

LAMPIRAN - LAMPIRAN



Lampiran 1 : Cara Pembuatan Larutan Kimia

1. Larutan Pati 4 %

4 gr pati dilarutkan ke dalam 100 ml buffer sitrat pH 5 dan suhu ditetapkan pada 60°C sambil diaduk sampai merata.

2. Larutan Dinitrosalisilat (DNS)

1 gr DNS dilarutkan dalam 20 ml larutan NaOH 2N ditambah 20 gr garam rochele dan volume ditetapkan 100 ml dengan aquadest.

3. Larutan Buffer Sitrat pH 5

Larutan a : 10,5 gr asam sitrat dilarutkan dalam 100 ml aquadest

Larutan b : 14,7 gr natrium sitrat dilarutkan dalam 100 ml aquadest

Buffer sitrat pH 5 dibuat dengan cara mencampurkan 24,3 ml larutan a dengan 25,7 ml larutan b dan diencerkan sampai volume 100 ml dengan aquadest (Sudarmadji, 1984).

4. Buffer Asetat pH 5

Larutan a : 1,15 ml asam asetat dilarutkan dalam 100 ml aquadest

Larutan b : 1,64 ml natrium asetat dilarutkan dalam 100 ml aquadest

Buffer asetat pH 5 dibuat dengan cara mencampurkan 14,8 ml larutan a dengan 35,2 ml larutan b dan diencerkan dengan aquadest sampai volume 100 ml (Winarno, 1986).

5. Buffer Phosphat pH 5

Larutan a : 2,6 gr natrium phosphat (monobasis) dilarutkan dalam 100 ml aquadest

Larutan b : 5,27 gr natrium phosphat (dibasis) dilarutkan dalam 100 ml Aquadest

Buffer phosphat pH 5 dibuat dengan cara mencampurkan 19,5 ml larutan a dengan 30,5 ml larutan b diencerkan dengan aquadest sampai volume 100 ml.

6. Larutan Glukosa Standar

Disiapkan larutan glukosa dengan konsentrasi 1 mg/ml dengan cara melarutkan 100 mg glukosa ke dalam 100 ml aquadest, kemudian diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, dan 1 mg/ml dengan cara :

Tabung	ml larutan glukosa	ml aquadest	Konsentrasi glukosa mg/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

7. Larutan Protein Standar

Disiapkan larutan BSA (Bovine Serum Albumin) konsentrasi 300 $\mu\text{g/ml}$ dengan cara melarutkan 0.03 g serum albumin dalam larutan buffer sitrat pH 6 yang telah didinginkan pada suhu 10⁰C selama 24 jam hingga mencapai volume 100 ml, kemudian dilakukan pengenceran sebagai berikut :

Tabung	ml larutan BSA	ml aquadest	Konsentrasi Protein $\mu\text{g/ml}$
1	0.1	0.9	30
2	0.2	0.8	60
3	0.3	0.7	90
4	0.4	0.6	120
5	0.5	0.5	150
6	0.6	0.4	180
7	0.7	0.3	210
8	0.8	0.2	240
9	0.9	0.1	270
10	1.0	0.0	300

(Sudarmadji *dkk*, 1984)

8. Pereaksi Lowry

Pereaksi Lowry A : pereaksi folin-tiocalteau 5 ml diencerkan menjadi 50 ml dengan aquadest.

Pereaksi Lowry B :

Reagen a : 10 gr Na_2CO_3 (anhidrat) dilarutkan dalam larutan NaOH 0.5 N hingga volume mencapai 100 ml.

Reagen b : 1 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquadest hingga volume 100 ml

Reagen c : 2 gr K/Na tartrat dilarutkan dalam aquadest hingga volume 100 ml.

Pereaksi Lowry B dibuat dengan cara mencampurkan 15 ml reagen a ditambah 0,75 ml reagen b dan 0,75 reagen c (Winarno, 1986).

Lampiran 2. Kurva Standar Glukosa

Tabel 03. Data absorbansi larutan glukosa standar

Glukosa (mg/ml) X	Absorbans i Y	X ²	XY	(X-X) Xi	(Y-Y) Yi	Xi ²	Yi ²	XiYi
0.2	0.148	0.04	0.03	-0.4	-0.292	0.16	0.085264	0.1168
0.4	0.292	0.16	0.117	-0.2	-0.148	0.04	0.021904	0.0296
0.6	0.445	0.36	0.267	0	0.005	0	0.000025	0
0.8	0.584	0.64	0.467	0.2	0.144	0.04	0.020736	0.0288
1.0	0.729	1.00	0.729	0.4	0.289	0.16	0.083521	0.1156
Σ=3.0	Σ=2.198	Σ=2.2	Σ=1.61			Σ=0.4	Σ=0.2115	Σ=0.201
X=0.6	Y=0.440							

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

$$= \frac{5(1.610) - (3)(2.198)}{5(2.2) - (3)^2}$$

$$b = 0.73$$

$$r = \frac{\sum XiYi}{\sqrt{\sum Xi^2 \sum Yi^2}}$$

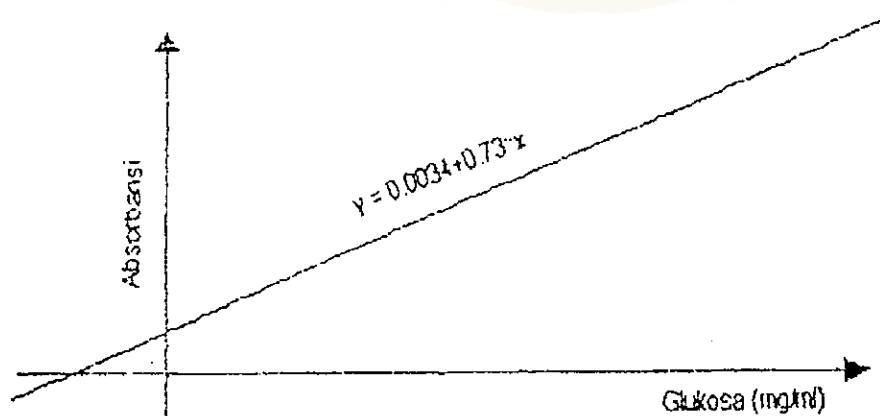
$$= \frac{0.291}{\sqrt{0.4 \times 0.2115}}$$

$$r = 0.99$$

$$Y = a + bX$$

$$= 0.44 - (0.73 \times 0.6)$$

$$a = 0.0034$$



Gambar 09 Grafik Persamaan Kurva Standar Glukosa

Lampiran 3. Data Absorbansi dan Aktivitas Enzim Amilase

Tabel 04. Data absorbansi pengukuran gula reduksi

Perlakuan bekatul	Ulangan							
	1		2		3		4	
	a	b	a	b	a	b	a	b
S1	0.558	0.570	0.555	0.564	0.556	0.566	0.562	0.575
S2	0.556	0.575	0.559	0.575	0.564	0.582	0.565	0.580
S3	0.559	0.581	0.554	0.578	0.558	0.587	0.562	0.585
S4	0.562	0.587	0.560	0.594	0.562	0.592	0.559	0.587
S5	0.565	0.604	0.562	0.608	0.552	0.600	0.556	0.602
S6	0.566	0.601	0.558	0.590	0.559	0.598	0.564	0.595

a = pengukuran absorbansi gula reduksi 0 jam

b = pengukuran absorbansi gula reduksi 1 jam

Tabel 05. Kandungan gula reduksi setelah diplotkan pada persamaan kurva standar

Perlakuan bekatul	Ulangan			
	1	2	3	4
S1	0.165	0.124	0.138	0.179
S2	0.261	0.220	0.248	0.206
S3	0.303	0.330	0.339	0.316
S4	0.344	0.468	0.413	0.385
S5	0.536	0.633	0.660	0.633
S6	0.481	0.442	0.536	0.426

Kadar gula reduksi = kadar gula reduksi b – kadar gula reduksi a

Tabel 06. Aktivitas Enzim Amilase (unit/ml/menit)

Perlakuan bekatul	Ulangan				Jumlah	Rata-Rata
	1	2	3	4		
S1	0.3055	0.2295	0.2545	0.3310	1.1205	0.2801
S2	0.4840	0.4075	0.4585	0.3820	1.7320	0.4330
S3	0.5605	0.6115	0.7385	0.5860	2.4965	0.6241
S4	0.6370	0.8660	0.7640	0.7130	2.9800	0.7450
S5	0.9935	1.1715	1.2225	1.1715	4.5590	1.1398
S6	0.8915	0.8175	0.9935	0.7895	3.4920	0.8730
Total					16.3800	

Lampiran 4. Perhitungan Analisis Sidik Ragam dan Uji BNT

Faktor Koreksi	$= 16.3800^2/24$
	$= 11.1794$
Jumlah Kuadrat Total	$= (0.3055^2 + 0.4840^2 + \dots + 0.7895^2) - FK$
	$= 2.0219$
Jumlah Kuadrat Perlakuan	$= ((1.1205^2 + \dots + 3.4920^2)/4) - FK$
	$= 1.9074$
Jumlah Kuadrat Galat	$= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$
	$= 2.0219 - 1.9074$
	$= 0.1146$
KT Perlakuan	$= JKP : dB \text{ Perlakuan}$
	$= 1.9074 : 5$
	$= 0.3815$
KT Galat	$= JKG : dB \text{ Galat}$
	$= 0.1146 : 18$
	$= 0.0064$
F Hitung	$= KT \text{ Perlakuan} : KT \text{ Gaalat}$
	$= 0.3815 : 0.0064$
	$= 59.9405$

Tabel 07. Hasil perhitungan analisis sidik ragam aktivitas enzim

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F hitung	F tabel 1%
Perlakuan	5	1.9074	0.3815	59.940**	4.25
Galat	18	0.1146	0.0064		
Total	23	2.0219			

Keterangan : ** F hitung > F tabel 1%

$$\begin{aligned}
 \text{Uji BNT 1\%} &= t(1\%, 18) \times \sqrt{2KTG/n} \\
 &= 2.55 \times \sqrt{2 \times 0.0064 / 4} \\
 &= 0.1438
 \end{aligned}$$

Selisih rata-rata tiap perlakuan

Perlakuan	S5	S6	S4	S3	S2	S1
S5	1.1398	-				
S6	0.8730	0.2668**				
S4	0.7450	0.3948**	0.1280			
S3	0.6241	0.5156**	0.2489**	0.1209		
S2	0.4330	0.7068**	0.4400**	0.3120**	0.1911**	
S1	0.2801	0.8596**	0.5929**	0.4649**	0.3440**	0.1529**

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Lampiran 5. Kurva Standar Protein

Tabel 03. Data absorbansi larutan protein standar

Protein (mg/ml) X	Absorbansi Y	X ²	XY	(X-X) Xi	(Y-Y) Yi	Xi ²	Yi ²	XiYi
30	0.110	900	3.3	-135	-0.2335	18225	0.05452	31.5225
60	0.163	3600	9.8	-105	-0.1805	11025	0.03258	18.9525
90	0.206	8100	18.5	-75	-0.1375	5625	0.01891	10.3125
120	0.251	14400	30.1	-45	-0.0925	2025	0.00856	4.1625
150	0.310	22500	46.5	-15	-0.0335	225	0.00112	0.2025
180	0.355	32400	63.9	15	-0.0115	225	0.00013	0.1725
210	0.412	44100	86.5	45	0.0685	2025	0.00469	3.0825
240	0.468	57600	112.3	75	0.1245	5625	0.01550	9.3375
270	0.544	72900	146.9	105	0.2005	11025	0.04020	21.0525
300	0.616	90000	184.8	135	0.2725	18225	0.07426	36.7875
Σ=1650	Σ=3.435	Σ=346500	Σ=702.66			Σ=74250	Σ=0.2505	Σ=135.89
X=165	Y=0.3435							

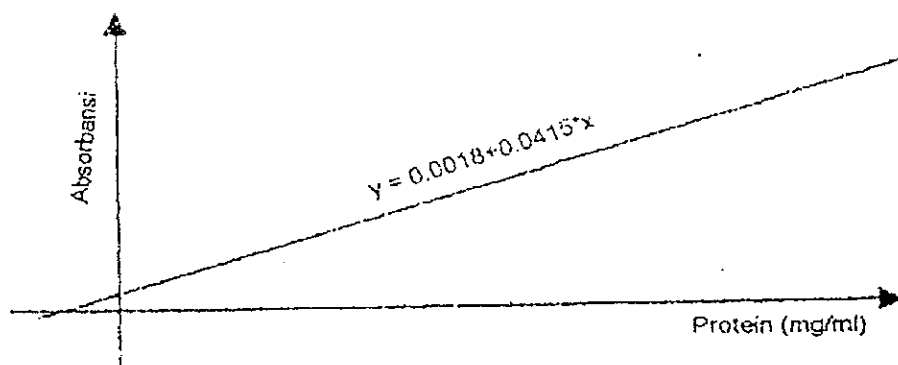
$$b = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} = \frac{10(702.66) - (1650)(3.435)}{10(346500) - (1650)^2} = 0.0415$$

$$r = \frac{\sum XiYi}{\sqrt{\sum Xi^2 \sum Yi^2}} = \frac{135.89}{\sqrt{74250 \times 0.25047}} = 0.98$$

$$Y = a + bX$$

$$a = 0.3435 - (0.0415 \times 165)$$

$$a = 0.0018$$



Gambar 10 Grafik Persamaan Kurva Standar Protein

Lampiran 6. Data Absorbansi dan Kadar Protein Enzim

Tabel 09. Data absorbansi protein enzim

Perlakuan Bekatul	Ulangan			
	1	2	3	4
S1	0.043	0.041	0.047	0.045
S2	0.049	0.053	0.055	0.048
S3	0.052	0.057	0.058	0.056
S4	0.056	0.062	0.061	0.065
S5	0.063	0.067	0.068	0.070
S6	0.059	0.063	0.064	0.062

Tabel 10. Kadar protein enzim (mg)

Perlakuan Bekatul	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
S1	0.993	0.945	1.089	1.041	4.067	1.017
S2	1.137	1.234	1.282	1.113	4.766	1.192
S3	1.210	1.330	1.345	1.306	5.200	1.300
S4	1.306	1.451	1.427	1.523	5.706	1.427
S5	1.475	1.571	1.595	1.643	6.284	1.571
S6	1.378	1.475	1.499	1.451	5.802	1.451
Total					31.827	



Lampiran 7. Perhitungan Analisis Sidik Ragam dan Uji BNT

Faktor Koreksi	$= 31.827^2/24$
	$= 42.205$
Jumlah Kuadrat Total	$= (0.993^2 + 0.1.137^2 + \dots + 1.451^2) - FK$
	$= 0.89$
Jumlah Kuadrat Perlakuan	$= ((4.067^2 + 4.766^2 + \dots + 5.802^2)/4) - FK$
	$= 0.80$
Jumlah Kuadrat Galat	$= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$
	$= 0.89 - 0.80$
	$= 0.09$
KT Perlakuan	$= JKP : dB \text{ Perlakuan}$
	$= 0.80 : 5$
	$= 0.16$
KT Galat	$= JKG : dB \text{ Galat}$
	$= 0.09 : 18$
	$= 0.005$
F Hitung	$= KT \text{ Perlakuan} : KT \text{ Gaalat}$
	$= 0.16 : 0.005$
	$= 31.898$

Tabel 11. Hasil perhitungan analisis sidik ragam kadar protein enzim

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F hitung	F tabel 1%
Perlakuan	5	0.800	0.160	31.898**	4.25
Galat	18	0.090	0.005		
Total	23	0.890			

Keterangan : ** F hitung > F tabel 1%

$$\begin{aligned}
 \text{Uji BNT 1\%} &= t(1\%, 18) \times \sqrt{2KTG/n} \\
 &= 2.55 \times \sqrt{2 \times 0.005/4} \\
 &= 0.128
 \end{aligned}$$

Selisih rata-rata tiap perlakuan

Perlakuan	S5	S6	S4	S3	S2	S1
S5	1.571	-				
S6	1.451	0.120				
S4	1.427	0.145**	0.024			
S3	1.300	0.271**	0.151**	0.127		
S2	1.192	0.380**	0.259**	0.235**	0.108	
S1	1.017	0.554**	0.434**	0.410**	0.283**	0.175**

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Lampiran 8. Aktivitas Spesifik Enzim Amilase

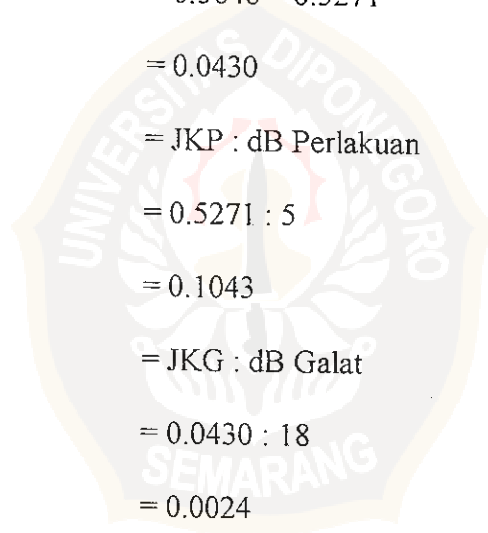
Tabel 12. Aktivitas spesifik enzim amilase (unit/mg)

Perlakuan Bekatul	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
S1	0.3077	0.2429	0.2337	0.3180	1.1022	0.2755
S2	0.4257	0.3302	0.3576	0.3432	1.4568	0.3642
S3	0.4671	0.4598	0.5454	0.4487	1.9210	0.4802
S4	0.4877	0.5968	0.5354	0.4682	2.0881	0.5220
S5	0.6736	0.7457	0.7665	0.7130	2.8987	0.7247
S6	0.6470	0.5542	0.6628	0.5441	2.4081	0.6020
Total					11.8749	



Lampiran 9. Perhitungan Analisis Sidik Ragam dan Uji BNT

Faktor Koreksi	$= 11.8749^2/24$
	$= 5.8755$
Jumlah Kuadrat Total	$= (0.3077^2 + 0.4257^2 + \dots + 0.5441^2) - FK$
	$= 0.5648$
Jumlah Kuadrat Perlakuan	$= ((1.1022^2 + 1.4568^2 + \dots + 2.4081^2)/4) - FK$
	$= 0.5271$
Jumlah Kuadrat Galat	$= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$
	$= 0.5648 - 0.5271$
	$= 0.0430$
KT Perlakuan	$= JKP : dB \text{ Perlakuan}$
	$= 0.5271 : 5$
	$= 0.1043$
KT Galat	$= JKG : dB \text{ Galat}$
	$= 0.0430 : 18$
	$= 0.0024$
F Hitung	$= KT \text{ Perlakuan} : KT \text{ Gaalat}$
	$= 0.1043 : 0.0024$
	$= 43.6404$



Tabel 13. Hasil perhitungan analisis sidik ragam aktivitas spesifik enzim

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F hitung	F tabel 1%
Perlakuan	5	0.521714	0.104343	43.6404**	4.25
Galat	18	0.043037	0.002391		
Total	23	0.564751			

Keterangan : ** F hitung > F tabel 1%

$$\begin{aligned}
 \text{Uji BNT 1\%} &= t(1\%, 18) \times \sqrt{2KTG/n} \\
 &= 2.55 \times \sqrt{2 \times 0.0024/4} \\
 &= 0.0883
 \end{aligned}$$

Selisih rata-rata tiap perlakuan

Perlakuan	S5	S6	S4	S3	S2	S1
S5	0.7247	-				
S6	0.6020	0.1227**				
S4	0.5220	0.2027**	0.0800			
S3	0.4802	0.2445**	0.1218**	0.0418		
S2	0.3642	0.3605**	0.2378**	0.1578**	0.1160**	
S1	0.2755	0.4492**	0.3265**	0.2465**	0.2047**	0.0887**

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Lampiran 10. Normalitas Data Aktivitas Enzim

Tabel 14. Normalitas data aktivitas enzim amilase

X	X ²	X ² -X	Zi	DF	F(Zi)	S(Zi)	F(Zi)-S(Zi)
0.2295	0.05267	-0.62983	-2.12426	-0.4830	0.0170	0.04167	0.02467
0.2545	0.06477	-0.61773	-2.08345	-0.4812	0.0188	0.08333	0.06453
0.3055	0.09333	-0.58917	-1.98712	-0.4767	0.0233	0.12500	0.10170
0.3310	0.10956	-0.57294	-1.93238	-0.4732	0.0268	0.16667	0.13987
0.3820	0.14592	-0.53658	-1.80973	-0.4649	0.0351	0.20833	0.17323
0.4075	0.16606	-0.51644	-1.74183	-0.4591	0.0409	0.25000	0.20910
0.4585	0.21022	-0.47228	-1.59287	-0.4441	0.0559	0.29167	0.23577
0.4840	0.23426	-0.44824	-1.51181	-0.4345	0.0655	0.33333	0.26783
0.5605	0.31416	-0.36834	-1.24232	-0.3925	0.1075	0.37500	0.26750
0.5860	0.34340	-0.33910	-1.14371	-0.3729	0.1271	0.41667	0.28957
0.6115	0.37393	-0.30857	-1.04072	-0.3508	0.1492	0.45833	0.30913
0.6370	0.40577	-0.27673	-0.93334	-0.3238	0.1762	0.50000	0.32380
0.7130	0.50837	-0.17413	-0.58730	-0.2224	0.2776	0.54167	0.26407
0.7385	0.54538	-0.13712	-0.46246	-0.1772	0.3228	0.58333	0.26053
0.7640	0.58370	-0.09880	-0.33324	-0.1293	0.3707	0.62500	0.25430
0.7895	0.62331	-0.05919	-0.19963	-0.0793	0.4207	0.66667	0.24597
0.8175	0.66831	-0.01419	-0.04787	-0.0199	0.4801	0.70833	0.22823
0.8660	0.74996	0.06746	0.22751	0.0910	0.5910	0.75000	0.15900
0.8915	0.79477	0.11227	0.37867	0.1480	0.6480	0.79167	0.14367
0.9935	0.98704	0.30454	1.02714	0.3485	0.8485	0.83333	0.01517
0.9935	0.98704	0.30454	1.02714	0.3485	0.8485	0.87500	0.02650
1.1715	1.37241	0.68991	2.32690	0.4901	0.9901	0.91667	0.07343
1.1715	1.37241	0.68991	2.32690	0.4901	0.9901	0.95833	0.03177
1.2225	1.49451	0.81201	2.73869	0.4969	0.9969	1.00000	0.00310
$\Sigma=16.380$	$\Sigma=13.2013$						
$X=0.6825$							

$$Z_i = \frac{x_i^2 - x}{s}$$

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

$$S^2 = \frac{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}{n(n-1)}$$

$$= \frac{(24 \times 13.2013) - (16.38)^2}{24 \times 23}$$

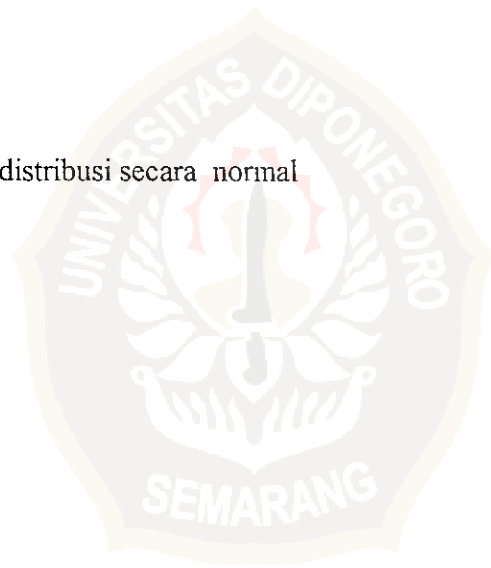
$$= 0.08791$$

$$S = 0.29649$$

$$L \text{ hitung maksimum} = 0.3238$$

$$L \text{ tabel } 1\% = 0.239$$

L hitung > L tabel 1% , data terdistribusi secara normal



Lampiran 11. Homogenitas Data Aktivitas Enzim

Tabel 15. Homogenitas data aktivitas enzim

	Xi	Xi-X	(Xi-X) ²
S1	0.3055	0.0254	0.00064
	0.2295	-0.0506	0.00256
	0.2545	-0.0256	0.00066
	0.3310	0.0509	0.00259
Jumlah	1.1205		0.00645
Rata-rata	0.2801		0.00161
S2	0.4840	0.0510	0.00260
	0.4075	-0.0255	0.00065
	0.4585	0.0255	0.00065
	0.3820	-0.0510	0.00260
Jumlah	1.7320		0.00650
Rata-rata	0.4330		0.00163
S3	0.5605	-0.0636	0.00405
	0.6115	-0.0126	0.00016
	0.7385	0.1144	0.01308
	0.5860	-0.0381	0.00145
Jumlah	2.4965		0.01874
Rata-rata	0.6241		0.00469
S4	0.6370	-0.1080	0.01166
	0.8660	0.1210	0.01464
	0.7640	0.0190	0.00036
	0.7130	-0.0320	0.00102
Jumlah	2.9800		0.02769
Rata-rata	0.7450		0.00692
S5	0.9935	-0.1463	0.02139
	1.1715	0.0317	0.00101
	1.2225	0.0827	0.00685
	1.1715	0.0317	0.00101
Jumlah	4.5590		0.03025
Rata-rata	1.1398		0.00756
S6	0.8915	0.0185	0.00034
	0.8175	-0.0555	0.00308
	0.9935	0.1205	0.01452
	0.7895	-0.0835	0.00697
Jumlah	3.4920		0.02492
Rata-rata	0.8730		0.00623

Tabel 16. Uji Homogenitas aktivitas enzim

Perlakuan	dk	1/dk	S_i^2	$\log S_i^2$	dk $\log S_i^2$
S1	3	0.3333	0.00215	2.66745	8.002344
S2	3	0.3333	0.00217	2.66404	7.992123
S3	3	0.3333	0.00625	2.20429	6.612868
S4	3	0.3333	0.00923	2.03480	6.104395
S5	3	0.3333	0.01008	1.99636	5.989069
S6	3	0.3333	0.00831	2.08066	6.241981
Jumlah	18	2.0000	0.03818	13.64759	40.94278

$$S_i^2 = \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$$

$$S^2 = \frac{\sum (n_i - 1) S_i^2}{\sum (n-1)}$$

$$= \frac{3 \times 0.03818}{18}$$

$$= 0.006363$$

$$1 \log S^2 = 2.1963$$

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

$$= 2.1963 \times 18$$

$$= 39.5334$$

$$x^2 \text{ hitung} = (\ln 10) (B - (n-1) \log S_i^2)$$

$$= 2.3 \times (39.5334 - 40.9428)$$

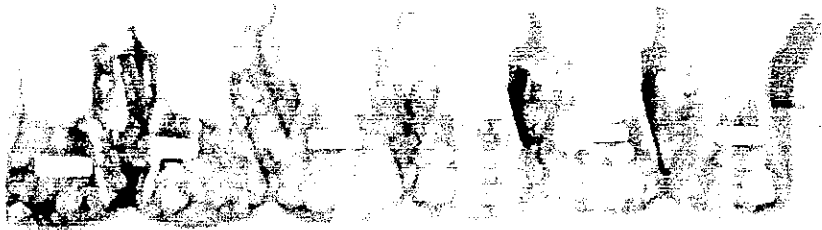
$$= 3.2416$$

$$x^2 (0.95)(3) = 11.3$$

$x^2 \text{ hitung} < x^2 \text{ tabel}$, data homogen



Lampiran 12. Foto Percobaan



Gambar 11. *A. niger* dalam medium percobaan inkubasi 0 hari (dari kiri ke kanan : S1, S2, S3, S4, S5, S6)



Gambar 12. *A. niger* dalam medium percobaan inkubasi 7 hari (dari kiri ke kanan : S1, S2, S3, S4, S5, S6).