_i - 1) S_i^2) / \sum(n - 1)$$

$$= 2(0.0133814) / 10 = 2.67628 \times 10^{-3}$$

$$1 \log S^2 = 2.573$$

$$B = (\log S^2) \times \sum(n - 1)$$

$$= 2.573 \times 10 = 25.73$$

$$X^2 = (\ln 10)(B - (n_i - 1) \log S_i^2)$$

$$= 2.30(25.73 - 22.204)$$

$$= 8.1098$$

$$X^2(0.99)(2) = 5.99$$

$$X^2 = 8.1098 > X^2(0.99)(2) = 5.99$$



Faktor koreksi K

$$K = 1 + \frac{1}{3(k-1)} \left\{ \sum_{i=1}^k \left(\frac{1}{n_i - 1} - \frac{1}{\sum(n-1)} \right) \right\}$$

$$= 1.4$$

$$\begin{aligned} X^2 &= (1/K) X^2 \\ &= (1/1,4) \times 8,1098 \\ &= 5,79 \end{aligned}$$

$$X^2 < X^2 (0,99) (2)$$

Data homogen.



Undip Institutional Repository