

Lampiran 1. Hasil Penentuan λ Optimum, Kurva Standar dan Rumus Kurva Standar Larutan Glukosa dan Bouvine Serum Albumin

Tabel 1. Hasil penentuan λ (Panjang gelombang) Optimum Larutan Standar Glukosa

No	Panjang gelombang (λ)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	A4	
1.	380 nm	0,127	0,127	0,127	0,128	0,127
2.	390 nm	0,176	0,176	0,175	0,175	0,176
3.	400 nm	0,209	0,209	0,209	0,209	0,209
4.	410 nm	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232
5.	420 nm	0,272	0,272	0,272	0,271	0,272
6.	430 nm	0,295	0,296	0,296	0,295	0,296
7.	435 nm	0,304	0,304	0,304	0,304	0,304
8.	440 nm	0,320	0,319	0,320	0,320	0,320
9.	445 nm	0,312	0,312	0,311	0,311	0,312
10.	450 nm	0,279	0,280	0,280	0,280	0,280
11.	460 nm	0,289	0,289	0,289	0,289	0,289

Tabel 2. Hasil penentuan Kurva Standar Glukosa pada λ : 440 nm

No	Konsentrasi (mg/100 mL)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	A4	
1.	0	0	0	0	0	0
2.	0,2	0,051	0,051	0,051	0,051	0,051
3.	0,4	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098
4.	0,6	0,140	0,140	0,140	0,140	0,140
5.	0,8	0,186	0,186	0,186	0,186	0,186
6.	1,0	0,220	0,221	0,220	0,220	0,220
7.	1,2	0,275	0,275	0,275	0,275	0,275
8.	1,4	0,324	0,325	0,325	0,325	0,325
9.	1,6	0,362	0,362	0,362	0,362	0,362
10.	1,8	0,405	0,405	0,405	0,405	0,405
11.	2,0	0,420	0,420	0,420	0,420	0,420

Tabel 3. Hasil penentuan Rumus Kurva Standar Glukosa pada λ : 440 nm.

No	Konsentrasi (Xi)	Absorbansi (Yi)	Xi . Yi	(Xi) ²
1	0	0	0	0
2	0,2	0,051	0,0102	0,040
3	0,4	0,098	0,0392	0,160
4	0,6	0,140	0,0840	0,360
5	0,8	0,186	0,1488	0,640
6	1,0	0,220	0,2200	1,000
7	1,2	0,275	0,3300	1,440
8	1,4	0,325	0,4550	1,960
9	1,6	0,362	0,5792	2,560
10	1,8	0,405	0,7290	3,240
11	2,0	0,420	0,8400	4,000
	$\Sigma x = 11$	$\Sigma y = 2,482$	$\Sigma xy = 3,4354$	$\Sigma x^2 = 15,4$

$$\begin{aligned}
 a &= \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2} = \frac{11 \cdot (3,4354) - (11) \cdot (2,482)}{11 \cdot (15,4) - (11)^2} \\
 &= \frac{10,4874}{48,4} \\
 &= 0,216682
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{\Sigma y - a \cdot \Sigma x}{n} = \frac{(2,482) - 0,216682 (11)}{11} \\
 &= \frac{0,0985}{11} \\
 &= 0,008955
 \end{aligned}$$

Persamaan garis regresi : $Y = 0,216682 X + 0,008955$

Persamaan rumus kurva standar :

$$-\log T = A = \epsilon \cdot b \cdot C \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$y = mx + c \quad \dots\dots\dots(2)$$

Hubungan antara kedua persamaan tersebut adalah :

Jika diketahui b sebagai konstanta ketebalan cuvet maka ϵ sebagai gradien dengan intersep, c sehingga bila y adalah absorbansi maka x adalah konsentrasi.

Persamaan kurva standar : $Y = 0,216682X + 0,008955$

Dengan mengalikan beberapa faktor akhirnya diperoleh persamaan Aktivitas Enzim sebagai berikut :

$$X = \frac{Y - 0,008955}{0,216682} \times \frac{V_{total}}{V_{enzim}} \times \frac{V_{sampel}}{V_{analisa}} \times \frac{1000}{100} \times \frac{1}{BM}$$

keterangan :

X = Aktivitas enzim selulase ($\mu\text{mol/mL}$)

Y = Absorbansi

V_{total} = Volume campuran antara enzim dengan substrat (5 mL)

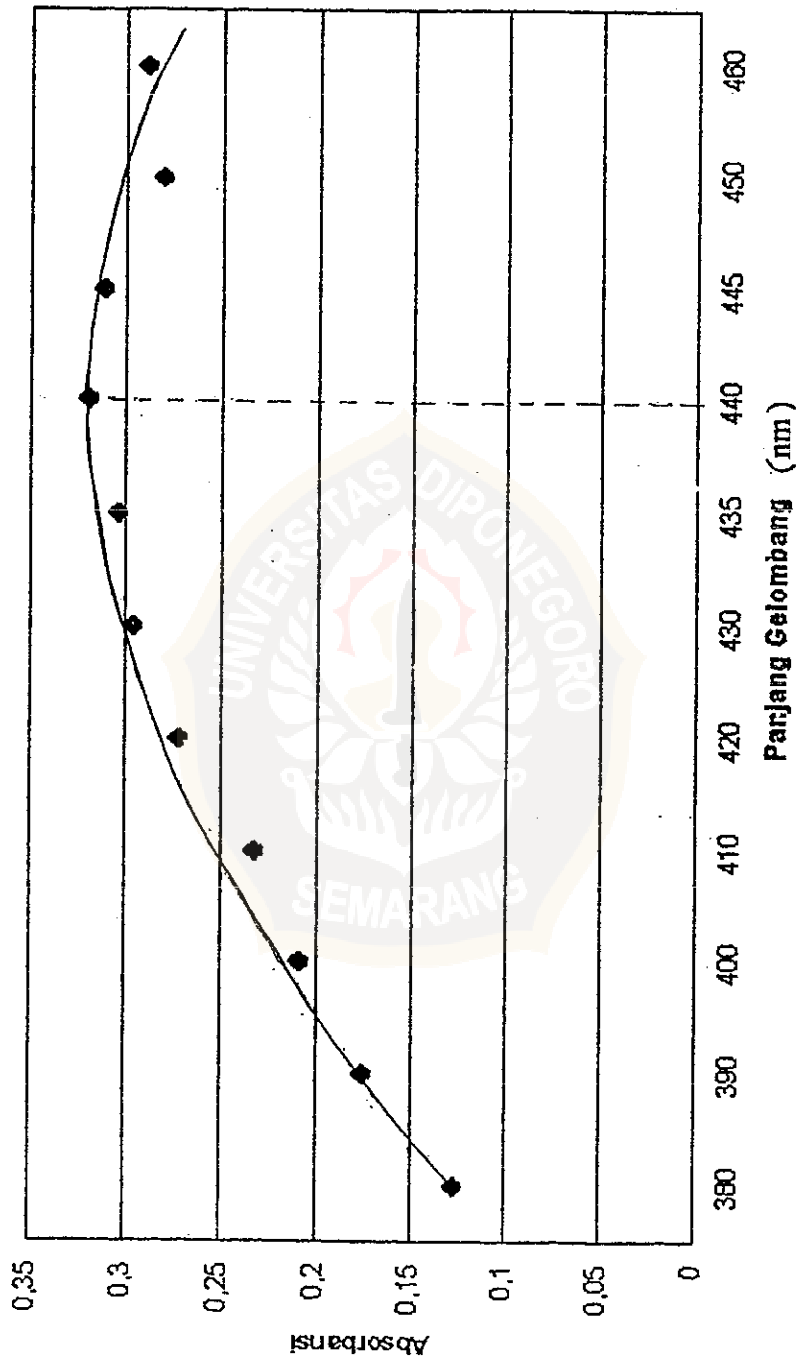
V_{enzim} = Volume enzim (0,1 mL)

V_{sampel} = Volume sampel keseluruhan (5 mL)

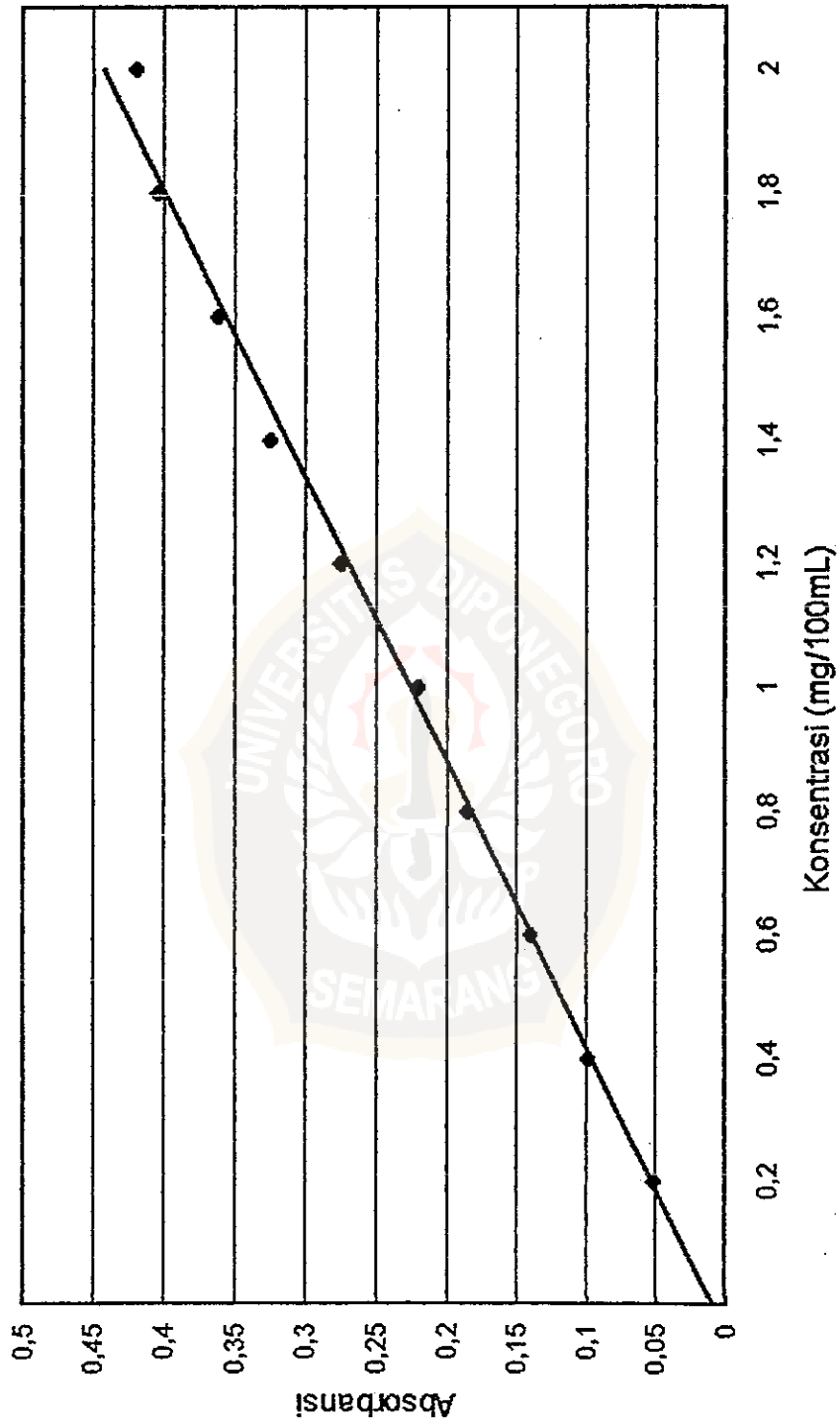
$V_{analisa}$ = Volume sampel yang dianalisa (0,5 mL)

BM = Berat molekul glukosa (180)

Grafik 1. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Glukosa



Grafik 3. Penentuan Kurva Standar Larutan Glukosa



Tabel 4. Hasil penentuan λ (Panjang gelombang) Optimum Larutan Standar BSA

No	Panjang gelombang (λ)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	A4	
1.	600 nm	0,232	0,232	0,232	0,233	0,232
2.	610 nm	0,244	0,244	0,244	0,244	0,244
3.	620 nm	0,260	0,261	0,261	0,209	0,209
4.	630 nm	0,277	0,278	0,278	0,278	0,278
5.	640 nm	0,297	0,297	0,298	0,298	0,298
6.	650 nm	0,269	0,269	0,269	0,269	0,269
7.	660 nm	0,253	0,253	0,253	0,253	0,253
8.	670 nm	0,257	0,257	0,258	0,258	0,258
9.	680 nm	0,245	0,245	0,245	0,245	0,245
10.	690 nm	0,256	0,256	0,256	0,256	0,256
11.	700 nm	0,248	0,248	0,248	0,248	0,248

Tabel 5. Hasil penentuan Kurva Standar larutan BSA

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	A4	
1.	0	0	0	0	0	0
2.	90	0,042	0,042	0,042	0,042	0,042
3.	180	0,069	0,069	0,069	0,069	0,069
4.	270	0,090	0,090	0,090	0,090	0,090
5.	360	0,117	0,117	0,117	0,117	0,117
6.	450	0,135	0,135	0,135	0,135	0,135
7.	540	0,156	0,156	0,156	0,156	0,156
8.	630	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
9.	720	0,225	0,225	0,225	0,225	0,225
10.	810	0,246	0,246	0,24	0,24	0,246
11.	900	0,309	0,309	0,309	0,309	0,309

Tabel 6. Hasil penentuan Rumus Kurva Standar BSA pada λ : 640 nm.

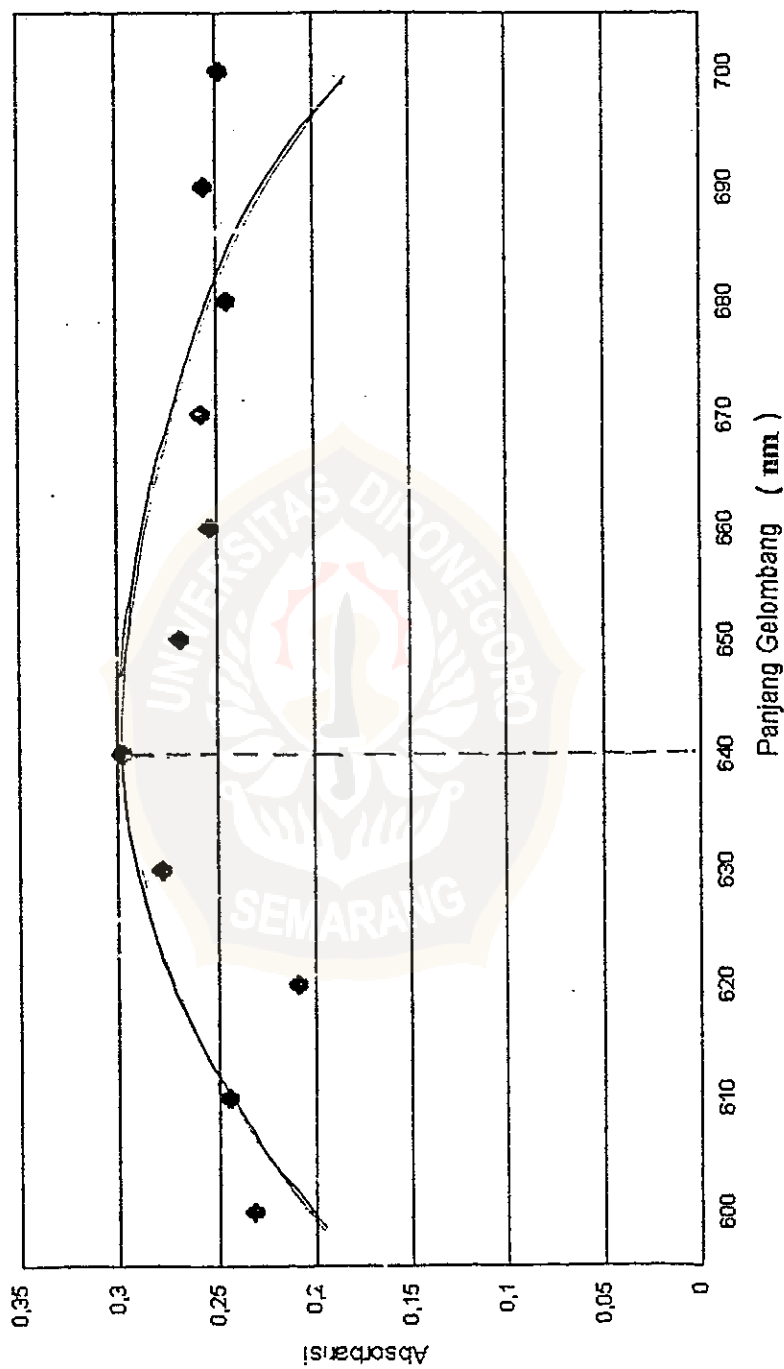
No	Konsentrasi (Xi)	Absorbansi (Yi)	Xi . Yi	(Xi) ²
1	0	0	0	0
2	0,090	0,042	0,00378	0,0081
3	0,180	0,069	0,01242	0,0324
4	0,270	0,090	0,02430	0,0729
5	0,360	0,117	0,04212	0,1296
6	0,450	0,135	0,06075	0,2025
7	0,540	0,156	0,08424	0,2916
8	0,630	0,180	0,11340	0,3969
9	0,720	0,225	0,16200	0,5184
10	0,810	0,246	0,19926	0,6561
11	0,900	0,309	0,27810	0,8100
	$\Sigma x = 4,950$	$\Sigma y = 1,569$	$\Sigma xy = 0,98037$	$\Sigma x^2 = 3,1185$

$$\begin{aligned}
 a &= \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2} = \frac{11 \cdot (0,98037) - (4,950) \cdot (1,569)}{11 \cdot (3,1185) - (4,950)^2} \\
 &= \frac{3,01752}{9,801} \\
 &= 0,307879
 \end{aligned}$$

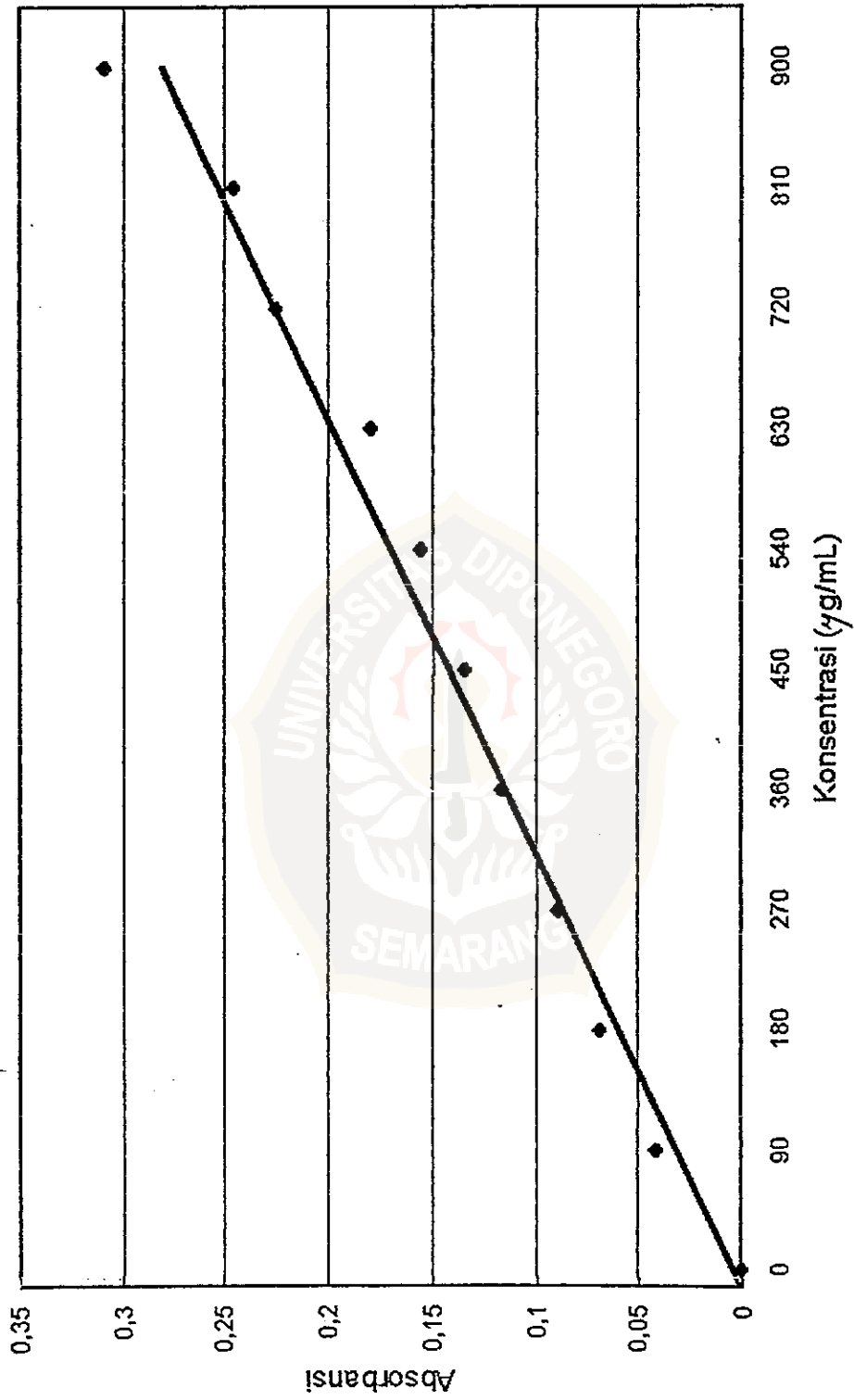
$$\begin{aligned}
 b &= \frac{\Sigma y - a \Sigma x}{n} = \frac{(1,569) - 0,307879 (4,950)}{11} \\
 &= \frac{0,0450005}{11} \\
 &= 0,004091
 \end{aligned}$$

Persamaan garis regresi : $Y = 0,307879 X + 0,004091$

Grafik 2. Penentuan Panjang gelombang Optimum Larutan Standar BSA



Grafik 4. Penentuan Kurva Standar Larutan BSA



Lampiran 2. Hasil Penentuan Aktivitas Enzim, Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Enzim Ekstrak Kasar

Tabel 7. Hasil penentuan Aktivitas Enzim Ekstrak Kasar pada substrat tertentu

No	Enzim	Substrat	Absorbansi			A rata-rata	Aktivitas Enzim (mg/100mL)	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)
			A1	A2	A3			
1.	Ek	Whatman	0,099	0,100	0,100	0,100	0,420	11,6716
2.	Ek	Selobiosa	0,365	0,365	0,365	0,365	1,643	45,6389
3.	Ek	CMC	0,490	0,489	0,490	0,490	2,220	61,6681

Tabel 8. Hasil penentuan kadar protein Ekstrak kasar

No	Enzim	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Kadar Protein (mg/mL)
		A1	A2	A3		
1.	Ek	0,420	0,420	0,420	0,420	1,3509

Tabel 9. Hasil penentuan Aktivitas spesifik Ekstrak kasar

No	Enzim	Substrat	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik ($\mu\text{mol/mg}$)
1.	Ek	Whatman	11,6716	1,3509	8,6399
2.	Ek	Selobiosa	45,6389	1,3509	33,7841
3.	Ek	CMC	61,6681	1,3509	45,6496

Lampiran 3. Hasil Penentuan Aktivitas Enzim, Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Enzim Hasil Isolasi

Tabel 10. Hasil penentuan Aktivitas Enzim hasil Isolasi

No	Enzim	Absorbansi			A rata-rata	Aktivitas Enzim (mg/100mL)	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)
		A1	A2	A3			
1.	Ekstrak kasar	0,490	0,489	0,490	0,490	2,2201	61,6681
2.	F1 (0 - 10%)	0,434	0,434	0,434	0,434	1,9616	54,4891
3.	F2 (10 - 20%)	0,427	0,426	0,426	0,426	1,9247	53,4635
4.	F3 (20 - 40%)	0,319	0,319	0,319	0,319	1,4309	39,7465
5.	F4 (40 - 60%)	0,400	0,399	0,400	0,400	1,8047	50,1304
6.	F5 (60 - 80%)	0,801	0,801	0,801	0,801	3,6553	101,537
7.	F6 (80-100%)	0,722	0,721	0,721	0,721	3,2861	91,2810

$$\text{Aktivitas Enzim : } X = \frac{Y - 0,008955}{0,216682} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{enzim}}} \times \frac{V_{\text{sampel}}}{V_{\text{analisa}}} \times \frac{1000}{100} \times \frac{1}{BM} \quad (\mu\text{mol/mL})$$

Tabel 11. Penentuan Kadar Protein

No	Enzim	Absorbansi			A rata-rata	Protein (mg/mL)
		A1	A2	A3		
1.	Ekstrak kasar	0,419	0,419	0,420	0,419	1,3476
2.	F1 (0 - 10%)	0,247	0,247	0,247	0,247	0,7890
3.	F2 (10 - 20%)	0,238	0,237	0,238	0,238	0,7597
4.	F3 (20 - 40%)	0,524	0,524	0,523	0,524	1,6887
5.	F4 (40 - 60%)	0,329	0,329	0,329	0,329	1,0553
6.	F5 (60 - 80%)	0,321	0,322	0,322	0,322	1,0325
7.	F6 (80-100%)	0,367	0,367	0,366	0,367	1,1787

$$\text{Persamaan kadar protein : } X = \frac{Y - 0,004091}{0,307879}$$

Tabel 12. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim hasil Isolasi

No	Enzim	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik ($\mu\text{mol/mg}$)	Kemurnian
1.	Ekstrak kasar	61,681	1,3476	45,7614	1
2.	F1 (0 - 10%)	54,4891	0,7890	69,0610	1,5091
3.	F2 (10 - 20%)	53,4635	0,7597	70,3745	1,5379
4.	F3 (20 - 40%)	39,7465	1,6887	23,5367	0,5143
5.	F4 (40 - 60%)	50,1304	1,0553	47,5035	1,0381
6.	F5 (60 - 80%)	101,537	1,0325	98,3409	2,1490
7.	F6 (80-100%)	91,2810	1,1787	77,4421	1,6923

Lampiran 4. Hasil Penentuan pH Optimum

Tabel 13. Hasil penentuan pH optimum

No	pH	Absorbansi			A rata-rata	Aktivitas Enzim (mg/100mL)	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)
		A1	A2	A3			
1.	4,0	0,601	0,602	0,601	0,601	2,7323	75,8978
2.	4,2	0,572	0,572	0,572	0,572	2,5985	72,1801
3.	4,4	0,635	0,636	0,636	0,636	2,8938	80,3847
4.	4,6	0,529	0,528	0,529	0,529	2,4000	66,6677
5.	4,8	0,531	0,531	0,531	0,531	2,4093	66,9241
6.	5,0	0,570	0,569	0,570	0,570	2,5893	71,9238
7.	5,2	0,581	0,580	0,580	0,580	2,6354	73,2057
8.	5,4	0,697	0,697	0,697	0,697	3,1754	88,2047
9.	5,6	0,672	0,672	0,672	0,672	3,0600	84,9997
10.	5,8	0,628	0,629	0,629	0,629	2,8615	79,4873
11.	6,0	0,527	0,527	0,527	0,527	2,3908	66,4133

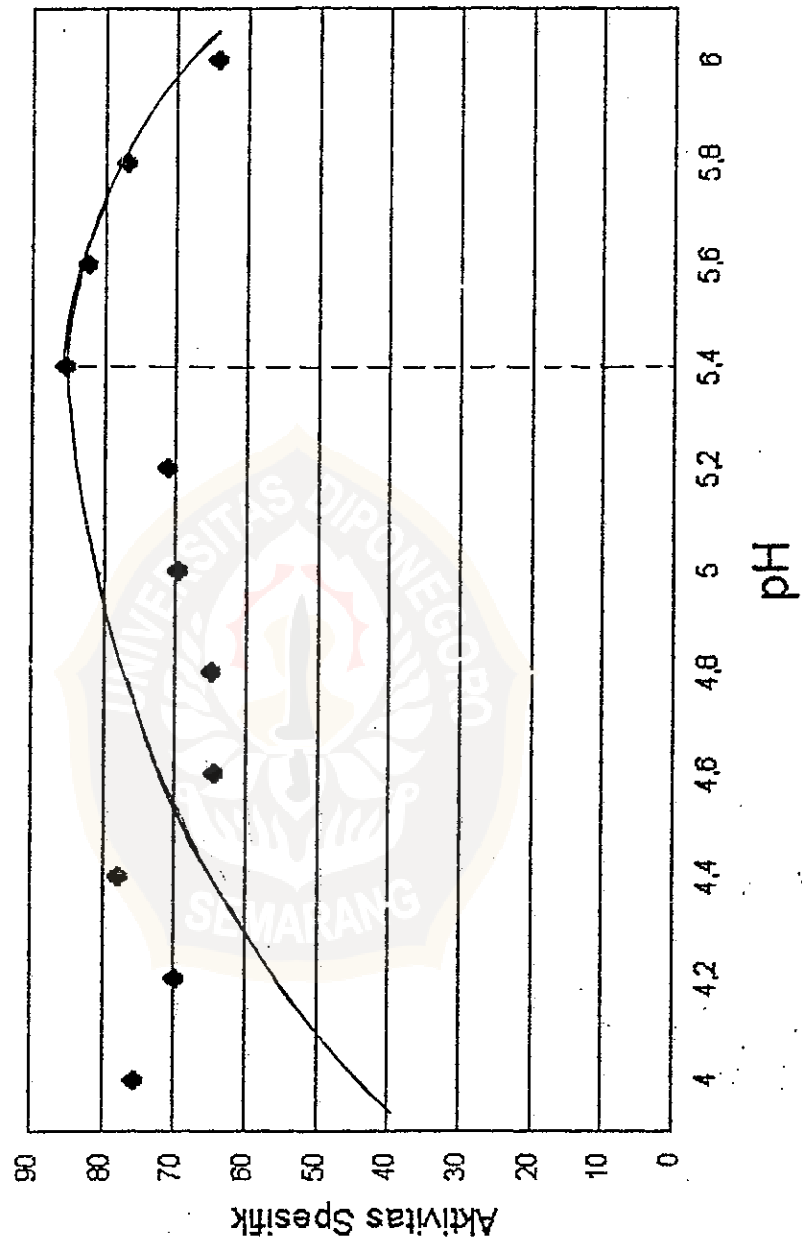
Tabel 14. Hasil penentuan kadar protein F5 (60 – 80%)

No	Enzim	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Kadar Protein (mg/mL)
		A1	A2	A3		
1.	F5 (60-80%)	0,322	0,322	0,322	0,322	1,03258

Tabel 15. Hasil penentuan pH optimum

No	pH	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik ($\mu\text{mol/mg}$)
1.	4,0	75,8978	1,03258	73,5016
2.	4,2	72,1801	1,03258	69,9013
3.	4,4	80,3847	1,03258	77,8469
4.	4,6	66,6677	1,03258	64,5629
5.	4,8	66,9241	1,03258	64,8112
6.	5,0	71,9238	1,03258	69,6531
7.	5,2	73,2057	1,03258	70,8945
8.	5,4	88,2047	1,03258	85,4200
9.	5,6	84,9997	1,03258	82,3162
10.	5,8	79,4873	1,03258	76,9778
11.	6,0	66,4133	1,03258	64,3166

Grafik 5. Penentuan pH Optimum



Lampiran 5. Hasil Penentuan Suhu Optimum

Tabel 16. Hasil penentuan Suhu optimum

No	T (° C)	Absorbansi			A rata-rata	Aktivitas Enzim (mg/100mL)	Aktivitas Enzim (µmol/mL)
		A1	A2	A3			
1.	30	0,554	0,554	0,554	0,554	2,4693	69,5907
2.	35	0,592	0,591	0,591	0,591	2,6862	74,6159
3.	40	0,718	0,718	0,719	0,718	3,2723	90,8968
4.	45	0,690	0,691	0,690	0,690	3,1431	87,3073
5.	50	0,573	0,573	0,573	0,573	2,6031	72,3083
6.	55	0,616	0,616	0,616	0,616	2,8015	77,8208
7.	60	0,687	0,687	0,686	0,687	3,1292	86,9227

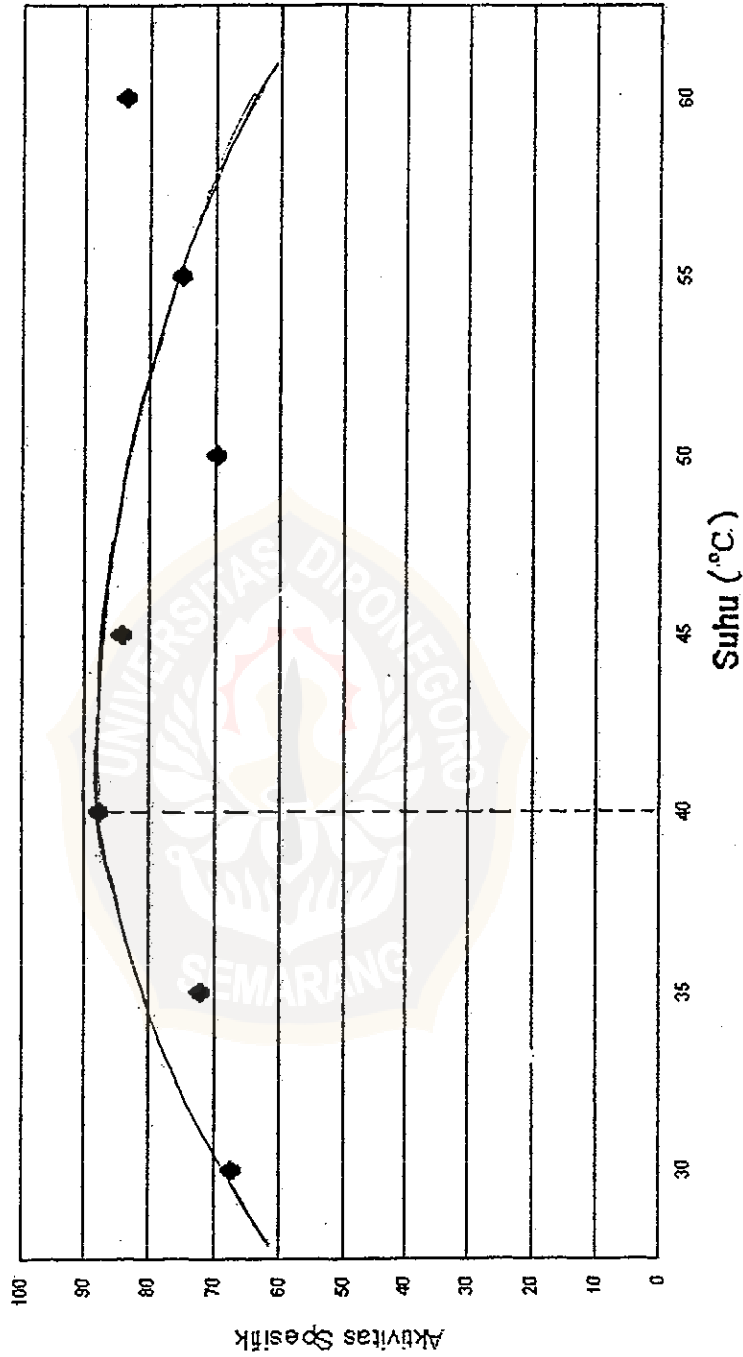
Tabel 17. Hasil penentuan kadar protein F5 (60 – 80%)

No	Enzim	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Kadar Protein (mg/mL)
		A1	A2	A3		
1.	F5 (60–80%)	0,323	0,324	0,324	0,3237	1,03810

Tabel 18. Hasil penentuan Suhu optimum

No	T (° C)	Aktivitas Enzim (µmol/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (µmol/mg)
1.	30	69,5907	1,03810	66,0733
2.	35	74,6159	1,03810	71,8774
3.	40	90,8968	1,03810	87,5607
4.	45	87,3073	1,03810	84,1030
5.	50	72,3083	1,03810	69,6544
6.	55	77,8208	1,03810	74,9646
7.	60	86,9227	1,03810	83,7325

Grafik 6. Penentuan Suhu Optimum



Lampiran 6. Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Tabel 19. Penentuan Waktu Inkubasi optimum

No	t menit	Absorbansi			A rata-rata	Aktivitas Enzim (mg/100mL)	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)
		A1	A2	A3			
1.	0	0,596	0,596	0,596	0,596	2,7092	75,2568
2.	15	0,593	0,593	0,593	0,59	2,6954	74,8722
3.	30	0,611	0,610	0,611	0,611	2,7785	77,1798
4.	45	0,630	0,629	0,629	0,629	2,8615	79,4873
5.	60	0,667	0,667	0,667	0,667	3,0368	84,3588
6.	75	0,649	0,649	0,648	0,649	2,9538	82,0512
7.	90	0,625	0,625	0,625	0,625	2,8431	78,9745
8.	105	0,602	0,601	0,601	0,601	2,7323	75,8978
9.	120	0,572	0,572	0,572	0,572	2,5985	72,1801

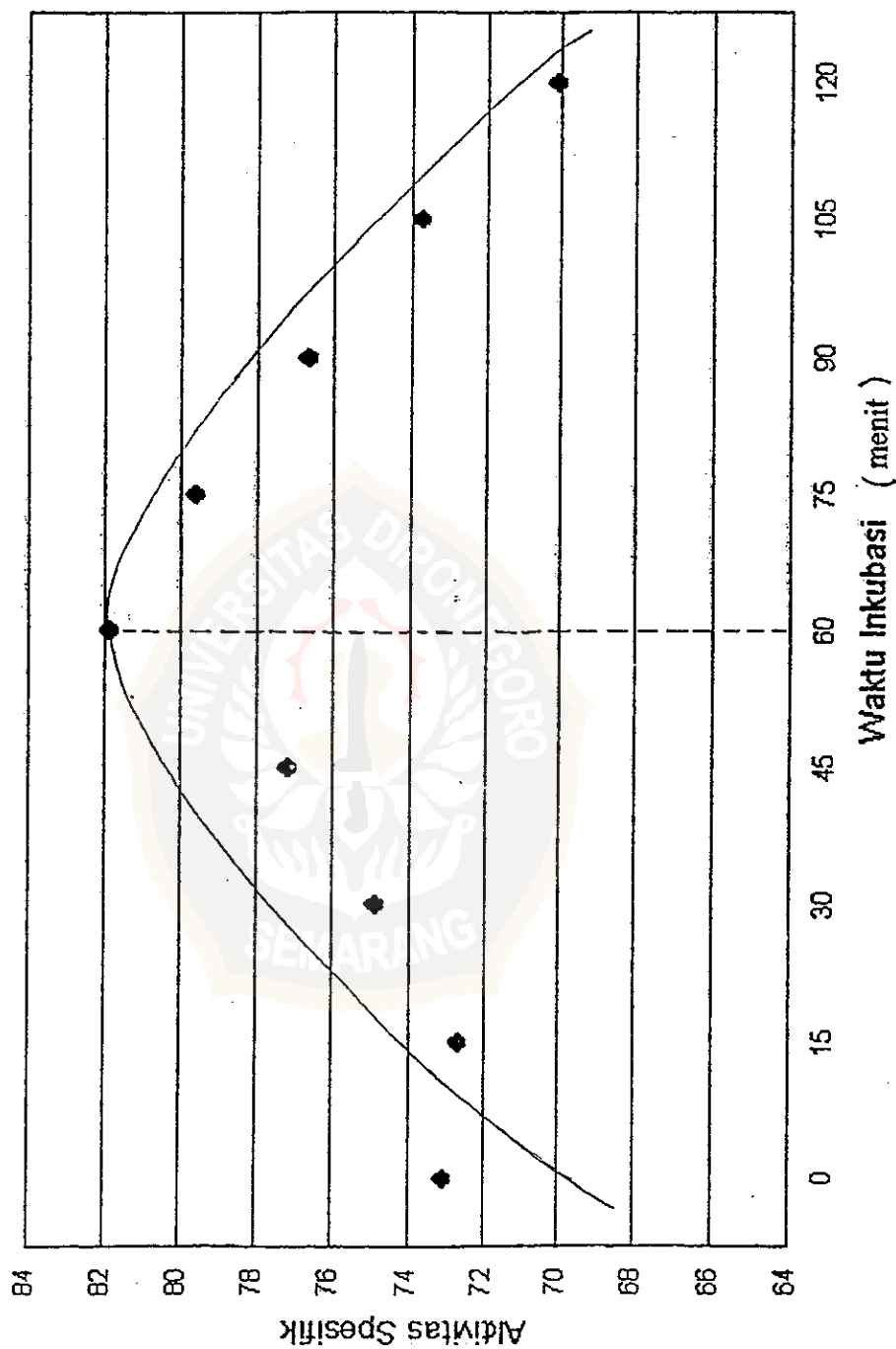
Tabel 14. Hasil penentuan kadar protein

No	Enzim	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Kadar Protein (mg/mL)
		A1	A2	A3		
1.	F5 (60–80%)	0,321	0,321	0,322	0,3213	1,03030

Tabel 15. Hasil penentuan Waktu Inkubasi optimum

No	t (menit)	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL}$)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik ($\mu\text{mol/mg}$)
1.	0	75,2568	1,03030	73,0436
2.	15	74,8722	1,03030	72,6703
3.	30	77,1798	1,03030	74,9100
4.	45	79,4873	1,03030	77,1497
5.	60	84,3588	1,03030	81,8779
6.	75	82,0512	1,03030	79,6382
7.	90	78,9745	1,03030	76,6519
8.	105	75,8978	1,03030	73,6657
9.	120	72,1801	1,03030	70,0574

Grafik 7. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum



Lampiran 7. Hasil Penentuan Hidrolisa Substrat Selulosa dari Serbuk Gergajian Kayu

Tabel 16. Hasil Penentuan hidrolisa selulosa dari serbuk gergajian kayu

No	Serbuk gergajian kayu	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Kadar Glukosa (mg/100 mL)	Kadar Glukosa (mg/mL)
		A1	A2	A3			
1.	0,05 gram	0,166	0,166	0,166	0,166	1811,93	18,1193

Persamaan rumus kurva stanadr glukosa : $Y = 0,216682X + 0,008955$

Dengan pengalihan faktor-gfaktor lain, maka kadar glukosa yang terbentuk sebagai

berikut :

$$X = \frac{Y - 0,008955}{0,216682} \times \frac{V_{total}}{V_{enzim}} \times \frac{V_{sampel}}{V_{analisa}}$$

keterangan : X = Kadar glukosa (mg/100mL)
 Y = Absorbansi
 V_{total} = Volume total antar enzim dan substrat (5 mL)
 V_{enzim} = Volume enzim yang direaksikan dengan substrat (0,1 mL)
 V_{sampel} = Volume sampel keseluruhan (5 mL)
 $V_{analisa}$ = Volume sampel yang dianalisa (0,1 mL)

Sehingga glukosa yang terbentuk dari hidrolisa selulosa serbuk gergajian kayu :

$$\begin{aligned} X &= \frac{0,166 - 0,008955}{0,216682} \times \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} \times \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} \\ &= 1811,93 \text{ mg/100 mL} \\ &= 18,1193 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Jadi hidrolisa serbuk gergajian kayu sebesar :

18,1193 mg glukosa yang terbentuk tiap 50 mg sampel serbuk.

Lampiran 9. Hasil Perbandingan Larutan CH_3COOH dan CH_3COONa dalam Pembuatan Buffer Asetat 0,05 M

Larutan A : Sebanyak 2,9 mL CH_3COOH dilarutkan dengan aquadest hingga 1000 mL
(0,005 M)

Larutan B : Sebanyak 6,8 gram $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan aquadest hingga
1000 mL (0,005 M)

X mL larutan A + Y mL larutan B, diencerkan sampai 100mL sesuai dengan perbandingan tabel pembuatan buffer asetat :

X	Y	pH	X	Y	pH
46,3	3,7	3,8	20,0	30,0	5,0
44,0	6,0	4,0	14,8	35,2	5,2
41,0	9,0	4,2	10,5	39,5	5,4
36,8	13,2	4,4	8,8	41,2	5,6
30,5	19,5	4,6	4,8	45,2	5,8
25,5	24,5	4,8	2,5	47,5	6,0

Lampiran 9. Komposisi penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ pada fraksinasi dalam setiap 1000 ml aquadest

$S_1\% \backslash S_2\%$	5	10	15	20	25	30	35	40	45
0	27	55	84	113	144	176	208	242	277
5		27	56	85	115	146	179	212	246
10			28	57	86	117	149	182	216
15				28	58	88	119	151	185
20					29	59	89	121	154
25						29	60	91	123
30							30	61	92
35								30	62
40									31
45									
50									

$S_1\%$	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
0	314	351	390	430	472	516	561	608	657	708	761
5	282	319	357	397	439	481	526	572	621	671	723
10	251	287	325	364	405	447	491	537	584	634	685
15	219	255	292	331	371	413	456	501	548	596	647
20	188	223	260	298	337	378	421	465	511	559	609
25	157	191	227	265	304	344	386	429	475	522	571
30	126	160	195	232	270	309	351	393	438	485	533
35	94	128	163	199	236	275	316	358	402	447	495
40	63	96	130	166	202	241	281	322	365	410	457
45	31	64	97	132	169	206	245	286	329	373	419
50		32	65	99	135	172	210	250	292	335	381
55			33	66	101	138	175	215	256	298	343
60				33	67	103	140	179	219	261	305
65					34	69	105	143	183	224	266
70						34	70	107	146	186	228
75							35	72	110	149	190
80								36	73	112	152
85									37	75	114
90										37	76
95											38