

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum (λ opt), kurva standar dan rumus kurva standar tirosin

Tabel 1. 1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum (λ opt) larutan standar

Tirosin

No.	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
1	260	0,029
2	265	0,029
3	270	0,028
4	275	0,028
5	280	0,029
6	285	0,030
7	286	0,031
8	287	0,032
9	288	0,033
10	289	0,034
11	290	0,035
12	295	0,042
13	300	0,052
14	305	0,054
15	305,1	0,057
16	305,2	0,057
17	305,3	0,057
18	305,4	0,057
19	305,5	0,057
20	305,6	0,059
21	305,7	0,089
22	305,8	0,084
23	305,9	0,084
24	306	0,083
25	307	0,081

Tabel 1. 2. Hasil penentuan kurva standar kasein pada $\lambda = 305,7 \text{ nm}$

No.	Konsentrasi ($\mu\text{mol/mL}$)	Absorbansi (pada $\lambda = 305,7 \text{ nm}$)		Absorbansi Rata-rata
		A1	A2	
1	0	0	0	0
2	50	0,0370	0,0380	0,0375
3	100	0,0560	0,0500	0,0530
4	150	0,0640	0,0530	0,0585
5	200	0,0890	0,0850	0,0870

Tabel 1. 3. Hasil penentuan rumus kurva standar tirosin pada $\lambda = 305,7 \text{ nm}$

No.	X_i	Y_i	$(X_i)(Y_i)$	$(X_i)^2$
1	0	0	0	0
2	50	0,0375	1,875	2500
3	100	0,0530	5,300	10000
4	150	0,0585	8,775	22500
5	200	0,0870	17,400	40000
	$\Sigma X_i = 500$	$\Sigma Y_i = 0,236$	$\Sigma (X_i)(Y_i) = 33,35$	$\Sigma (X_i)^2 = 75000$

Keterangan :

X_i = konsentrasi tirosin ($\mu\text{mol/mL}$)

Y_i = absorbansi rata-rata dari A1 dan A2

Perhitungan

Persamaan garis lurus adalah : $Y = aX + b$

dimana : a = gradien

b = intersep

$$\Leftrightarrow a = \frac{n\sum X_i Y_i - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{n\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$a = \frac{5(33,35) - (500)(0,236)}{5(75000) - (500)^2}$$

$$a = 0,000389$$

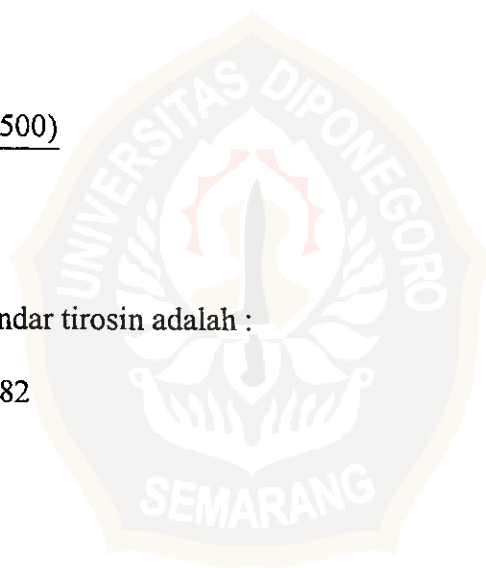
$$\Leftrightarrow b = \frac{\sum Y_i - a\sum X_i}{n}$$

$$b = \frac{0,0236 - 0,000389(500)}{5}$$

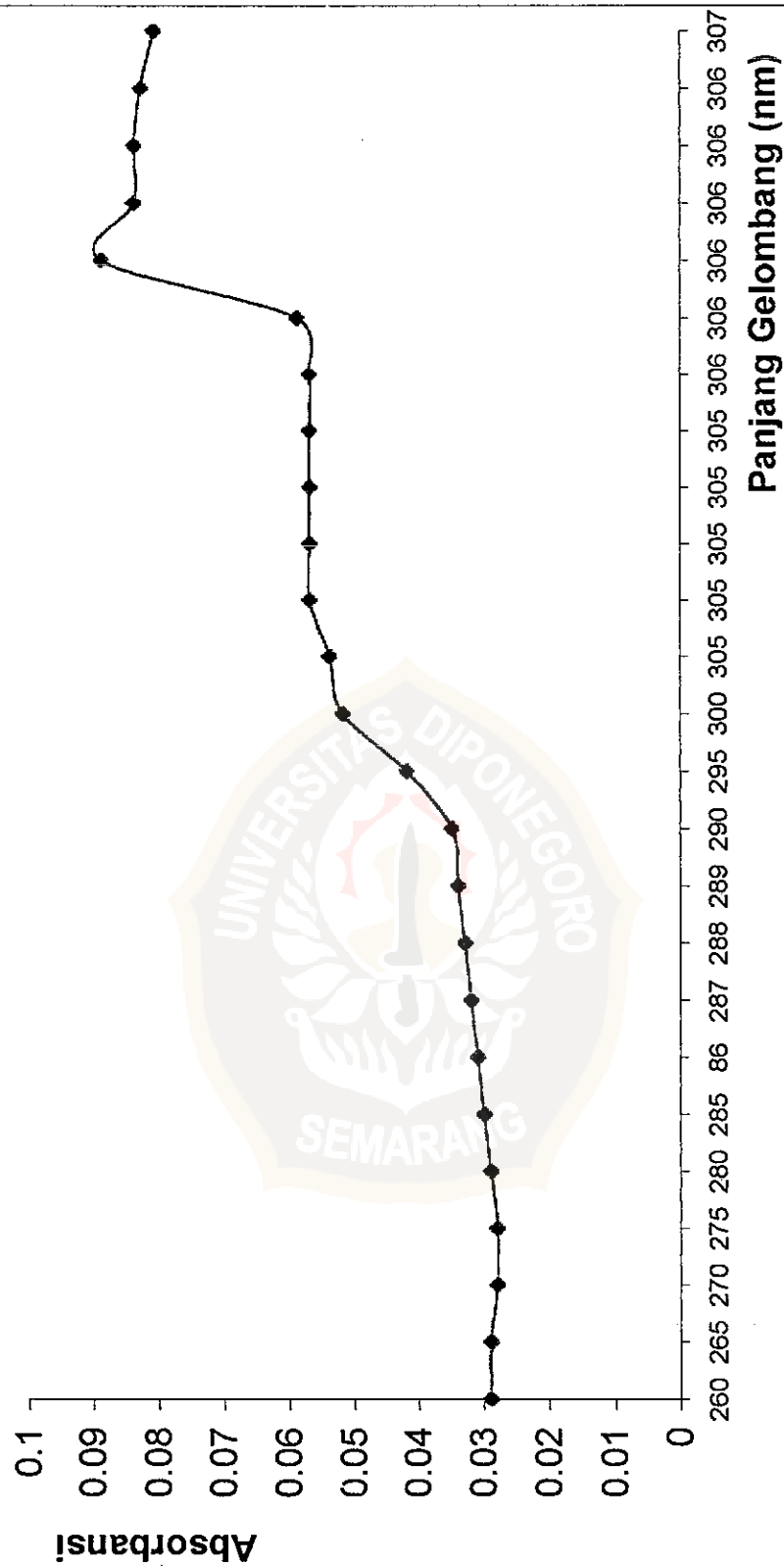
$$b = 0,082$$

Jadi persamaan garis kurva standar tirosin adalah :

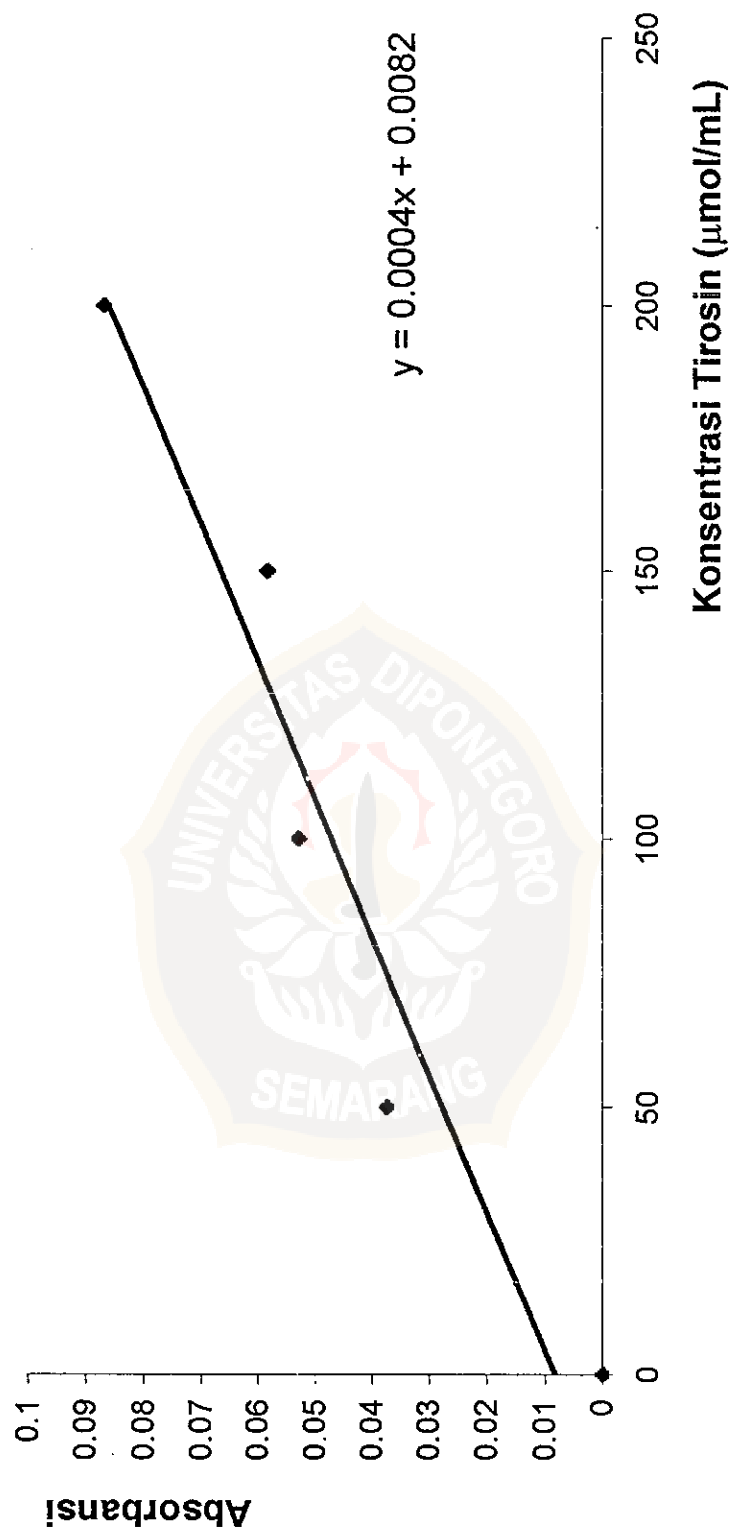
$$Y = 0,000389 X + 0,082$$



Grafik 1. 1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Tirosin



Grafik 1. 2. Hasil Penentuan Kurva Standar Tirosin



Lampiran 2. Hasil penentuan panjang gelombang optimum (λ opt), kurva standar, rumus kurva standar kasein dan kadar protein tiap fraksi

Tabel 2. 1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar kasein

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
550	0,289
560	0,298
570	0,306
580	0,318
590	0,324
600	0,336
610	0,345
620	0,356
630	0,365
640	0,368
650	0,374
660	0,384
670	0,394
680	0,404
690	0,416
700	0,422
710	0,434
720	0,443
730	0,451
740	0,457
750	0,460
760	0,461
770	0,460
780	0,456
790	0,451

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
800	0,442
810	0,434
820	0,425
830	0,417
840	0,400
850	0,399

Tabel 2. 2. Hasil penentuan kurva standar kasein

Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi (A)	$A_{\text{sampel}} - A_{\text{kontrol}}$
0	0,173	0
0.06	0.325	0.152
0.12	0.388	0.251
0.18	0.461	0.288
0.24	0.564	0.391
0.30	0.637	0.464
Kontrol	0.173	-

Tabel 2. 3. Hasil penentuan rumus kurva standar kasein

No.	X_i	Y_i	$(X_i)(Y_i)$	$(X_i)^2$
1	0,00	0,000	0,00000	0,0000
2	0,05	0,152	0,00912	0,0036
3	0,12	0,215	0,02580	0,0144
4	0,18	0,288	0,05184	0,0324
5	0,24	0,391	0,09384	0,0576
6	0,30	0,464	0,13920	0,0900
	$\Sigma X_i = 0,9$	$\Sigma Y_i = 1,51$	$\Sigma (X_i)(Y_i) = 0,3198$	$\Sigma (X_i)^2 = 0,198$

Perhitungan :

Persamaan garis lurus adalah : $Y = aX + b$

dimana : a = gradien

b = intersep

$$\Leftrightarrow a = \frac{n \Sigma X_i Y_i - (\Sigma X_i)(\Sigma Y_i)}{n \Sigma X_i^2 - (\Sigma X_i)^2}$$

$$a = \frac{6(0,3198) - (0,9)(1,51)}{6(0,198) - (0,9)^2}$$

$$a = 1,4681$$

$$\Leftrightarrow b = \frac{\Sigma Y_i - a \Sigma X_i}{n}$$

$$b = \frac{1,51 - 1,4681(0,9)}{6}$$

$$b = 0,0276$$

Jadi persamaan garis kurva standar kasein adalah :

$$Y = 1,4681 X + 0,0276$$

Pada uji kadar protein ini, dilakukan pengenceran protein sebanyak 10 kali. Maka untuk mengetahui nilai kadar proteinnya digunakan rumus:

$$X = \frac{Y - 0,0276}{1,4681} \times 10$$

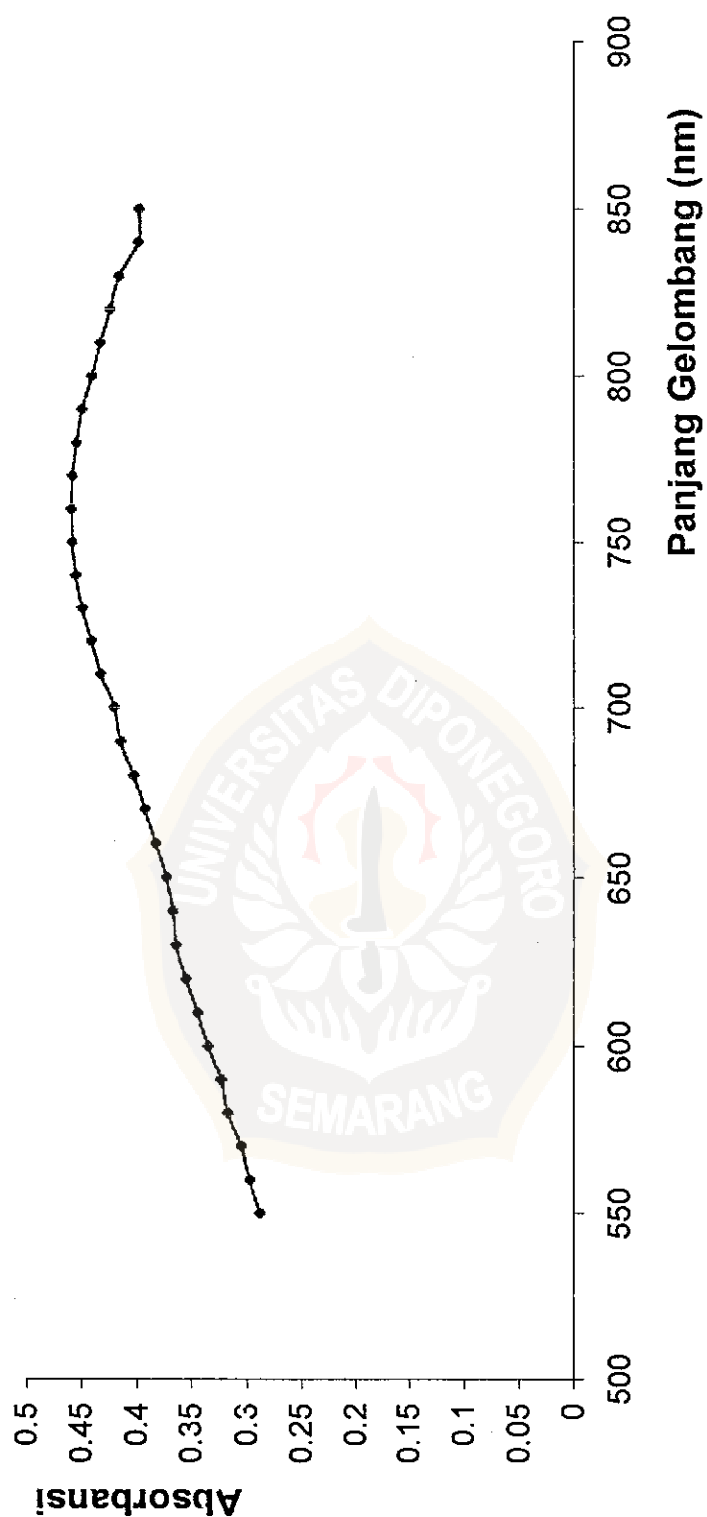
dimana : X = kadar protein (mg)

Y = absorbansi

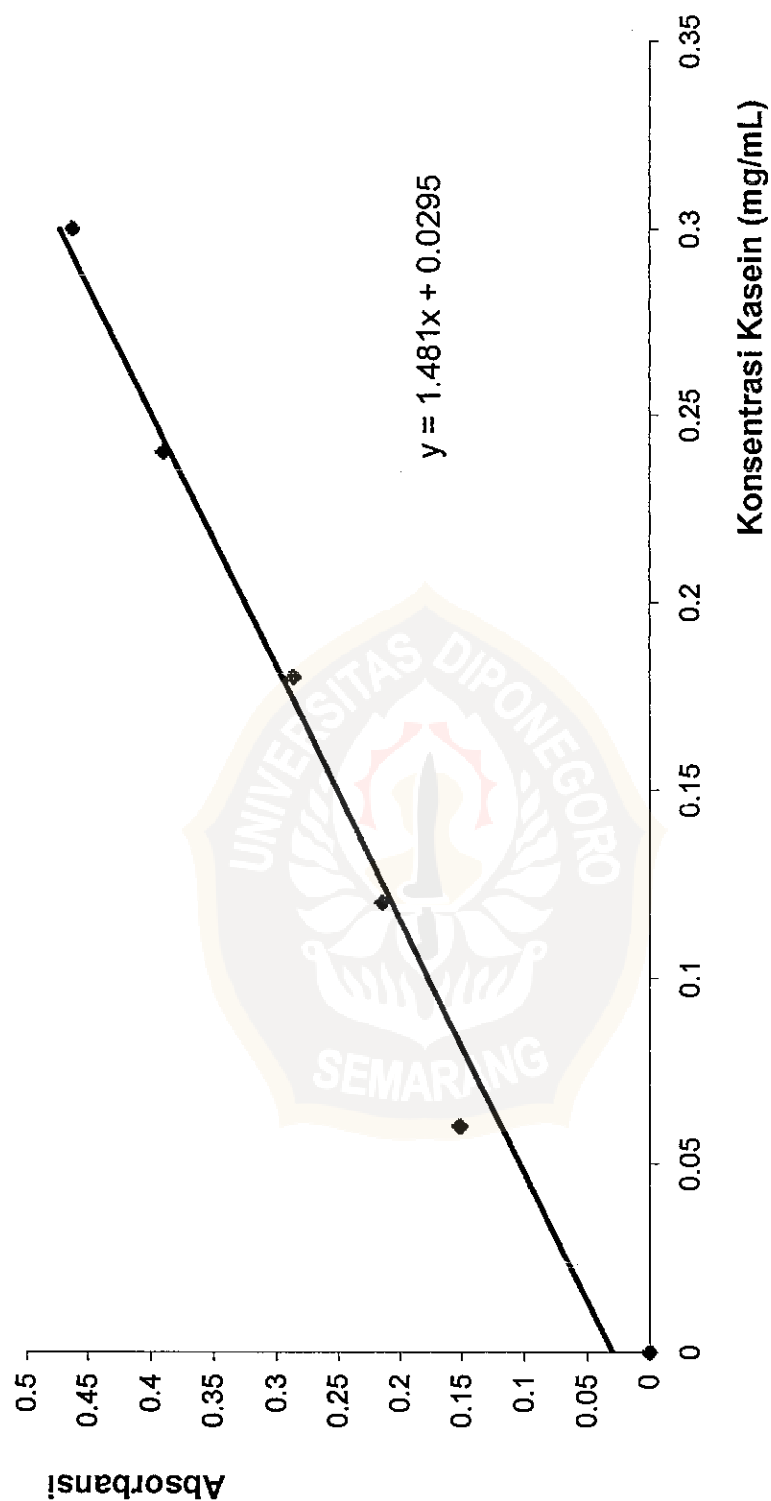
Tabel 2. 4. Hasil penentuan kadar protein pada tiap fraksi

Fraksi	Absorbansi	A _{sampel} – A _{kontrol}	Kadar Protein (mg)
Ekstrak Kasar	0.509	0.336	2.0695
F1	0.229	0.056	0.1789
F2	0.233	0.060	0.2059
F3	0.259	0.086	0.3815
F4	0.618	0.445	2.8055
F5	0.298	0.125	0.6448
Kontrol	0,173	-	-

Grafik 2. 1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Kasein



Grafik 2.2. Kurva Standar Kasein



Lampiran 3. Penentuan Aktivitas Enzim

Tabel 3. 1. Data absorbansi uji aktivitas enzim protease (kurva standar tirosin)

Fraksi	Absoransi Kontrol (Ak)			Absorbansi Sampel (As)			As-Ak
	A1	A2	$\bar{A}$	A1	A2	$\bar{A}$	
EK	0,261	0,260	0,2605	0,394	0,391	0,3925	0,1320
F1	0,204	0,214	0,2090	0,252	0,257	0,2545	0,0455
F2	0,204	0,214	0,2090	0,452	0,446	0,4490	0,2400
F3	0,193	0,195	0,1940	0,274	0,288	0,2810	0,0870
F4	0,542	0,571	0,5565	0,555	0,579	0,5670	0,0105
F5	0,264	0,267	0,2655	0,279	0,269	0,2740	0,0085

Keterangan:

EK = ekstrak kasar

F1 = fraksi 1 (kejenuhan 0-10 %)

F2 = fraksi 2 (kejenuhan 10-30 %)

F3 = fraksi 3 (kejenuhan 30-50 %)

F4 = fraksi 4 (kejenuhan 50-70 %)

F5 = fraksi 5 (kejenuhan 70-100 %)

Untuk mendapatkan nilai aktivitas enzim protease digunakan rumus:

$$\text{Aktivitas (Unit)} = \frac{Y - 0,082}{0,000389} \times \frac{V \text{ total}}{V \text{ enzim}} \times \frac{1}{\text{BM tirosin}}$$

Keterangan:

Y = absorbansi

V total = volume enzim + substrat + bufer + TCA (5 mL)

V enzim = volume enzim yang dianalisa (0,3 mL)

BM tirosin = berat molekul tirosin (181 gram/mol)

Tabel 3. 2. Hasil penentuan aktivitas enzim protease tiap fraksi

No.	Fraksi	Absorbansi (As-Ak)	Aktivitas (Unit) ($\mu\text{mol/mL}$)
1	EK	0,1320	19,0424
2	F1	0,0455	3,1123
3	F2	0,2400	38,9319
4	F3	0,0870	10,7551
5	F4	0,0105	-3,3333
6	F5	0,0085	-3,7017

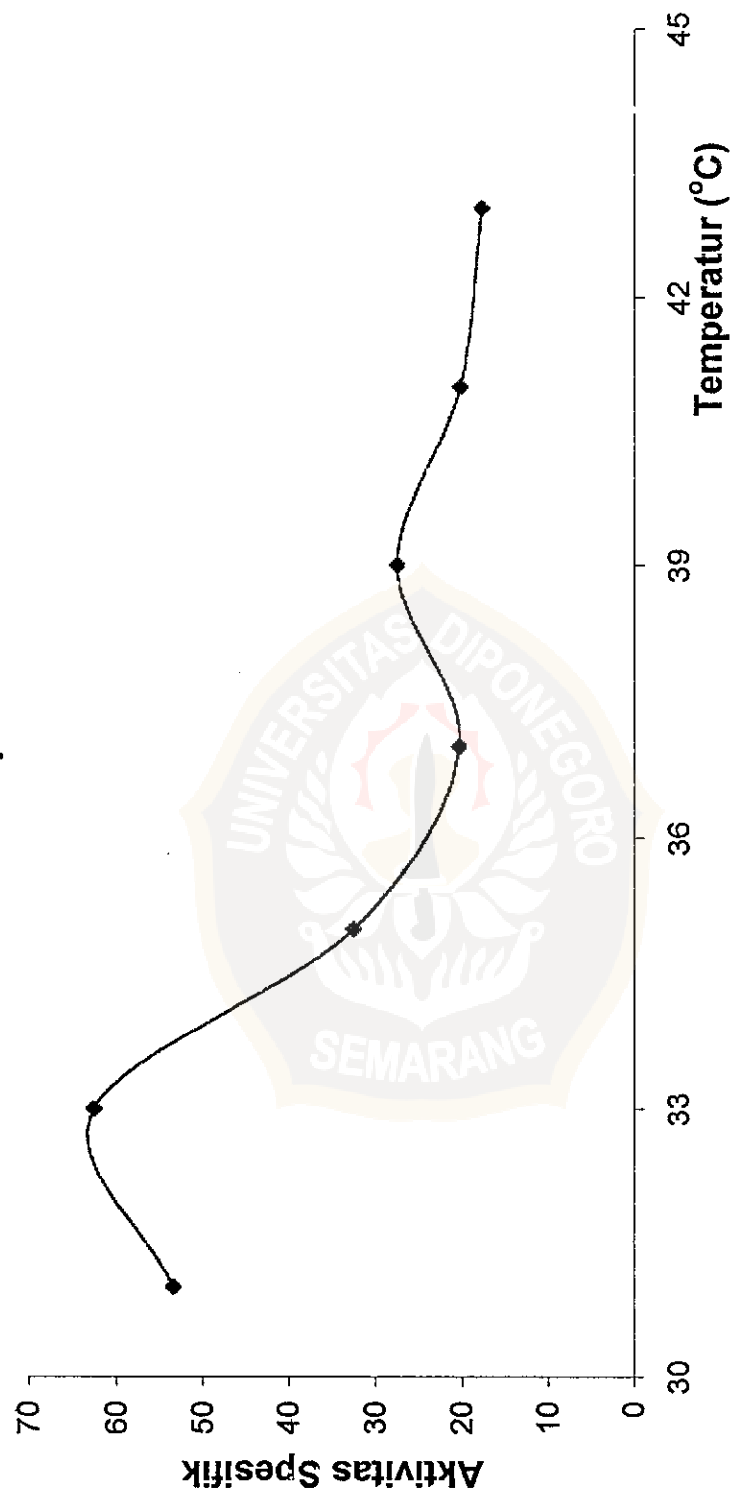
Lampiran 4. Karakterisasi Enzim Protease

Lampiran 4.1. Penentuan Temperatur Optimum

Tabel 4. 1. 1. Hasil penentuan absorbansi pada berbagai variasi temperatur

No.	Temperatur	A1	A2	$\bar{A}$	$\bar{A}$ - Akontrol
1	31	0,2990	0,2640	0,2705	0,1735
2	33	0,2990	0,2930	0,296	0,1990
3	35	0,1920	0,1940	0,2125	0,1155
4	37	0,1780	0,1790	0,1785	0,0815
5	39	0,1990	0,1980	0,1985	0,1015
6	41	0,1170	0,1210	0,1190	0,0245
7	43	0,1140	0,1200	0,1170	0,0225
	Kontrol	0,0970	0,0960	0,0965	-

Grafik 4.1. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai Temperatur



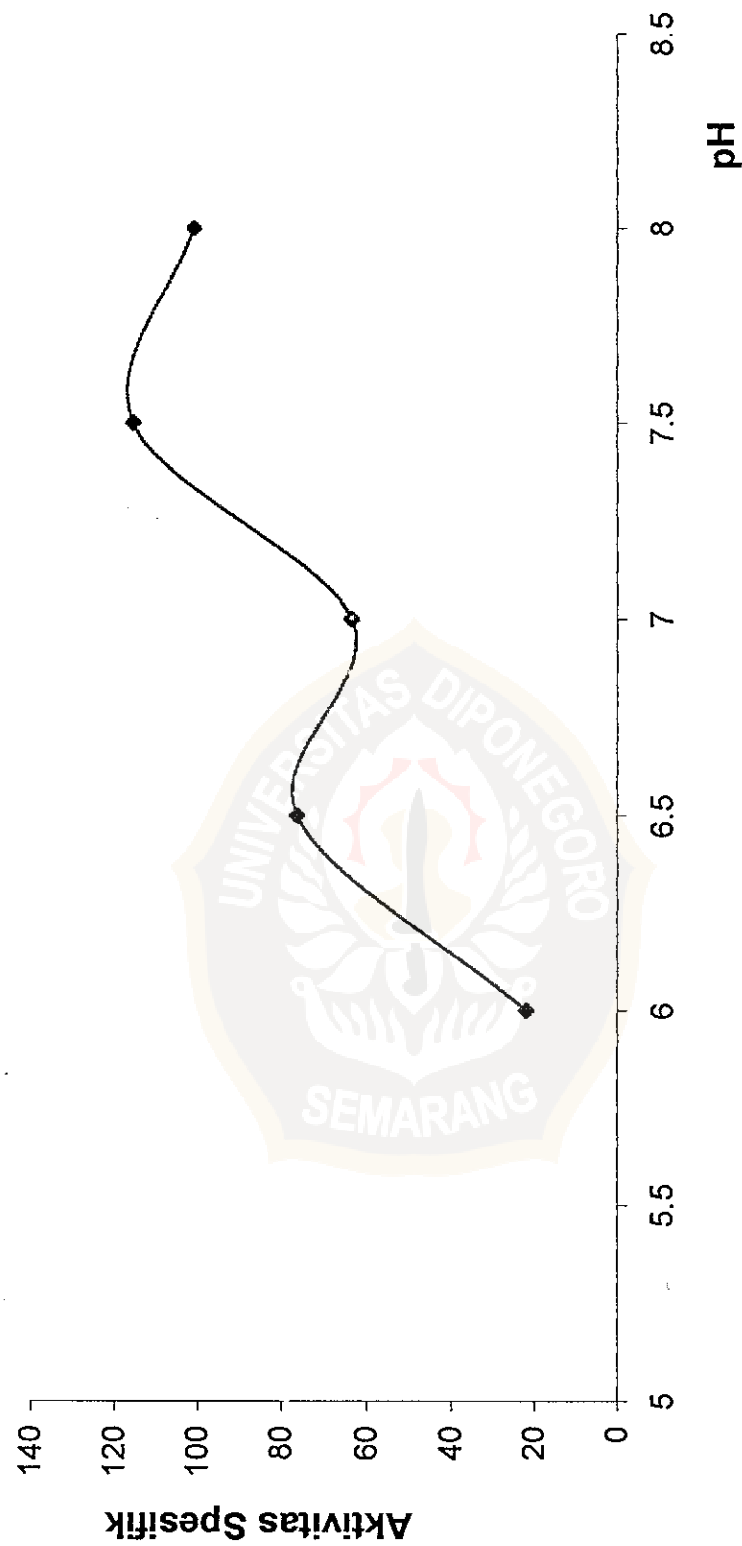
Lampiran 4.2. Penentuan pH optimum

Tabel 4. 2. 1. Hasil penentuan absorbansi pada berbagai variasi pH

No.	pH	Absorbansi kontrol			Absorbansi sample			$\bar{A}_s - \bar{A}_k$
		Ak1	Ak2	$\bar{A}_k$	As1	As2	$\bar{A}_s$	
1	6,0	0,2080	0,2030	0,2055	0,2500	0,2520	0,2520	0,0465
2	6,5	0,0760	0,0890	0,0825	0,1880	0,1830	0,1855	0,1030
3	7,0	0,0970	0,1070	0,1020	0,1980	0,1850	0,1915	0,0895
4	7,5	0,0800	0,0800	0,0800	0,2210	0,2250	0,2230	0,1430
5	8,0	0,0850	0,0850	0,0850	0,2130	0,2130	0,2130	0,1280



Grafik 4. 2. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai pH



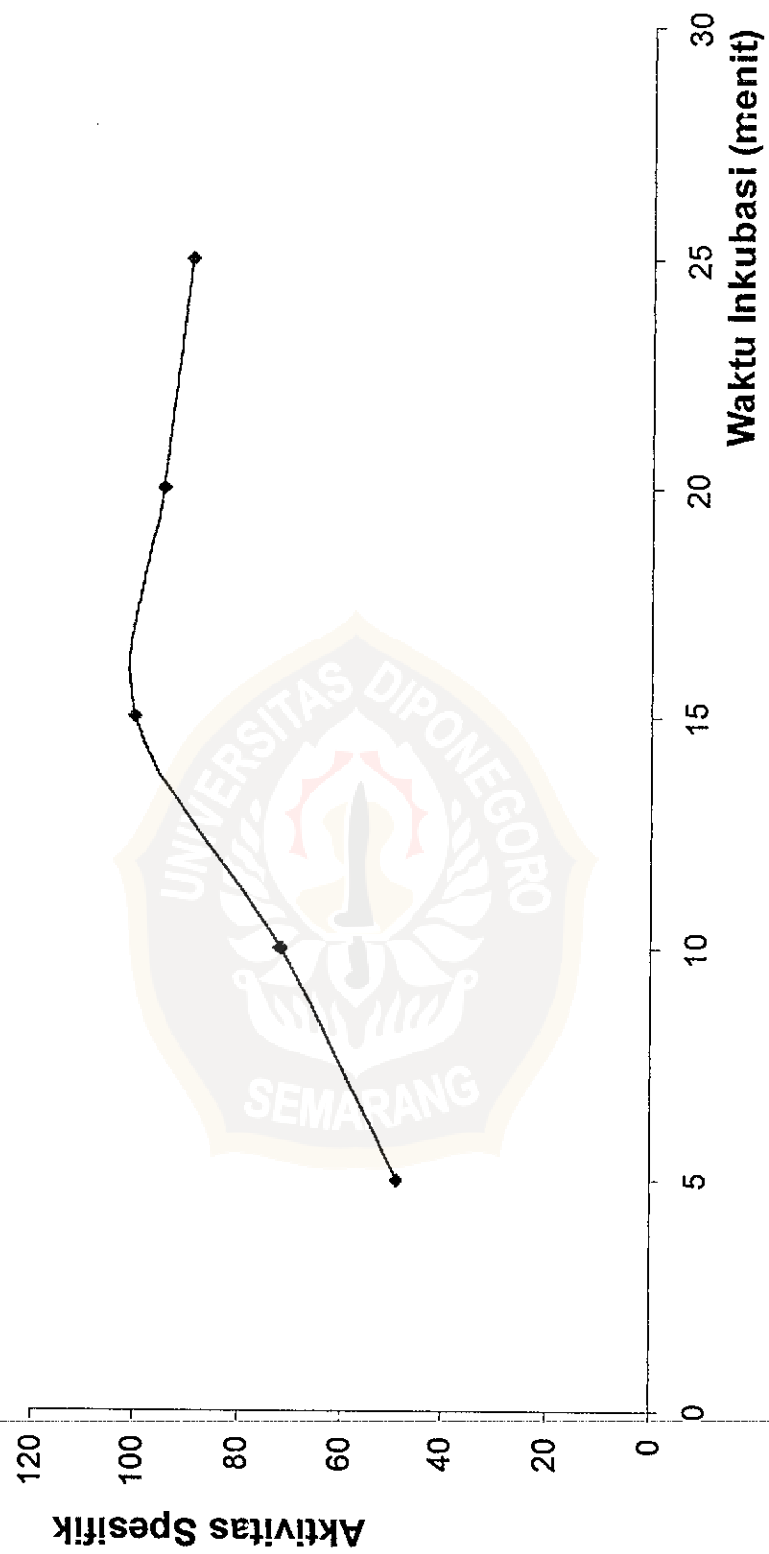
Lampiran 4.3. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Tabel 4. 3. 1. Hasil penentuan absorbansi pada berbagai variasi waktu inkubasi

No.	Waktu (menit)	A1	A2	$\bar{A}$	$\bar{A} - A_{\text{kontrol}}$
1	5	0,1310	0,1530	0,1420	0,0815
2	10	0,1650	0,1610	0,1630	0,1025
3	15	0,1880	0,1910	0,1895	0,1290
4	20	0,1830	0,1860	0,1845	0,1240
5	25	0,1720	0,1870	0,1795	0,1190
	Kontrol	0,0600	0,0610	0,0605	-



Grafik 4. 3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam Berbagai Waktu Inkubasi



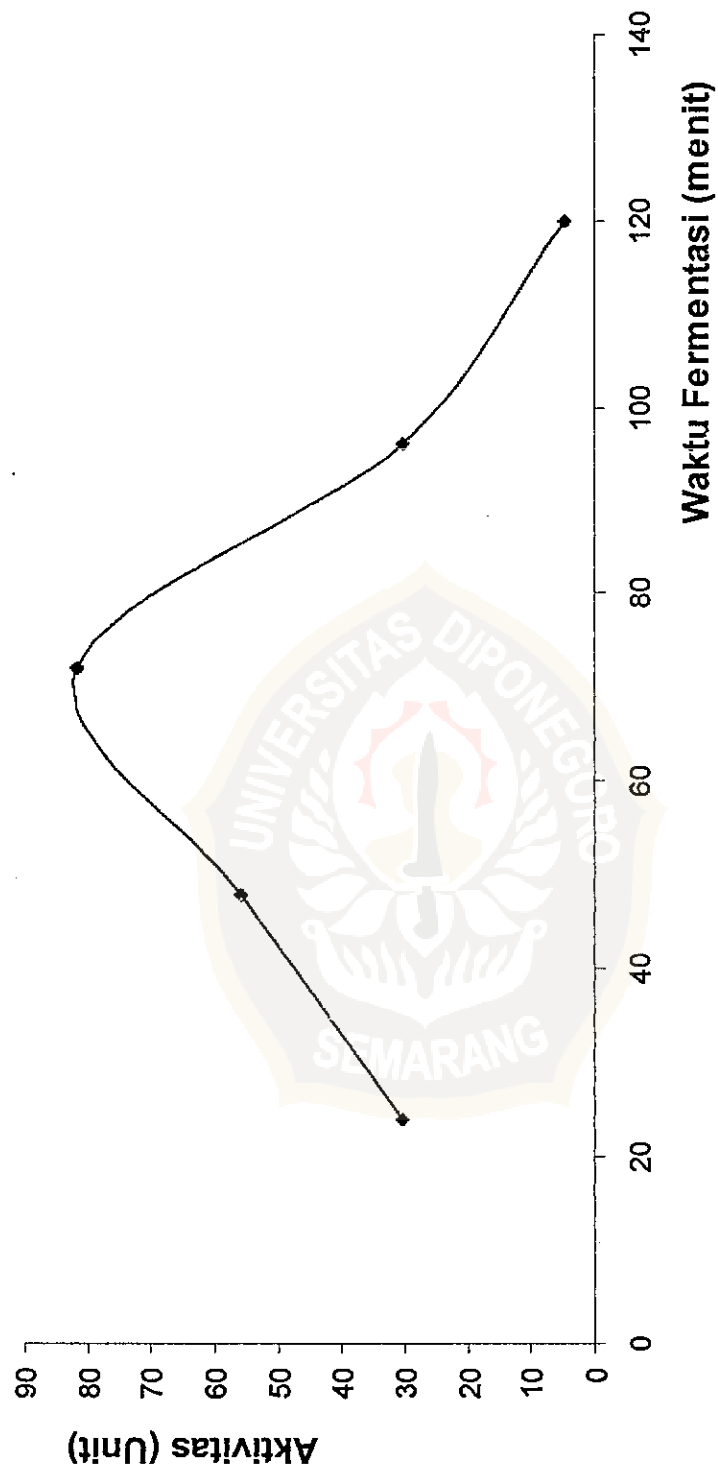
Lampiran 5. Hasil Penentuan Waktu Fermentasi Optimum

Tabel 5. 1. Hasil penentuan waktu fermentasi optimum

No.	Waktu (menit)	Aktivitas (Unit) ($\mu\text{mol/mL}$)
1	24	30,33
2	48	56,04
3	72	81,75
4	96	30,33
5	120	4,63



Grafik 5.1. Waktu Fermentasi Optimum



Lampiran 6. Daftar Kebutuhan Ammonium Sulfat

Tabel 6. 1. Jumlah penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dalam gram/liter larutan enzim pada konsentrasi yang berbeda

Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0	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								32	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	