

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil penentuan λ optimum, kurva standar, dan rumus kurva standar kasein

Tabel 1. Hasil Penentuan λ Optimum Larutan Standar Kasein

No	Panjang gelombang (λ)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	A4	
1	600	0,068	0,068	0,068	0,069	0,068
2	610	0,074	0,074	0,074	0,074	0,074
3	620	0,090	0,091	0,091	0,091	0,091
4	630	0,102	0,102	0,102	0,102	0,102
5	640	0,105	0,105	0,105	0,105	0,105
6	650	0,120	0,121	0,121	0,121	0,121
7	660	0,142	0,142	0,142	0,142	0,142
8	670	0,144	0,144	0,144	0,144	0,144
9	680	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150
10	690	0,158	0,158	0,158	0,158	0,158
11	700	0,170	0,170	0,170	0,170	0,170
12	710	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174
13	720	0,177	0,178	0,178	0,178	0,178
14	730	0,184	0,184	0,184	0,184	0,184
15	740	0,172	0,171	0,171	0,171	0,171
16	750	0,160	0,161	0,161	0,161	0,161
17	760	0,165	0,165	0,165	0,165	0,165
18	770	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
19	780	0,152	0,151	0,152	0,152	0,152
20	790	0,140	0,140	0,141	0,141	0,140
21	800	0,133	0,133	0,133	0,133	0,133

Tabel 2.. Hasil Penentuan Kurva Standar Kasein pada $\lambda = 730 \text{ nm}$

No	Konsentrasi ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	A4	
1	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	30	0,028	0,028	0,028	0,028	0,028
3	60	0,063	0,063	0,063	0,063	0,063
4	90	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098
5	120	0,135	0,135	0,135	0,135	0,135
6	150	0,183	0,183	0,183	0,183	0,183
7	180	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195
8	210	0,217	0,217	0,217	0,217	0,217
9	240	0,233	0,233	0,233	0,233	0,233
10	270	0,289	0,289	0,289	0,289	0,289
11	300	0,299	0,299	0,299	0,299	0,299

Tabel 3. Hasil Penentuan Rumus Kurva Standar Kasein pada $\lambda = 730 \text{ nm}$

No	X_i	Y_i	$(X_i)(Y_i)$	$(X_i)^2$
1	0,000	0,000	0,00000	0,0000
2	0,030	0,028	0,00084	0,0009
3	0,060	0,063	0,00378	0,0036
4	0,090	0,098	0,00882	0,0081
5	0,120	0,135	0,01620	0,0144
6	0,150	0,183	0,02745	0,0225
7	0,180	0,195	0,03510	0,0324
8	0,210	0,217	0,14557	0,0441
9	0,240	0,233	0,05592	0,0576
10	0,270	0,289	0,07803	0,0729
11	0,300	0,299	0,08970	0,0900
$\Sigma X_i = 1,650$		$\Sigma Y_i = 1,740$	$\Sigma (X_i)(Y_i) = 0,36141$	$\Sigma (X_i)^2 = 0,3465$

di mana X_i = Konsentrasi Kasein ($\mu\text{g} / \text{mL}$)

Y_i = Absorbansi rata-rata dari A1, A2, A3, dan A4

Perhitungan:

Persamaan garis lurusnya adalah $Y = ax + b$

$$a = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$a = \frac{11(0,36141) - (1,650)(1,740)}{11(0,3645) - (1,650)^2}$$

$$a = \frac{3,97551 - 2,871}{3,8115 - 2,7225}$$

$$a = 1,014242$$

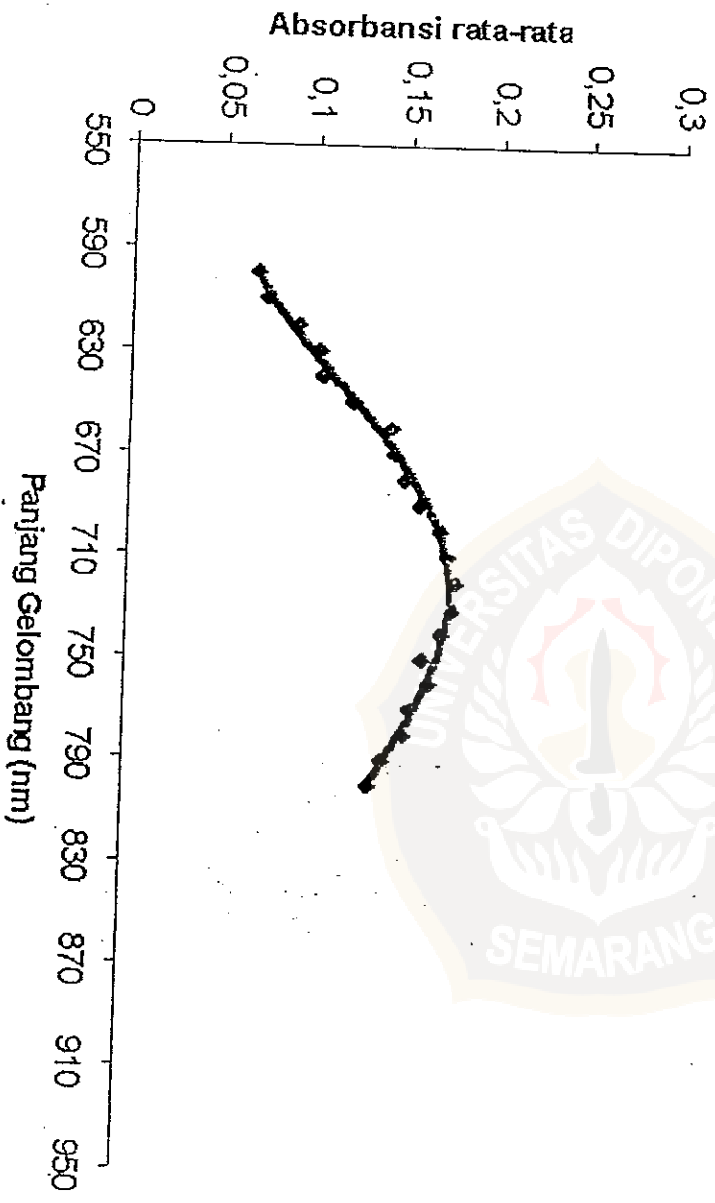
$$b = \frac{\sum y - a \sum x}{n}$$

$$b = \frac{1,740 - 1,014242(1,650)}{11}$$

$$b = 0,006045$$

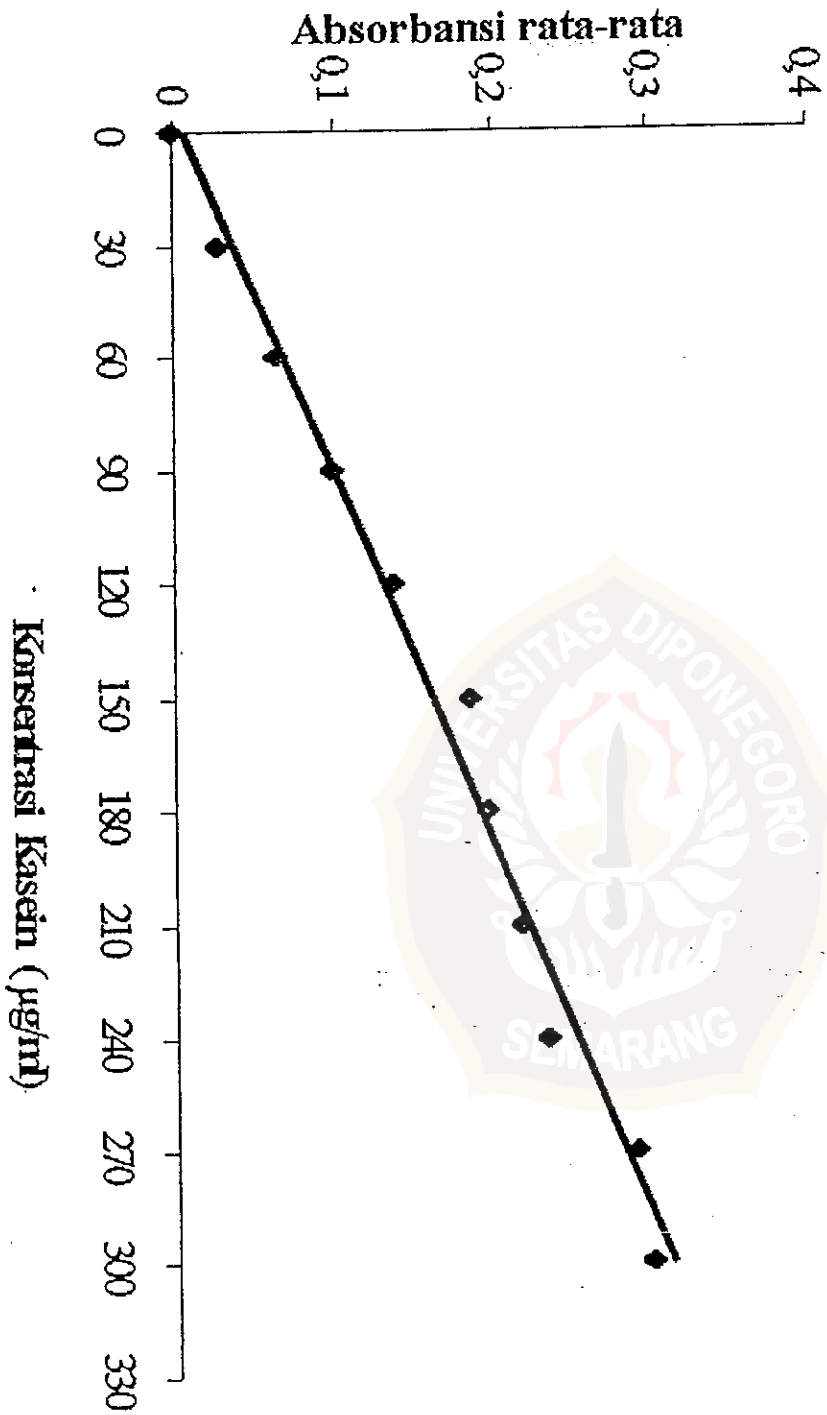
Sehingga $Y = 1,014242 x + 0,006045$





Grafik 1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Kasein





Grafik 2. Hasil Penentuan Kurva Standar Kasein

Lampiran 2. Hasil penentuan pH optimum

Tabel 1. Hasil penentuan unit aktivitas enzim fraksi 2 pada berbagai variasi pH

No	pH	Absorbansi				Absorbansi rata - rata	Unit aktivitas (U / mL)
		A1	A2	A3	A4		
1	4,8	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	1,6111
2	5,0	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,8333
3	5,2	0,116	0,116	0,116	0,116	0,116	3,2222
4	5,4	0,408	0,408	0,408	0,408	0,408	11,3333
5	5,5	0,511	0,511	0,511	0,511	0,511	14,1944
6	5,6	0,554	0,554	0,554	0,554	0,554	15,3888
7	5,7	0,528	0,527	0,527	0,527	0,527	14,6458
8	5,8	0,454	0,454	0,454	0,454	0,454	12,6111
9	6,0	0,281	0,281	0,281	0,281	0,281	7,8055

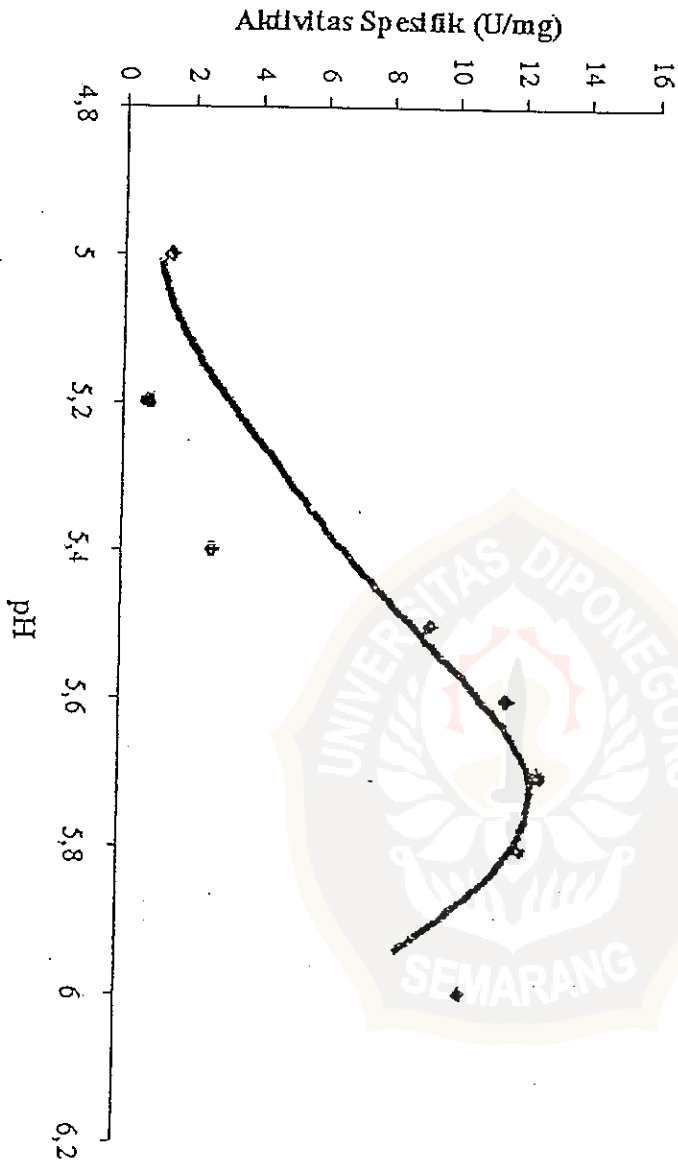
Tabel 2. Penentuan kadar protein fraksi 2

No.	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Kadar protein (mg/mL)
	A1	A2	A3	A4		
1.	0,130	0,130	0,130	0,130	0,130	1,22214

Tabel 3. Aktivitas spesifik enzim fraksi 2 pada berbagai variasi pH

No	pH	Unit aktivitas (U / mL)	Kadar protein (mg / mL)	Aktivitas spesifik (U / mg protein)
1	4,8	1,6111	1,22214	1,31826
2	5,0	0,8333	1,22214	0,68183
3	5,2	3,2222	1,22214	2,63652
4	5,4	11,3333	1,22214	9,27332
5	5,5	14,1944	1,22214	11,61438
6	5,6	15,3888	1,22214	12,59168
7	5,7	14,6458	1,22214	11,98376
8	5,8	12,6111	1,22214	10,31886
9	6,0	7,8055	1,22214	6,38675





Grafik 1. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai pH

lampiran 3. Hasil Penentuan suhu optimum

Tabel 1. Hasil penentuan unit aktivitas enzim fraksi 2 pada berbagai variasi suhu

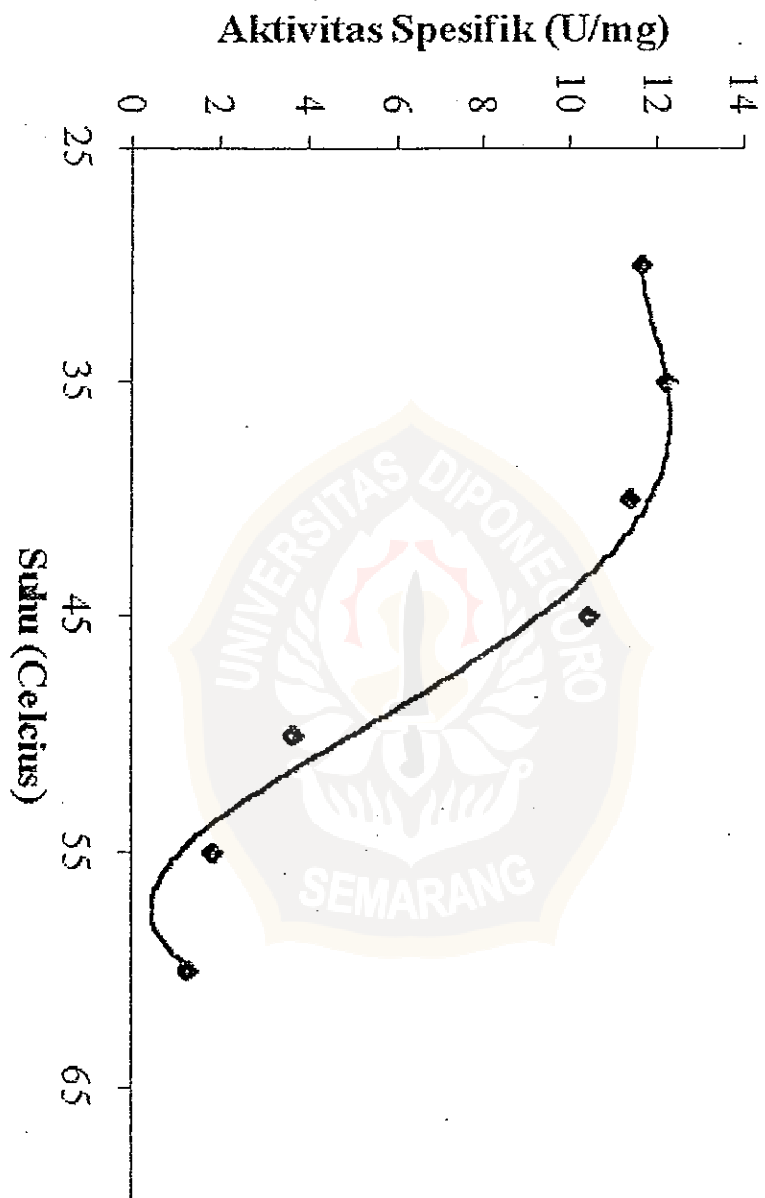
No.	Suhu (°C)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Unit aktivitas (U/mL)
		A1	A2	A3	A4		
1.	30	0,511	0,511	0,511	0,511	0,511	14,19444
2.	35	0,536	0,536	0,536	0,536	0,536	14,88888
3.	40	0,499	0,499	0,499	0,499	0,499	13,86111
4.	45	0,457	0,457	0,457	0,457	0,457	12,09444
5.	50	0,161	0,160	0,160	0,160	0,160	4,45138
6.	55	0,081	0,081	0,081	0,080	0,080	2,24305
7.	60	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057	1,58333

Tabel 2. Penentuan kadar protein fraksi 2

No.	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Kadar protein (mg/mL)
	A1	A2	A3	A4		
1.	0,130	0,130	0,130	0,129	0,130	1,22214

Tabel 3. Aktivitas spesifik enzim fraksi 2 pada berbagai variasi suhu

No	suhu (°C)	Unit aktivitas (U / mL)	Kadar protein (mg / mL)	Aktivitas spesifik (U / mg protein)
1	30	14,1944	1,22214	11,63784
2	35	14,8888	1,22214	12,20720
3	40	13,8611	1,22214	11,36455
4	45	12,6944	1,22214	10,40801
5	50	4,4514	1,22214	3,64963
6	55	2,2430	1,22214	1,83905
7	60	1,5833	1,22214	1,29815



Grafik 1. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai suhu

Lampiran 4. Hasil Penentuan Waktu inkubasi optimum

Tabel 1. Hasil penentuan unit aktivitas enzim fraksi 2 pada berbagai variasi waktu

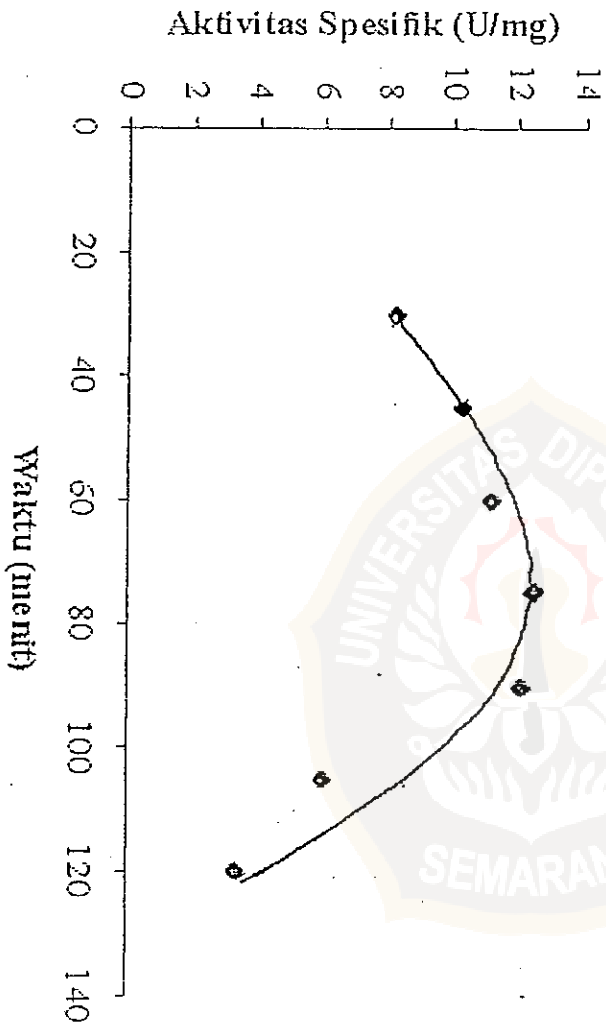
No.	Waktu (menit)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Unit aktivitas (U/mL)
		A1	A2	A3	A4		
1.	30	0,359	0,359	0,359	0,359	0,359	9,97222
2.	45	0,449	0,449	0,449	0,449	0,449	12,47222
3.	60	0,487	0,487	0,487	0,487	0,487	13,52778
4.	75	0,542	0,542	0,542	0,542	0,542	15,05555
5.	90	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528	14,66667
6.	105	0,262	0,261	0,261	0,261	0,261	7,25694
7.	120	0,144	0,144	0,144	0,144	0,144	4,00000

Tabel 2. Penentuan kadar protein fraksi 2

No.	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Kadar protein (mg/mL)
	A1	A2	A3	A4		
1.	0,129	0,129	0,129	0,129	0,129	1,21228

Tabel 3. Aktivitas spesifik enzim fraksi 2 pada berbagai variasi waktu

No	Waktu (menit)	Unit aktivitas (U / mL)	Kadar protein (mg / mL)	Aktivitas spesifik (U / mg protein)
1	30	9,9722	1,21228	8,22600
2	45	12,4722	1,21228	10,28822
3	60	13,5277	1,21228	11,15889
4	75	15,0555	1,21228	12,41916
5	90	14,6667	1,21228	12,09844
6	105	7,2569	1,21228	5,98619
7	120	4,0000	1,21228	3,29957



Grafik 1. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai waktu

Lampiran 5. Hasil penentuan konsentrasi aktivator CaCl_2 optimum

Tabel 1. Hasil penentuan unit aktivitas enzim fraksi 2 pada berbagai variasi konsentrasi CaCl_2

No.	Konsentrasi (mM)	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Aktivitas unit (U/mL)
		A1	A2	A3	A4		
1.	0	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,47222
2.	20	0,141	0,141	0,141	0,141	0,141	3,91667
3.	40	0,436	0,436	0,436	0,436	0,436	12,11111
4.	60	0,553	0,552	0,552	0,552	0,552	15,34028
5.	80	0,548	0,548	0,548	0,548	0,548	15,22222
6.	100	0,539	0,539	0,539	0,539	0,539	14,97222
7.	120	0,472	0,471	0,471	0,471	0,471	13,09027
8.	140	0,243	0,243	0,243	0,243	0,243	6,75000
9.	160	0,237	0,237	0,237	0,237	0,237	6,58333

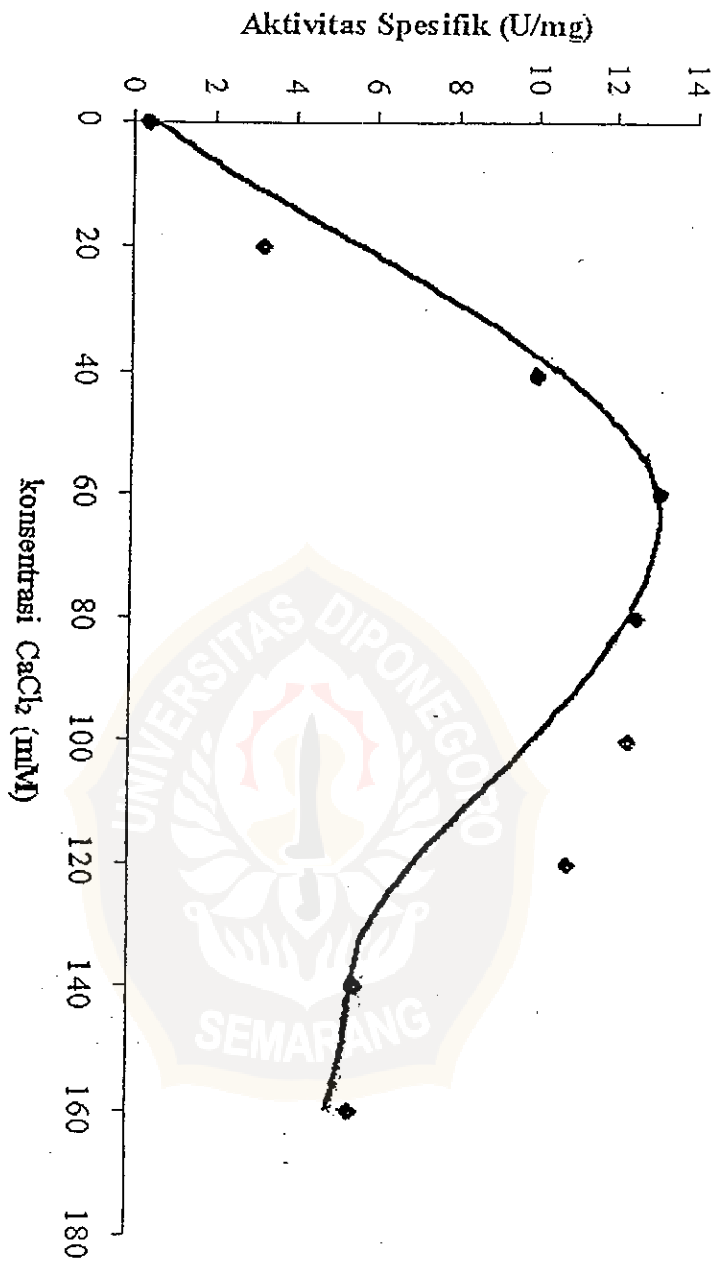
Tabel 2. Penentuan kadar protein fraksi 2

No.	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Kadar protein (mg/mL)
	A1	A2	A3	A4		
1.	0,129	0,129	0,129	0,129	0,129	1,21228

Tabel 3. Aktivitas spesifik enzim fraksi 2 pada berbagai variasi konsentrasi CaCl_2

No	Konsentrasi (mM)	Unit aktivitas (U / mL)	Kadar protein (mg / mL)	Aktivitas spesifik (U / mg protein)
1	0	0,4722	1,21228	0,38953
2	20	3,9167	1,21228	3,23083
3	40	12,1111	1,21228	9,99036
4	60	15,3403	1,21228	12,65407
5	80	15,2222	1,21228	12,55667
6	100	14,9722	1,21228	12,35046
7	120	13,0903	1,21228	10,79806
8	140	6,7500	1,21228	5,56802
9	160	6,5833	1,21228	5,43054





Grafik 1. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai konsentrasi aktivator

Lampiran 6. Hasil penentuan aktivitas spesifik enzim berbagai fraksi pada kondisi optimum (pH 5,6, suhu 35 °C, waktu 75 menit, dan konsentrasi CaCl₂ 0,8 M)

Tabel 1. Hasil penentuan unit aktivitas enzim berbagai fraksi pada kondisi optimum

No.	fraksi	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Unit aktivitas (U/mL)
		A1	A2	A3	A4		
1.	EK	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	1,0277
2.	F1	0,119	0,119	0,119	0,119	0,119	3,3055
3.	F2	0,552	0,552	0,552	0,552	0,552	15,3333
4.	F3	0,209	0,209	0,209	0,208	0,209	5,7986
5.	F4	0,064	0,063	0,063	0,063	0,063	1,7569
6.	F5	0,061	0,061	0,061	0,061	0,061	1,6944

Tabel 2. Hasil penentuan kadar protein enzim berbagai fraksi

No.	fraksi	Absorbansi				Absorbansi rata-rata	Kadar protein (mg / mL)
		A1	A2	A3	A4		
1.	EK	0,218	0,218	0,218	0,217	0,218	2,08732
2.	F1	0,322	0,322	0,322	0,322	0,322	3,11518
3.	F2	0,129	0,129	0,129	0,129	0,129	1,21228
4.	F3	0,157	0,157	0,157	0,157	0,157	4,36111
5.	F4	0,059	0,059	0,059	0,059	0,059	1,63888
6.	F5	0,099	0,099	0,099	0,099	0,099	2,75000

Tabel 3. Aktivitas spesifik enzim berbagai fraksi pada kondisi optimum

No	fraksi	unit aktivitas (U/ mL)	kadar protein (mg/ mL)	aktivitas spesifik (U/ mg protein)	Kemurnian
1	EK	1,0277	2,08732	0,49239	1,000
2	F1	3,3055	3,11518	1,06111	2,155
3	F2	15,3333	1,21228	12,64831	25,688
4	F3	5,7986	4,36111	1,32962	2,700
5	F4	1,7569	1,63888	1,07204	1,072
6	F5	1,6944	2,75000	0,61616	0,616

Rumus untuk penentuan aktivitas enzim adalah sebagai berikut:

$$\frac{U}{mL} = \frac{A}{t} \times \frac{1}{\epsilon b} \times \frac{V_{total}}{v_{enzim}} \times \frac{V_{produk\ total}}{v_{produk\ analisa}} (U/mL)$$

di mana: ϵ = koefisien ekstingsi molar produk pada $\lambda = 365$ nm adalah

$$2,7 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$$

b = tebal kuvet (1 cm)

A= absorbansi

t = waktu inkubasi (menit)

V_{total} = Volume substrat dan enzim (5 mL)

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

$v_{produk\ analisa}$ = volume produk yang dianalisa (1 mL)

$V_{produk\ total}$ = volume produk total (1,5 mL)

Sedangkan rumus penentuan kadar protein enzim adalah sebagai berikut:

$$Y = 0,014242 X + 0,006045$$

Di mana X = konsentrasi protein enzim (mg / mL)

Y = Absorbansi sampel

LAMPIRAN 7. Perbandingan X dan Y dalam Pembuatan pH Buffer Asetat

0,05 M.

Larutan A : 0,05 M larutan asam asetat (2,9 mL CH_3COOH dilarutkan dengan aquades hingga 1000 mL)

Larutan B : 0,05 M larutan Na-asetat (6,8 gram $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan aquades hingga 1000 mL)

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

<u>X</u>	<u>Y</u>	<u>pH</u>	<u>X</u>	<u>Y</u>	<u>pH</u>
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 8. Komposisi Penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ pada Fraksinasi dalam
setiap 1000 mL aquadest.

$S_1\%$ \ $S_2\%$	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