

Lampiran 1. Hasil penentuan  $\lambda$  optimum, kurva standar, rumus kurva standar untuk Kasein dan Tirosin, dan rumus penentuan kadar Kasein dan Tirosin.

Tabel 1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar Kasein

$\lambda$ (nm)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
	A1	A2	A3	
600	0,068	0,068	0,068	0,06800
610	0,074	0,074	0,074	0,07400
620	0,090	0,090	0,091	0,09033
630	0,102	0,102	0,102	0,10200
640	0,105	0,105	0,105	0,10500
650	0,120	0,121	0,121	0,12067
660	0,142	0,142	0,142	0,14200
670	0,144	0,144	0,144	0,14400
680	0,150	0,150	0,150	0,15000
690	0,158	0,158	0,157	0,15767
700	0,170	0,170	0,170	0,17000
710	0,174	0,174	0,174	0,17400
720	0,177	0,178	0,178	0,17767
730	0,184	0,184	0,184	0,18400
740	0,172	0,171	0,172	0,17167
750	0,160	0,161	0,161	0,16067
760	0,165	0,165	0,165	0,16500
770	0,155	0,155	0,155	0,15500
780	0,152	0,151	0,152	0,15167
790	0,140	0,140	0,141	0,14033
800	0,133	0,133	0,133	0,13300

Tabel 2. Hasil penentuan kurva standar Kasein pada  $\lambda=730$  nm

No.	Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	
1.	0	0	0	0	0
2.	0,03	0,028	0,028	0,028	0,02800
3.	0,06	0,063	0,063	0,063	0,06300
4.	0,09	0,098	0,098	0,098	0,09800
5.	0,12	0,135	0,135	0,135	0,13500
6.	0,15	0,183	0,183	0,183	0,18300
7.	0,18	0,195	0,195	0,195	0,19500
8.	0,21	0,217	0,217	0,217	0,21700
9.	0,24	0,233	0,233	0,233	0,23300
10.	0,27	0,289	0,289	0,289	0,28900
11.	0,30	0,299	0,299	0,299	0,29900

Tabel 3. Hasil penentuan rumus kurva standar Kasein pada  $\lambda = 730$  nm.

No.	$X_i$	$Y_i$	$(X_i)(Y_i)$	$(X_i)^2$
1.	0	0	0	0
2.	0,03	0,02800	0,00084	0,0009
3.	0,06	0,06300	0,00378	0,0036
4.	0,09	0,09800	0,00882	0,0081
5.	0,12	0,13500	0,01620	0,0144
6.	0,15	0,18300	0,02745	0,0225
7.	0,18	0,19500	0,03510	0,0324
8.	0,21	0,21700	0,04557	0,0441
9.	0,24	0,23300	0,05592	0,0576
10.	0,27	0,28900	0,07803	0,0729
11.	0,30	0,29900	0,08970	0,0900
	$\Sigma X_i = 1,65$	$\Sigma Y_i = 1,74000$	$\Sigma (X_i)(Y_i) = 0,36141$	$\Sigma (X_i)^2 = 0,3465$

Dimana :  $X_i$  = Konsentrasi Kasein (mg/mL)       $Y_i$  = Absorbansi rata-rata

Berdasarkan hukum Lambert-Beer diperoleh persamaan :

$$A = a \cdot b \cdot c \dots \dots \dots (1)$$

Dimana : A = absorbansi

a = koefisien absorpsivitas

b = tebal cuvet

c = konsentrasi

Jika b pada persamaan (1) dianggap konstan, yaitu 1 cm maka :

$$A = a \cdot c \dots \dots \dots (2)$$

Persamaan (2) merupakan persamaan garis lurus, yaitu :

$$Y = AX + B$$

Sehingga  $A = a \cdot c + B \dots \dots \dots (3)$

Dari persamaan :  $Y = AX + B$ , diperoleh :

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

$$= \frac{11(0,36141) - (1,65 \times 1,7400)}{11(0,3465) - (1,65)^2} = 1,01424$$

$$B = \frac{\sum y - A\sum x}{n}$$

$$= \frac{1,74000 - (1,01424 \times 1,65)}{11} = 0,00605$$

Persamaan kurva standar kasein :  $Y = 1,01424X + 0,00605$

Kadar protein ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$X = \frac{Y - 0,00605}{1,01424} \times P$$

Contoh perhitungan :

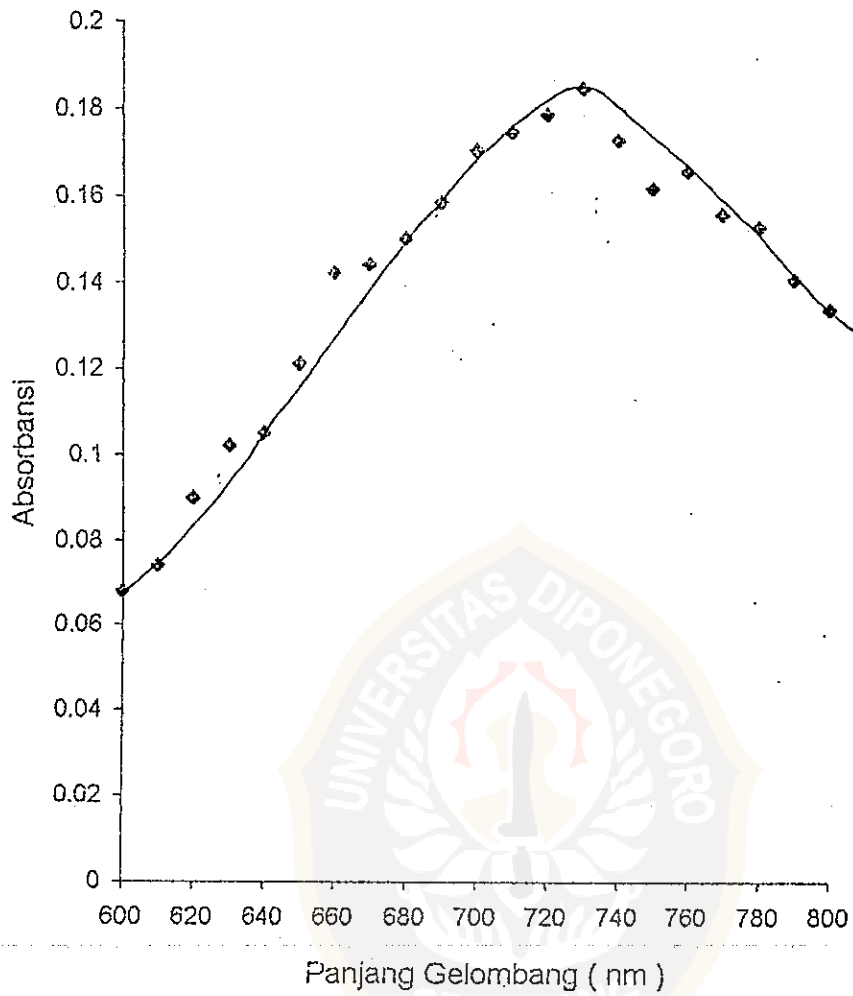
Absorbansi rata-rata sampel = 0,69800

Kadar protein :

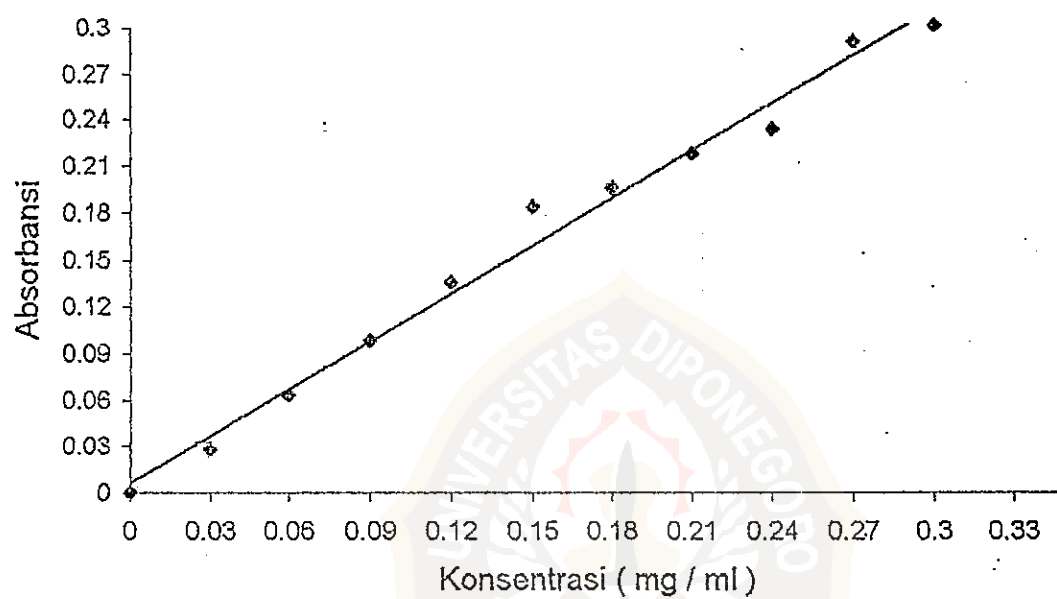
$$X = \frac{0,69800 - 0,00605}{1,01424} \times 50$$

$$= 34,11175 \text{ mg/mL}$$





Grafik 1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar Kasein



Grafik 2. Hasil penentuan kurva standar larutan Kasein

Tabel 4. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar Tirosin

No.	$\lambda$ (nm)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A2	
1.	200	0,104	0,103	0,104	0,10367
2.	210	0,104	0,105	0,104	0,10433
3.	220	0,106	0,106	0,106	0,10600
4.	230	0,111	0,110	0,109	0,11000
5.	240	0,110	0,108	0,110	0,10933
6.	250	0,111	0,112	0,111	0,11133
7.	260	0,112	0,112	0,113	0,11233
8.	270	0,113	0,113	0,113	0,11300
9.	280	0,112	0,112	0,112	0,11200
10.	290	0,110	0,110	0,113	0,11100
11.	300	0,100	0,100	0,100	0,10000

Tabel 5. Hasil penentuan kurva standar Tirosin pada  $\lambda = 270$  nm

No.	Konsentrasi (mg/100mL)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	
1.	0	0	0	0	0
2.	0,5	0,058	0,058	0,058	0,05800
3.	1,0	0,085	0,085	0,085	0,08500
4.	1,5	0,114	0,114	0,114	0,11400
5.	2,0	0,140	0,140	0,141	0,14033
6.	2,5	0,171	0,170	0,171	0,17067
7.	3,0	0,199	0,199	0,199	0,19900

Tabel 6. Hasil penentuan rumus kurva standar Tirosin pada  $\lambda = 270 \text{ nm}$ 

No.	$X_i$	$Y_i$	$(X_i)(Y_i)$	$(X_i)^2$
1.	0	0	0	0
2.	0,5	0,05800	0,02900	0,25
3.	1,0	0,08500	0,08500	1,00
4.	1,5	0,11400	0,17100	2,25
5.	2,0	0,14033	0,28066	4,00
6.	2,5	0,17067	0,42668	6,25
7.	3,0	0,19900	0,59700	9,00
	$\Sigma X_i = 10,5$	$\Sigma Y_i = 0,76700$	$\Sigma (X_i)(Y_i) = 1,58934$	$\Sigma (X_i)^2 = 22,75$

Dimana :  $X_i$  = Konsentrasi Tirosin (mg/100 mL)

$Y_i$  = Absorbansi rata-rata

Persamaan garis lurus :  $Y = AX + B$

$$A = \frac{n\Sigma xy - \Sigma x\Sigma y}{n\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$= \frac{7(1,58934) - (10,5 \times 0,76700)}{7(22,75) - (10,5)^2} = 0,06269$$

$$B = \frac{\Sigma y - A\Sigma x}{n}$$

$$= \frac{0,76700 - (0,06269 \times 10,5)}{7}$$

$$= 0,01554$$

Persamaan kurva standar tirosin :  $Y = 0,06269X + 0,01554$



Kadar tirosin ditentukan dengan rumus :

$$X = \frac{Y - 0,01554}{0,06269} \times \frac{1}{181,19} \times \frac{1000}{100} \times \frac{V_{tot}}{V_{enzim}} \times P$$

Dimana :  $V_{tot}$  = volume total dalam tabung reaksi (5,0 mL)

$V_{enzim}$  = volume enzim (0,5 mL)

$P$  = faktor pengenceran enzim

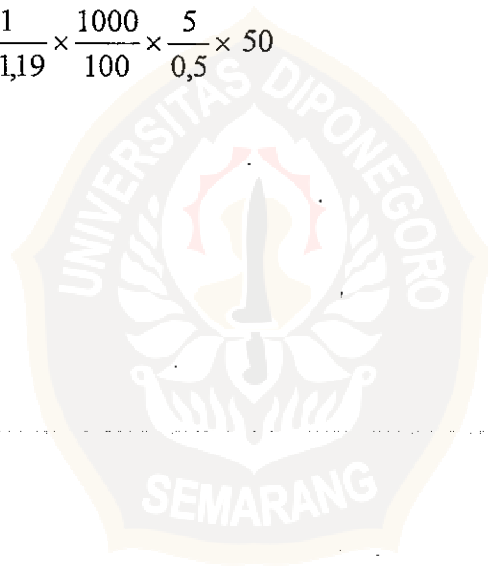
Contoh perhitungan :

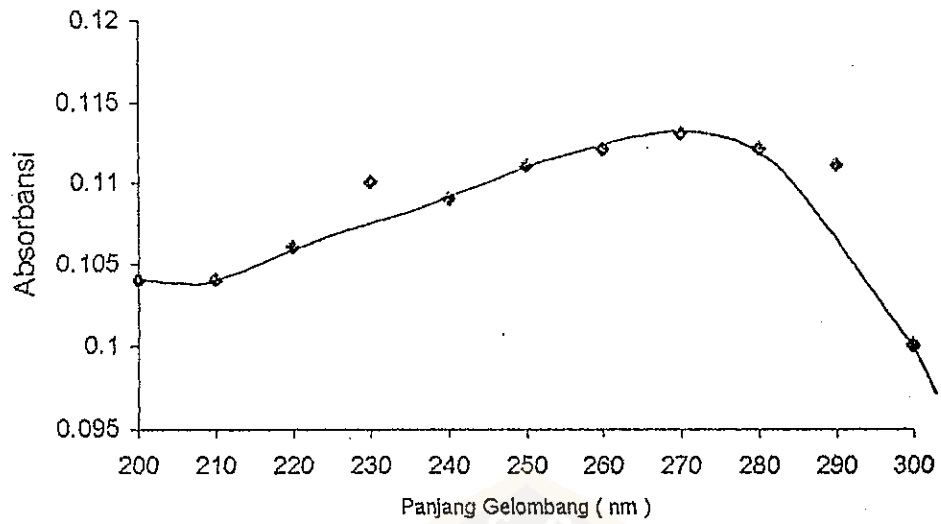
Absorbansi rata-rata sampel = 0,10500

Kadar tirosin :

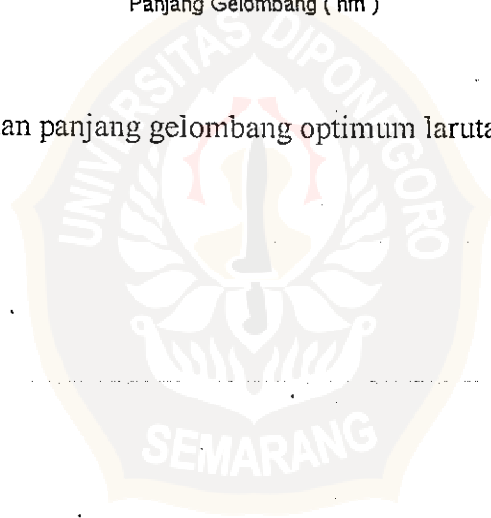
$$X = \frac{0,10500 - 0,01554}{0,06269} \times \frac{1}{181,19} \times \frac{1000}{100} \times \frac{5}{0,5} \times 50$$

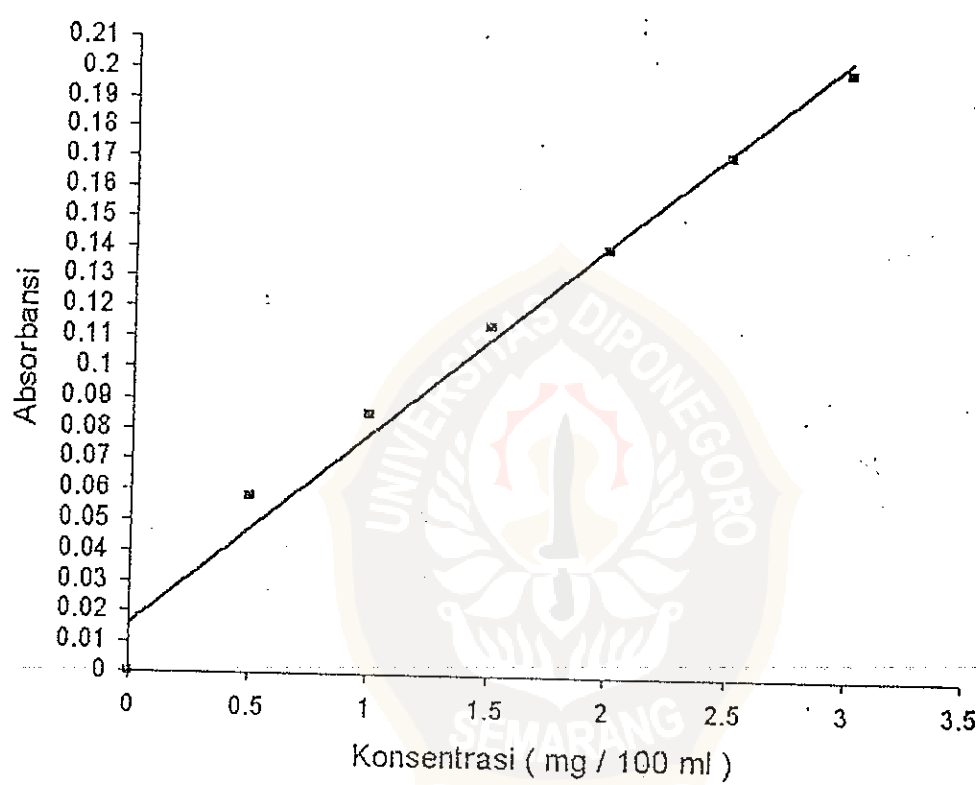
$$= 39,37916 \mu\text{mol/mL}$$





Grafik 3. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar tirosin





Grafik 4. Hasil penentuan kurva standar larutan Tirosin

## Lampiran 2. Hasil penentuan fraksi optimum

Tabel 7. Hasil penentuan kadar protein

No.	Fraksi	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Protein (mg/mL)
		A1	A2	A3		
1.	EK	0,698	0,698	0,698	0,69800	34,11175
2.	F1	0,023	0,023	0,023	0,02300	0,83560
3.	F2	0,034	0,034	0,034	0,03400	1,37788
4.	F3	0,206	0,206	0,206	0,20600	9,85713
5.	F4	0,422	0,422	0,422	0,42200	20,50550

Tabel 8. Hasil penentuan kadar Tirosin

No.	Fraksi	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu\text{mol/mL}$ )
		A1	A2	A3		
1.	EK	0,114	0,113	0,114	0,11367	43,19558
2.	F1	0,117	0,117	0,117	0,11700	44,66140
3.	F2	0,115	0,115	0,115	0,11500	43,78103
4.	F3	0,117	0,117	0,117	0,11700	44,66140
5.	F4	0,116	0,116	0,116	0,11600	44,22122

Tabel 9. Hasil uji aktivitas spesifik setiap fraksi

No.	Fraksi	Unit Aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1.	EK	1,43985	34,11175	0,04221
2.	F1	1,48871	0,83560	1,78161
3.	F2	1,45937	1,37788	1,05914
4.	F3	1,48871	9,85713	0,15103
5.	F4	1,47404	20,50550	0,07189

Dimana :

EK = Ekstrak kasar

F1 = Fraksi dengan kejenuhan 0–10%

F2 = Fraksi dengan kejenuhan 10–30%

F3 = Fraksi dengan kejenuhan 30–40%

F4 = Fraksi dengan kejenuhan 40–60%



## Lampiran 3. Hasil penentuan pH optimum enzim papain bebas pada F1

Tabel 10. Hasil penentuan kadar Tirosin pada  $\lambda = 270 \text{ nm}$ 

No.	pH	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu\text{mol/mL}$ )
		A1	A2	A3		
1.	4,5	0,105	0,105	0,105	0,10500	39,37916
2.	5,0	0,117	0,118	0,118	0,11767	44,95633
3.	5,5	0,115	0,115	0,114	0,11467	43,63577
4.	6,0	0,114	0,114	0,114	0,11400	43,34084
5.	6,5	0,106	0,107	0,107	0,10667	40,11427
6.	7,0	0,105	0,106	0,105	0,10533	39,52442

Tabel 11. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai pH

No.	pH	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1.	4,5	1,31264	0,83560	1,57090
2.	5,0	1,49854	0,83560	1,79337
3.	5,5	1,45453	0,83560	1,74070
4.	6,0	1,44469	0,83560	1,72893
5.	6,5	1,33714	0,83560	1,60022
6.	7,0	1,31748	0,83560	1,57669

## Lampiran 4. Hasil penentuan suhu optimum enzim papain bebas pada F1 (pH 5,0)

Tabel 12. Hasil penentuan kadar Tirosin pada  $\lambda = 270 \text{ nm}$ 

No.	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu\text{mol/mL}$ )
		A1	A2	A3		
1.	33	0,111	0,111	0,111	0,11100	42,02028
2.	35	0,117	0,117	0,117	0,11700	44,66140
3.	37	0,110	0,110	0,110	0,11000	41,58009
4.	39	0,108	0,108	0,108	0,10800	40,69972
5.	41	0,106	0,105	0,106	0,10567	39,67408
6.	43	0,105	0,105	0,105	0,10500	39,37916
7.	45	0,104	0,104	0,104	0,10400	38,93897
8.	47	0,104	0,103	0,103	0,10333	38,64404
9.	49	0,102	0,101	0,101	0,10133	37,76367
10.	51	0,100	0,100	0,100	0,10000	37,17822

Tabel 13. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai suhu

No.	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Unit Aktivitas (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1.	33	1,40068	0,83560	1,67626
2.	35	1,48871	0,83560	1,78161
3.	37	1,38600	0,83560	1,65869
4.	39	1,35666	0,83560	1,62358
5.	41	1,32247	0,83560	1,58266
6.	43	1,31264	0,83560	1,57090
7.	45	1,29797	0,83560	1,55334
8.	47	1,28813	0,83560	1,54156
9.	49	1,25879	0,83560	1,50645
10.	51	1,23927	0,83560	1,48309

Lampiran 5. Hasil penentuan pH optimum enzim papain amobil pada FI.

Tabel 14. Hasil penentuan kadar Tirosin pada  $\lambda = 270 \text{ nm}$

No.	pH	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu\text{mol/mL}$ )
		A1	A2	A3		
1.	4,5	0,098	0,098	0,098	0,09800	36,29784
2.	5,0	0,100	0,100	0,100	0,10000	37,17822
3.	5,5	0,109	0,109	0,109	0,10900	41,13991
4.	6,0	0,112	0,112	0,112	0,11200	42,46047
5.	6,5	0,105	0,104	0,104	0,10433	39,08423
6.	7,0	0,101	0,101	0,100	0,10067	37,47314

Tabel 15. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai pH

No.	pH	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1.	4,5	1,20993	0,83560	1,44798
2.	5,0	1,23927	0,83560	1,48309
3.	5,5	1,37133	0,83560	1,64113
4.	6,0	1,41535	0,83560	1,69381
5.	6,5	1,30281	0,83560	1,55913
6.	7,0	1,24910	0,83560	1,49485



Lampiran 6. Hasil penentuan suhu optimum enzim papain amobil pada FI (pH 6,0).

Tabel 16. Hasil penentuan kadar Tirosin pada  $\lambda = 270 \text{ nm}$

No.	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu\text{mol/mL}$ )
		A1	A2	A3		
1.	33	0,086	0,085	0,086	0,08567	30,87034
2.	35	0,095	0,095	0,095	0,09500	34,97728
3.	37	0,102	0,102	0,102	0,10200	38,05859
4.	39	0,109	0,109	0,109	0,10900	41,13991
5.	41	0,110	0,110	0,110	0,11000	41,58009
6.	43	0,108	0,108	0,108	0,10800	40,69972
7.	45	0,103	0,104	0,103	0,10333	38,64404
8.	47	0,100	0,100	0,100	0,10000	37,17822
9.	49	0,097	0,097	0,097	0,09700	35,85766
10.	51	0,081	0,081	0,081	0,08100	28,81466

Tabel 17. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai suhu

No.	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1.	33	1,02901	0,83560	1,23146
2.	35	1,16591	0,83560	1,39530
3.	37	1,26862	0,83560	1,51821
4.	39	1,37133	0,83560	1,64113
5.	41	1,38600	0,83560	1,65869
6.	43	1,35666	0,83560	1,62358
7.	45	1,28813	0,83560	1,54156
8.	47	1,23927	0,83560	1,48309
9.	49	1,19526	0,83560	1,43042
10.	51	0,96049	0,83560	1,14946

Lampiran 7. Hasil penentuan stabilitas enzim amobil pada kondisi optimum.

Tabel 18. Hasil penentuan kadar Tirosin pada  $\lambda = 270 \text{ nm}$

Pemakaian ke	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu\text{mol/mL}$ )
	A1	A2	A3		
1.	0,105	0,105	0,105	0,10500	39,37916
2.	0,105	0,105	0,105	0,10500	39,37916
3.	0,105	0,104	0,104	0,10433	39,08423
4.	0,092	0,091	0,091	0,09133	33,36180
5.	0,087	0,087	0,087	0,08700	31,45578

Tabel 19. Hasil uji aktivitas spesifik untuk beberapa kali pemakaian

Pemakaian ke	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1.	1,31264	0,83560	1,57090
2.	1,31264	0,83560	1,57090
3.	1,30281	0,83560	1,55913
4.	1,11206	0,83560	1,33085
5.	1,04853	0,83560	1,25482

Lampiran 8. Tabel penambahan ammonium sulfat pada fraksinasi.

Tabel 20. Jumlah penambahan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dalam gram/liter larutan enzim pada konsentrasi yang berbeda <sup>24)</sup>

Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (%)	10	20	25	30	33	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90	100
0	56	114	144	176	196	209	243	277	313	351	390	420	472	516	561	662	767
10		57	86	118	137	150	183	216	251	288	326	365	406	449	494	592	694
20			29	59	78	91	123	155	189	225	262	300	340	382	424	520	619
25				30	49	61	83	125	158	193	230	267	307	348	390	485	583
30					19	30	62	94	127	162	198	235	273	314	356	449	546
33						12	43	74	107	142	177	214	252	292	333	426	522
35							31	63	94	129	164	200	238	278	319	411	506
40								31	63	97	132	168	205	245	285	375	469
45									32	65	99	134	171	210	250	339	431
50										33	66	101	137	176	214	302	392
55											33	67	103	141	179	264	353
60												34	69	105	143	227	314
65													34	70	107	190	275
70														35	75	153	237
75															36	115	198
80																77	157
90																	79

Lampiran 9. Tabel pembuatan buffer asetat.

Larutan A: 0,2 M larutan Asam asetat (11,55 mL dalam 1000 mL)

Larutan B: 0,2 M larutan Natrium asetat (16,4 g  $C_2H_3O_2Na$  atau 27,2 g  $C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$  dalam 1000 mL).

X mL larutan A + Y mL larutan B, diencerkan sampai 100 mL.

Tabel 27. Perbandingan volume larutan asam asetat dan larutan natrium asetat <sup>19)</sup>

X (mL)	Y (mL)	pH
46,3	3,7	3,6
44,0	6,0	3,8
41,0	9,0	4,0
36,8	13,2	4,2
30,5	19,5	4,4
25,5	24,5	4,6
20,0	30,0	4,8
14,8	35,2	5,0
6,8	43,2	5,5
2,5	47,5	6,0
0,9	52,8	6,5
0,4	64,2	7,0