

LAMPIRAN

Lampiran 1

PEMBUATAN LARUTAN

A. Pembuatan buffer asetat 0,05 M pH 5,0

- Asam Asetat 0,05 M

Sebanyak 2,89 mL asam asetat dilarutkan dengan aquadest hingga 1000 mL.

- Natrium Asetat 0,05 M

Sebanyak 6,8 gram Natrium Asetat ($C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$) dilarutkan dengan aquadest hingga 1000 mL.

- Membuat buffer asetat 0,05 M pH 5,0

Sebanyak 35 mL larutan asam asetat 0,05 M ditambah dengan 15 mL larutan Natrium asetat 0,05 M dan diencerkan hingga 100 mL.

B. Pembuatan larutan papain 0,25 mg/mL dalam buffer asetat 0,05 M pH 5,0

- Sebanyak 25 mg enzim papain murni dilarutkan dengan buffer asetat 0,05 M pH 5,0 hingga 100 mL.

Penentuan berat jenisnya (ρ):

- Larutan papain dimasukkan ke dalam picnometer 10 mL, lalu ditimbang beratnya.
- Berat jenis dihitung sebagai pengurangan berat larutan dalam picnometer dengan berat picnometer kosong dibagi volume picnometer.

C. Pembuatan larutan asam askorbat dalam buffer asetat
0,05 M pH 5,0

Asam Askorbat $2,5 \cdot 10^{-3}$ M

- Sebanyak 440,325 mg asam askorbat dilarutkan dengan buffer asetat 0,05 M pH 5,0 sehingga diperoleh 1000 mL

Asam Askorbat $2,5 \cdot 10^{-4}$ M

- Sebanyak 10 ml asam askorbat $2,5 \cdot 10^{-3}$ M diencerkan dengan buffer asetat 0,05 M pH 5,0 hingga 100 mL.

Asam askorbat $2,5 \cdot 10^{-5}$ M

- Sebanyak 1 mL asam askorbat $2,5 \cdot 10^{-3}$ M diencerkan dengan buffer asetat 0,05 M pH 5,0 hingga 100 mL.

Penentuan berat jenisnya (ρ):

- Berat jenis asam askorbat ditentukan dengan cara yang sama seperti penentuan berat jenis papain.

D. Pembuatan larutan Serum Bovine Albumin

- Sebanyak 0,5 gram SBA dilarutkan dalam 1000 mL, sehingga diperoleh larutan SBA 500 $\mu\text{g/mL}$.
- Untuk mendapatkan larutan SBA 0 - 500 $\mu\text{g/mL}$ dilakukan pengenceran.

E. Pembuatan reagensia Lowry

- *Lowry A* : 10 gram Na_2CO_3 ditambahkan 2 gram NaOH dan 0,2 gram Kalium Natrium Tartrat dilarutkan dengan aquadest sehingga diperoleh 500 mL larutan.
- *Lowry B* : 0,6 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan aquadest sehingga diperoleh 100 mL larutan.
- *Lowry C* : 50 bagian *Lowry A* ditambah 1 bagian *Lowry B* (disiapkan baru).
- *Lowry D* : Folin Ciocalteu-Fenol diencerkan dengan aquadest dengan perbandingan 1:1 (disiapkan baru).



Lampiran 2

PERHITUNGAN BERAT JENIS

A. PAPAIN

berat picnometer kosong = 11,100 gram

berat papain dalam picnometer = 20,685 gram

berat papain tanpa picnometer

(20,685 - 11,100) gram = 9,585 gram

sehingga berat jenisnya (ρ):

$$\frac{9,585}{10} = 0,9585 \text{ gram/mL}$$

B. ASAM ASKORBAT

berat picnometer kosong = 11,100 gram

berat asam askorbat dalam picnometer = 20,689 gram

berat asam askorbat tanpa picnometer

(20,689 - 11,100) gram = 9,589 gram

sehingga berat jenisnya (ρ):

$$\frac{9,589}{10} = 0,9589 \text{ gram/mL}$$

Diketahui volume picnometer adalah 10 mL

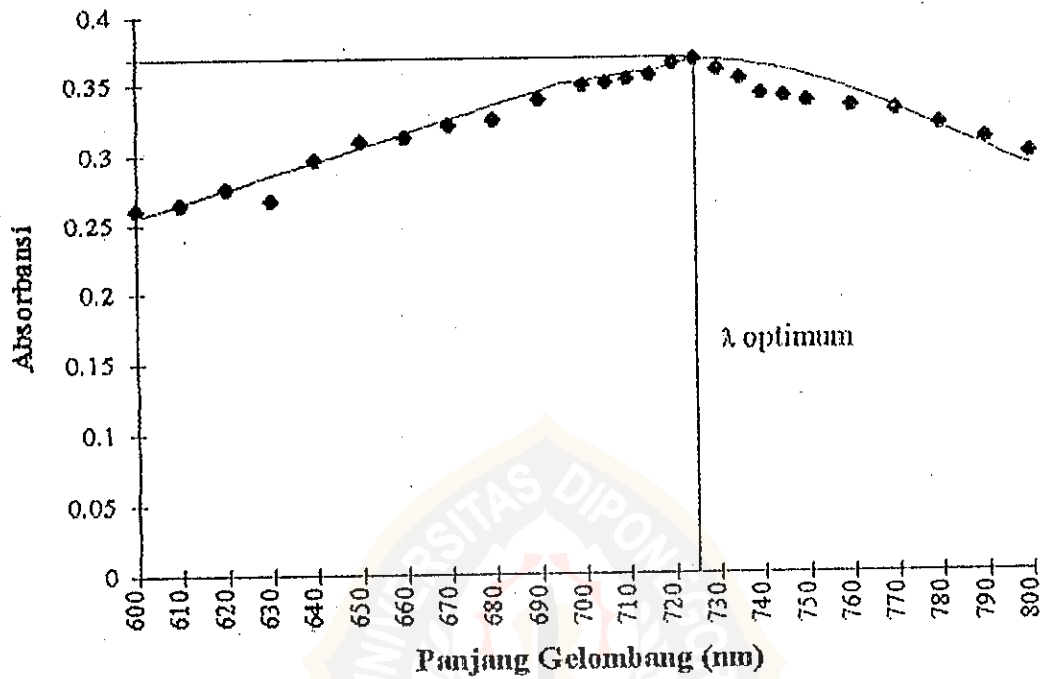
Lampiran 3

PENENTUAN PANJANG GELOMBANG OPTIMUM SERUM BOVINE ALBUMIN

A. Hasil penentuan panjang gelombang optimum serum bovine albumin dengan Spektrofotometer UV-VIS Shimatzu

No	λ (nm)	A b s o r b a n s i			
		A ₁	A ₂	A ₃	A rata-rata
1	600	0,260	0,260	0,260	0,260
2	610	0,264	0,264	0,264	0,264
3	620	0,275	0,275	0,275	0,275
4	630	0,267	0,267	0,267	0,267
5	640	0,296	0,296	0,296	0,296
6	650	0,309	0,309	0,309	0,309
7	660	0,312	0,312	0,312	0,312
8	670	0,320	0,320	0,320	0,320
9	680	0,324	0,324	0,324	0,324
10	690	0,338	0,338	0,338	0,338
11	700	0,348	0,348	0,348	0,348
12	705	0,350	0,350	0,350	0,350
13	710	0,353	0,353	0,353	0,353
14	715	0,356	0,356	0,356	0,356
15	720	0,364	0,364	0,364	0,364
16	725	0,367	0,367	0,367	0,367
17	730	0,360	0,360	0,360	0,360
18	735	0,353	0,353	0,353	0,353
19	740	0,342	0,342	0,342	0,342
20	745	0,340	0,340	0,340	0,340
21	750	0,336	0,336	0,336	0,336
22	760	0,332	0,332	0,332	0,332
23	770	0,330	0,330	0,330	0,330
24	780	0,319	0,319	0,319	0,319
25	790	0,308	0,308	0,308	0,308
26	800	0,299	0,299	0,299	0,299

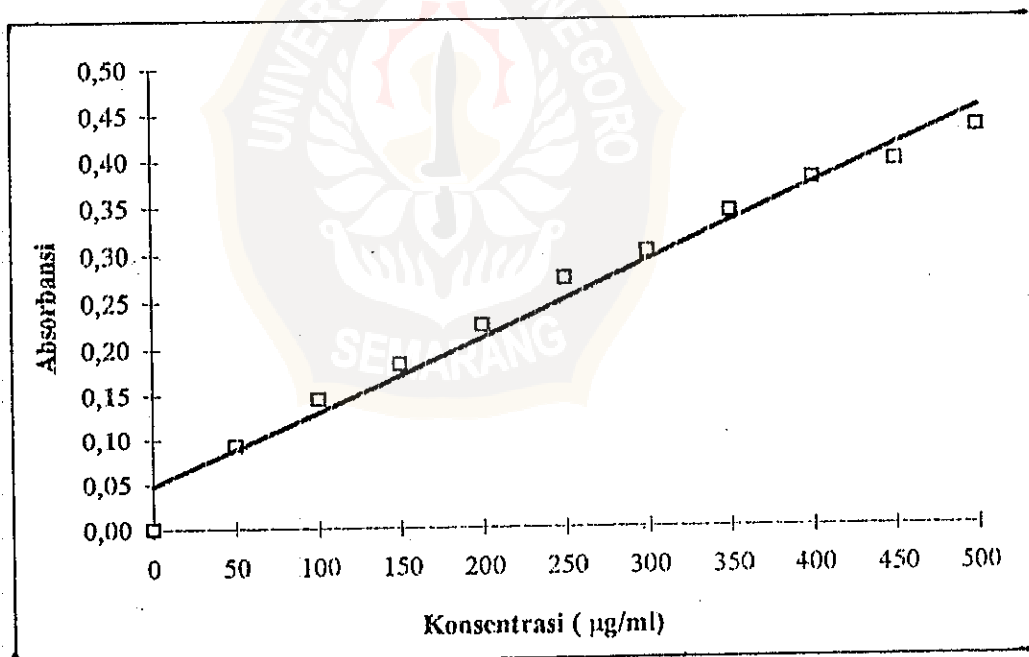
B. Grafik Penentuan Panjang Gelombang Optimum Serum Bovine Albumin dengan spektrofotometer UV-VIS Shimadzu



C. Hasil Penentuan Kurva Standar Serum Bovine Albumin pada 725 nm dengan Spektrofotometer UV-VIS Shimadzu

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) C	Absorbansi (A)
1	0	0
2	50	0,093
3	100	0,144
4	150	0,182
5	200	0,224
6	250	0,273
7	300	0,300
8	350	0,343
9	400	0,377
10	450	0,396
11	500	0,433

D. Grafik Kurva Standar Serum Bovine Albumin



Lampiran 4

A. Data berat masing - masing sampel, volume papain dan asam askorbat yang diinjeksikan serta absorbansinya

No	label	berat daging (gram)	volume papain (mL)	volume askorb (mL)	waktu inkub (jam)	Absorbansi pada 725 nm			
						A ₁	A ₂	A ₃	A rata ²
1	A ₁	10,253	-	-	0	0,180	0,180	0,180	0,180
2	A ₂	10,823	0,11	-		0,247	0,247	0,247	0,247
3	A ₃	12,593	0,13	0,13		0,240	0,240	0,240	0,240
4	A ₄	13,278	0,13	0,13		0,244	0,244	0,244	0,244
5	A ₅	12,004	0,12	0,12		0,246	0,246	0,246	0,246
6	B ₁	11,160	-	-	1	0,153	0,153	0,153	0,153
7	B ₂	09,952	0,10	-		0,189	0,189	0,189	0,189
8	B ₃	13,556	0,14	0,14		0,176	0,176	0,176	0,176
9	B ₄	10,203	0,10	0,10		0,179	0,179	0,179	0,179
10	B ₅	11,750	0,12	0,12		0,181	0,181	0,181	0,181
11	C ₁	10,585	-	-	2	0,121	0,121	0,121	0,121
12	C ₂	14,149	0,12	-		0,140	0,140	0,140	0,140
13	C ₃	10,812	0,11	0,11		0,102	0,102	0,102	0,102
14	C ₄	12,244	0,12	0,12		0,107	0,107	0,107	0,107
15	C ₅	12,023	0,12	0,12		0,110	0,110	0,110	0,110
16	D ₁	12,136	-	-	3	0,089	0,089	0,089	0,089
17	D ₂	11,255	0,11	-		0,178	0,178	0,178	0,178
18	D ₃	12,462	0,12	0,12		0,147	0,147	0,147	0,147
19	D ₄	11,213	0,11	0,11		0,150	0,150	0,150	0,150
20	D ₅	09,073	0,09	0,09		0,163	0,163	0,163	0,163
21	E ₁	12,898	-	-	4	0,126	0,126	0,126	0,126
22	E ₂	13,989	0,14	-		0,218	0,218	0,218	0,218
23	E ₃	12,141	0,12	0,12		0,199	0,199	0,199	0,199
24	E ₄	12,324	0,12	0,12		0,201	0,201	0,201	0,201
25	E ₅	13,209	0,13	0,13		0,208	0,208	0,208	0,208
26	F ₁	09,864	-	-	5	0,097	0,097	0,097	0,097
27	F ₂	11,655	0,12	-		0,123	0,123	0,123	0,123
28	F ₃	10,915	0,11	0,11		0,102	0,102	0,102	0,102
29	F ₄	12,689	0,13	0,13		0,107	0,107	0,107	0,107
30	F ₅	13,770	0,14	0,14		0,110	0,110	0,110	0,110

B. Rumus penentuan kadar protein terlarut

- Persamaan kurva standar; $Y = 0,000813455 X + 0,048$

dimana, Y ; Absorbansi

X ; Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)

- Kadar protein terlarut dalam 0,6 ml sampel :

$$X = \frac{Y - 0,048}{0,000813455} \quad \mu\text{g/mL}$$

$$X = C \quad \mu\text{g/mL}$$

- Kadar protein terlarut daging dalam 10 mL aquadest :

$$X = \frac{10}{0,6} \times C \times \frac{1000}{1} \quad \text{mg/10 mL}$$

- Kadar protein terlarut sampel dalam mg/mL :

$$X = \frac{10}{0,6} \times \frac{1000}{10} \times C \quad \text{mg/mL}$$

C. Perhitungan Kadar Protein Papain dalam Larutan

- Volume larutan = 10 mL

- Volume papain yang dipakai, misal V mL

- Volume total = (10 + V) mL

Kadar papain dalam larutan :

$$\frac{V + 0,25}{10 + V} \quad \text{mg/mL}$$

0,25 mg/mL adalah konsentrasi awal papain

D. Data kadar protein total

No	label	Abs rata ²	kadar protein terlarut (mg/10 mL)	kadar papain dalam larutan (mg/10 mL)	kadar prot total (mg/mL)
1	A1	0,180	2,704	-	0,270
2	A2	0,247	4,077	$2,72 \cdot 10^{-3}$	0,407
3	A3	0,240	3,934	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,394
4	A4	0,244	4,016	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,401
5	A5	0,246	4,057	$2,96 \cdot 10^{-3}$	0,405
6	B1	0,153	2,151	-	0,215
7	B2	0,189	2,889	$2,48 \cdot 10^{-3}$	0,289
8	B3	0,176	2,623	$3,45 \cdot 10^{-3}$	0,262
9	B4	0,179	2,684	$2,48 \cdot 10^{-3}$	0,268
10	B5	0,181	2,724	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,272
11	C1	0,121	1,496	-	0,150
12	C2	0,140	1,885	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,189
13	C3	0,102	1,106	$2,72 \cdot 10^{-3}$	0,111
14	C4	0,107	1,209	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,121
15	C5	0,110	1,270	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,127
16	D1	0,089	0,840	-	0,084
17	D2	0,178	2,664	$2,72 \cdot 10^{-3}$	0,266
18	D3	0,147	2,028	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,203
19	D4	0,150	2,089	$2,72 \cdot 10^{-3}$	0,209
20	D5	0,163	2,356	$2,23 \cdot 10^{-3}$	0,236
21	E1	0,126	1,598	-	0,160
22	E2	0,218	3,483	$3,45 \cdot 10^{-3}$	0,348
23	E3	0,199	3,094	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,309
24	E4	0,201	3,135	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,314
25	E5	0,208	3,278	$3,17 \cdot 10^{-3}$	0,328
26	F1	0,097	1,004	-	0,100
27	F2	0,123	1,537	$3,21 \cdot 10^{-3}$	0,154
28	F3	0,102	1,106	$2,72 \cdot 10^{-3}$	0,111
29	F4	0,107	1,209	$2,17 \cdot 10^{-3}$	0,121
30	F5	0,110	1,270	$3,45 \cdot 10^{-3}$	0,127

Lampiran 5.

PENENTUAN AKTIVITAS PAPAIN

A. Perhitungan aktivitas papain tanpa inhibitor

No	label	X-pap (mg/10 mL)	Y (mg/ 10 mL)	P (mg/mL)
1	A	4,075	2,705	0,137
2	B	2,886	2,151	0,074
3	C	1,882	1,496	0,039
4	D	2,661	0,840	0,182
5	E	3,480	1,598	0,188
6	F	1,534	1,004	0,053

Keterangan :

Rumus:

$$[P] = \frac{[X - \text{kadar protein papain}] - Y}{10}$$

dimana, X - papain : Kadar protein didapat setelah penambahan papain dikurangi kadar protein papain dalam larutan.

Y : Kadar protein terlarut daging tanpa papain.

[P] : Konsentrasi produk.

B. Perhitungan aktivitas papain terhadap penambahan asam askorbat

1. Asam Askorbat $2,5 \cdot 10^{-3}$ M

No	waktu (menit)	X (mg/mL)	Y (mg/mL)	X - Y (mg/mL)
1.	0	0,394	0,270	0,124
2.	60	0,262	0,215	0,047
3.	120	0,110	0,150	-0,040
4.	180	0,203	0,084	0,119
5.	240	0,308	0,160	0,149
6.	300	0,110	0,100	0,010

2. Asam Askorbat $2,5 \cdot 10^{-4}$ M

No	waktu (menit)	X (mg/mL)	Y (mg/mL)	X - Y (mg/mL)
1.	0	0,401	0,270	0,131
2.	60	0,268	0,215	0,053
3.	120	0,121	0,150	-0,029
4.	180	0,209	0,084	0,125
5.	240	0,313	0,160	0,153
6.	300	0,121	0,100	0,021

3. Asam Askorbat $2,5 \cdot 10^{-5}$ M

No	waktu (menit)	X (mg/mL)	Y (mg/mL)	X - Y (mg/mL)
1.	0	0,405	0,270	0,135
2.	60	0,272	0,215	0,057
3.	120	0,128	0,150	-0,022
4.	180	0,235	0,084	0,151
5.	240	0,328	0,160	0,168
6.	300	0,127	0,100	0,027

Keterangan:

X : kadar protein terlarut total pada penambahan papain dan inhibitor.

Y : Kadar protein terlarut pembanding (tanpa penambahan papain).



133/111/91

