

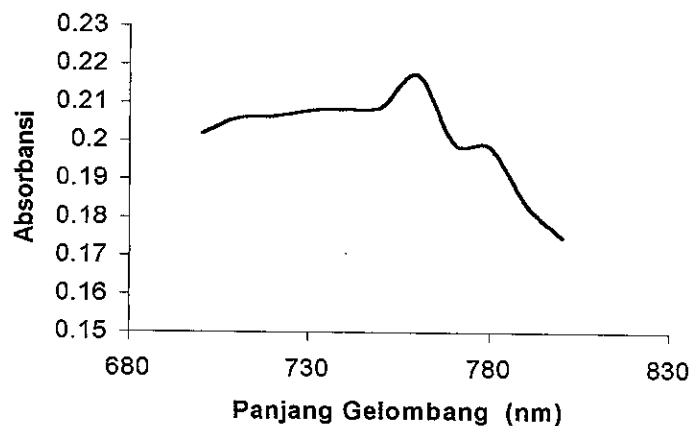
Lampiran I. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum kurva standar, rumus kurva standar untuk kasein dan tirosin

Tabel I.1. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar kasein.

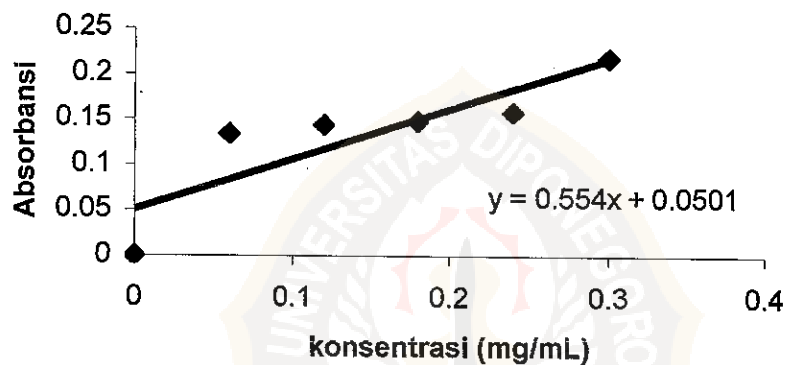
$\lambda$ (nm)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	
700	0,202	0,202	0,202
710	0,205	0,207	0,206
720	0,207	0,206	0,2065
730	0,208	0,208	0,208
740	0,208	0,208	0,208
750	0,209	0,209	0,209
760	0,218	0,217	0,2175
770	0,198	0,201	0,1995
780	0,198	0,199	0,1985
790	0,184	0,183	0,1835
800	0,175	0,175	0,175

Tabel I.2. Hasil penentuan kurva standar kasein pada  $\lambda = 760$  nm

No	konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	
1	0	0	0	0
2	0,06	0,133	0,134	0,1335
3	0,12	0,143	0,144	0,1435
4	0,18	0,146	0,149	0,1475
5	0,24	0,158	0,157	0,1575
6	0,3	0,218	0,217	0,2175



Grafik I.1. penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar kasein



Grafik I.2. penentuan kurva standar kasein

Persamaan kurva standar kasein :  $y = 0,554x + 0,0501$

Kadar protein ditentukan dengan menggunakan rumus

$$x = \frac{(y - 0,0501)}{0,554} \times P$$

Keterangan :

x = kadar protein mg/mL

P = faktor pengenceran

y = absorbansi rata-rata sampel

**Contoh perhitungan:**

Absorbansi rata-rata sampel = 0.0785

Faktor pengenceran = 50

Kadar protein:

$$X = \frac{(0,0785 - 0,0501)}{0,554} \times 50$$

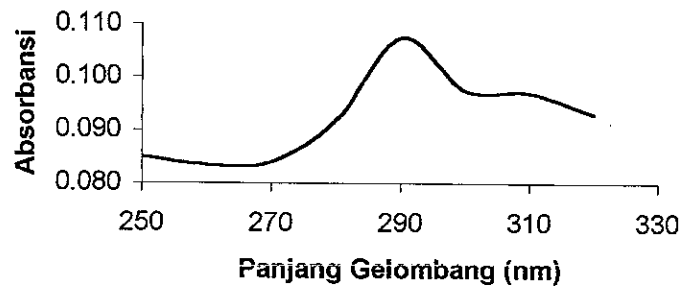
$$= 2,563 \text{ mg/mL}$$

Tabel I.3. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar tirosin

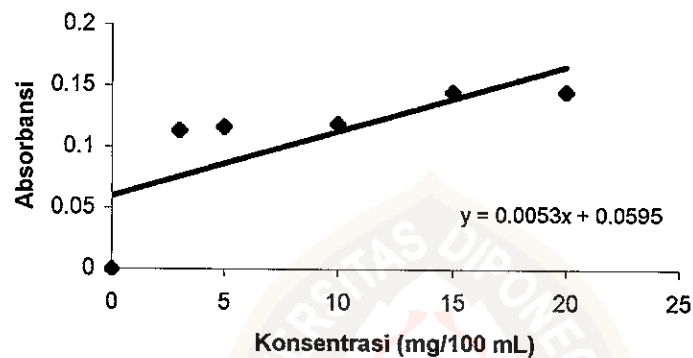
No	$\lambda$ (nm)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	
1	250	0,080	0,081	0,0805
2	260	0,084	0,083	0,0835
3	270	0,084	0,084	0,084
4	280	0,091	0,093	0,092
5	290	0,113	0,114	0,1135
6	300	0,097	0,098	0,0975
7	310	0,098	0,096	0,097
8	320	0,091	0,095	0,093

Tabel I.4. Hasil penentuan kurva standar tirosin pada  $\lambda = 290 \text{ nm}$

No	konsentrasi (mg/100mL)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	
1	0	0	0	0
2	3	0,113	0,114	0,1135
3	5	0,117	0,116	0,1165
4	10	0,119	0,119	0,119
5	15	0,145	0,145	0,145
6	20	0,145	0,146	0,1455



Grafik I.3. hasil penentuan gelombang maksimum larutan standar tirosin



Grafik I.4. penentuan kurva standar larutan tirosin

Persamaan kurva standar tirosin  $y = 0,0053x + 0,0595$

Kadar tirosin ditentukan dengan rumus :

$$X = \frac{y - 0,0595}{0,0053} \times \frac{1}{181,19} \times \frac{1000}{100} \times \frac{V_{\text{tot}}}{V_{\text{enzim}}} \times p$$

Keterangan :

$V_{\text{tot}}$  = volume total dalam tabung reaksi (6 mL)

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

$p$  = faktor pengenceran enzim

$y$  = absorbansi rata-rata contoh

$X$  = kadar tirosin ( $\mu$  mol/mL)

**Contoh perhitungan:**

Absorbansi rata-rata sampel = 0,1335

Faktor pengenceran = 10

Kadar tirosin:

$$X = \frac{(0,1335 - 0,0595)}{0,0053} \times \frac{1}{181,19} \times \frac{1000}{100} \times \frac{6}{0,5} \times 10$$
$$= 92,470 \mu \text{ mol/mL}$$



Lampiran 2. Hasil penentuan fraksi optimum kulit, buah dan bonggol nanas

1. Kulit nanas

Tabel 2.1. Hasil penentuan kadar protein

No	fraksi	pengenceran	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Protein (mg/mL)
			A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	Ek	40x	0,158	0,156	0,157	7,718
2	F <sub>1</sub>	80x	0,225	0,226	0,2255	25,328
3	F <sub>2</sub>	80x	0,302	0,303	0,3025	36,447
4	F <sub>3</sub>	50x	0,219	0,221	0,220	15,333
5	F <sub>4</sub>	60x	0,172	0,172	0,172	13,202

Tabel 2.2. Hasil penentuan kadar tirosin (10 kali pengenceran)

No	fraksi	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	Ek	0,122	0,121	0,1215	77,475
2	F <sub>1</sub>	0,099	0,098	0,0985	48,734
3	F <sub>2</sub>	0,10	0,101	0,1005	51,233
4	F <sub>3</sub>	0,196	0,196	0,196	170,570
5	F <sub>4</sub>	0,153	0,151	0,1512	115,588

Tabel 2.3. Hasil uji aktivitas spesifik setiap fraksi

No	Fraksi	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1	Ek	7,747	7,718	1,004
2	F <sub>1</sub>	4,873	25,328	0,192
3	F <sub>2</sub>	5,123	36,447	0,140
4	F <sub>3</sub>	17,057	15,333	1,112
5	F <sub>4</sub>	11,558	13,202	0,875

Keterangan :

Ek = Ekstrak kasar

F<sub>1</sub> = fraksi dengan kejenuhan 0 – 10 %

F<sub>2</sub> = fraksi dengan kejenuhan 10 – 30 %

F<sub>3</sub> = fraksi dengan kejenuhan 30 – 50 %

F<sub>4</sub> = fraksi dengan kejenuhan 50 – 70 %

## 2. Buah nanas

Tabel 2.4. Hasil penentuan kadar protein

No	fraksi	pengenceran	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Protein (mg/mL)
			A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	Ek	90x	0,113	0,114	0,1135	10,299
2	F <sub>1</sub>	50x	0,141	0,141	0,141	8,203
3	F <sub>2</sub>	80x	0,182	0,181	0,1815	18,974
4	F <sub>3</sub>	20x	0,172	0,172	0,172	4,400
5	F <sub>4</sub>	40x	0,207	0,206	0,2065	11,292

Tabel 2.5. Hasil penentuan kadar tirosin (10 kali pengenceran)

No	fraksi	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	Ek	0,103	0,102	0,1025	53,732
2	F <sub>1</sub>	0,101	0,101	0,101	51,858
3	F <sub>2</sub>	0,104	0,105	0,1045	56,232
4	F <sub>3</sub>	0,104	0,103	0,1035	54,982
5	F <sub>4</sub>	0,101	0,099	0,1000	50,608

Tabel 2.6. Hasil uji aktivitas spesifik setiap fraksi

No	Fraksi	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	aktivitas spesifik (U/mg)
1	Ek	5,373	10,299	0,521
2	F <sub>1</sub>	5,185	8,203	0,632
3	F <sub>2</sub>	5,623	18,974	0,296
4	F <sub>3</sub>	5,498	4,400	1,249
5	F <sub>4</sub>	5,060	11,292	0,448

### 3. Bonggol nanas

Tabel 2.7. Hasil penentuan kadar protein (50 kali pengenceran)

No	Fraksi	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	Ek	0,129	0,130	0,1295	7,166
2	F <sub>1</sub>	0,344	0,347	0,3455	26,660
3	F <sub>2</sub>	0,124	0,126	0,125	6,759
4	F <sub>3</sub>	0,185	0,185	0,185	12,175
5	F <sub>4</sub>	0,078	0,079	0,0785	2,563

Tabel 2.8. Hasil penentuan kadar tirosin (10 kali pengenceran)

No	Fraksi	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	Ek	0,101	0,111	0,1015*	52,483
2	F <sub>1</sub>	0,157	0,156	0,1565	121,211
3	F <sub>2</sub>	0,126	0,126	0,126	83,098
4	F <sub>3</sub>	0,123	0,123	0,123	79,349
5	F <sub>4</sub>	0,129	0,129	0,129	86,847

Tabel 2.9. Hasil uji aktivitas spesifik setiap fraksi

No	Fraksi	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1	Ek	5,248	7,166	0,732
2	F <sub>1</sub>	12,121	26,660	0,454
3	F <sub>2</sub>	8,309	6,759	1,229
4	F <sub>3</sub>	7,934	12,175	0,651
5	F <sub>4</sub>	8,684	2,563	3,388



Lampiran 3. Hasil penentuan waktu inkubasi optimum enzim bromelin kulit, bonggol dan buah nanas

1. Kulit nanas pada fraksi 3 (F<sub>3</sub>)

Tabel 3.1. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290$  nm

No	Waktu (menit)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	5	0,161	0,161	0,161	126,834
2	10	0,165	0,166	0,1655	132,457
3	15	0,152	0,153	0,1525	116,212
4	20	0,172	0,173	0,1725	141,204
5	25	0,171	0,170	0,1705	138,705

Tabel 3.2. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai waktu inkubasi

No	Waktu (menit)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	5	25,366	1,654
2	10	13,245	0,863
3	15	7,747	0,505
4	20	7,060	0,460
5	25	5,548	0,361

2. Buah nanas pada fraksi 3 (F<sub>3</sub>)

Tabel 3.3. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290$  nm

No	Waktu (menit)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	5	0,114	0,112	0,113	66,853
2	10	0,108	0,110	0,109	61,855
3	15	0,109	0,110	0,1095	62,480
4	20	0,119	0,121	0,120	75,600
5	25	0,108	0,109	0,1085	61,230

Tabel 3.4. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai waktu inkubasi

No	Waktu (Menit)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	5	13,370	3,038
2	10	6,185	1,405
3	15	4,165	0,946
4	20	3,780	0,859
5	25	2,449	0,556

Kadar protein = 4,40 mg/mL

### 3. Bonggol nanas fraksi 4 (F<sub>4</sub>)

Tabel 3.5. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290$  nm

No	Waktu (menit)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	5	0,132	0,132	0,132	90,596
2	10	0,129	0,130	0,1295	109,777
3	15	0,190	0,190	0,190	163,072
4	20	0,142	0,143	0,1425	103,716
5	25	0,173	0,172	0,1725	141,204

Tabel 3.6. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai waktu inkubasi

No	Waktu (Menit)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	5	18,119	7,069
2	10	10,977	4,282
3	15	10,871	4,241
4	20	5,185	2,023
5	25	5,648	2,203

Kadar protein = 2,563 mg/mL

Lampiran 4. Hasil penentuan suhu optimum enzim bromelin kulit, buah dan bonggol nanas

1. Enzim bromelin kulit nanas F<sub>3</sub> (waktu inkubasi 5 menit)

Tabel 4.1. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290$  nm

No	Suhu (°C)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	33	0,151	0,150	0,1505	113,713
2	35	0,146	0,148	0,147	109,340
3	37	0,148	0,149	0,1485	111,214
4	41	0,154	0,152	0,153	116,837
5	43	0,155	0,153	0,154	118,087

Tabel 4.2. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai suhu

No	Suhu (°C)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	33	22,742	1,483
2	35	21,868	1,426
3	37	22,242	1,450
4	41	23,367	1,524
5	43	23,617	1,540

Kadar protein = 15,333 mg/mL

2. Enzim bromelin bonggol nanas pada F<sub>4</sub> (waktu inkubasi 5 menit)

Tabel 4.3. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290$  nm

No	Suhu (°C)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	33	0,130	0,131	0,1305	88,721
2	35	0,133	0,133	0,133	91,845
3	37	0,130	0,131	0,1305	88,721
4	41	0,132	0,133	0,1325	91,220
5	43	0,124	0,124	0,124	80,599

Tabel 4.4. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai suhu

No	Suhu (°C)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	33	17,744	6,923
2	35	18,369	7,166
3	37	17,744	6,923
4	41	18,244	7,118
5	43	16,119	6,289

Kadar protein = 2,563 mg/mL

### 3. Enzim bromelin buah nanas F<sub>3</sub> (waktu inkubasi 5 menit)

Tabel 4.5. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290$  nm

No	Suhu (°C)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	33	0,130	0,131	0,1305	88,721
2	35	0,140	0,141	0,1405	101,217
3	37	0,115	0,116	0,1155	69,977
4	41	0,136	0,137	0,1365	96,219
5	43	0,126	0,125	0,1255	82,473

Tabel 4.6. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai suhu

No	Suhu (°C)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	33	17,744	4,032
2	35	20,243	4,600
3	37	13,495	3,180
4	41	19,243	4,417
5	43	16,494	3,748

Kadar protein = 4,40 mg/mL

Lampiran 5. Hasil penentuan pH optimum enzim bromelin kulit, buah dan bonggol nanas

1. Enzim Bromelin Kulit Nanas Pada F3 (T= 5 menit, Suhu 43°C)

Tabel 5.1. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290 \text{ nm}$

No	pH	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu \text{ mol/mL}$ )
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	6,0	0,139	0,140	0,1395	99,968
2	6,5	0,132	0,132	0,132	90,596
3	7,0	0,131	0,131	0,131	89,346
4	7,5	0,130	0,131	0,1305	88,721
5	8,0	0,159	0,160	0,1595	124,960

Tabel 5.2. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai pH

No	pH	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	6,0	19,993	1,303
2	6,5	18,119	1,181
3	7,0	17,669	1,152
4	7,5	17,744	1,157
5	8,0	24,992	1,629

Kadar protein = 15,333 mg/mL

2. Enzim bromelin bonggol nanas F<sub>4</sub> (T= 5 menit, suhu 35 °C)

Tabel 5.3. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290 \text{ nm}$

No	pH	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu \text{ mol/mL}$ )
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	6,0	0,133	0,134	0,1335	92,470
2	6,5	0,130	0,131	0,1305	88,721
3	7,0	0,130	0,129	0,1295	87,472
4	7,5	0,128	0,127	0,1275	84,972
5	8,0	0,130	0,129	0,1295	87,474

Tabel 5.4. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai pH

No	pH	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	6,0	18,494	7,215
2	6,5	17,744	6,923
3	7,0	17,494	6,825
4	7,5	16,994	6,630
5	8,0	17,494	6,825

Kadar protein = 2,563 mg/mL

3. Enzim bromelin buah nenas pada F<sub>3</sub> (T = 5 menit, suhu = 35 °C)Tabel 5.5. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290$  nm

No	pH	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu$ mol/mL)
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	6,0	0,148	0,149	0,1485	111,214
2	6,5	0,156	0,155	0,1555	119,961
3	7,0	0,150	0,150	0,150	113,088
4	7,5	0,142	0,144	0,143	104,341
5	8,0	0,145	0,144	0,1445	106,216

Tabel 5.6. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai pH

No	pH	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	6,0	22,242	5,055
2	6,5	23,992	5,452
3	7,0	22,617	5,140
4	7,5	20,868	4,742
5	8,0	21,243	4,827

Kadar protein = 4,40 mg/mL

Lampiran 6. Hasil penentuan waktu inkubasi optimum enzim bromelin bonggol nanas amobil (F<sub>4</sub>)

Tabel 6.1. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290 \text{ nm}$

No	waktu (menit)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu \text{ mol/mL}$ )
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	5	0,126	0,126	0,126	83,098
2	10	0,117	0,117	0,117	71,852
3	15	0,123	0,123	0,123	79,344
4	20	0,122	0,123	0,1225	78,724
5	25	0,123	0,124	0,1235	79,974

Tabel 6.2. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai waktu inkubasi

No	Waktu (Menit)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	5	16,619	6,484
2	10	7,185	2,803
3	15	5,289	2,063
4	20	3,936	1,535
5	25	3,198	1,247

Kadar protein = 2,563 mg/mL

Lampiran 7. Hasil penentuan suhu optimum enzim bromelin bonggol nanas amobil pada F<sub>4</sub> (waktu inkubasi 5 menit)

Tabel 7.1. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290 \text{ nm}$

No	Suhu (°C)	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu \text{ mol/mL}$ )
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	33	0,133	0,133	0,133	91,845
2	35	0,132	0,131	0,1315	89,971
3	37	0,131	0,130	0,1305	88,721
4	41	0,131	0,131	0,131	89,346
5	43	0,131	0,132	0,1315	89,971

Tabel 7.2. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai suhu

No	Suhu (°C)	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	33	18,369	7,166
2	35	17,994	7,020
3	37	17,744	6,923
4	41	17,869	6,971
5	43	17,994	7,020

Kadar protein = 2,563 mg/mL



Lampiran 8. Hasil penentuan pH optimum enzim bromelin bonggol nanas amobil pada F<sub>4</sub> (waktu inkubasi 5 menit, suhu 33 °C)

Tabel 8.1. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda = 290 \text{ nm}$

No	pH	Absorbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu \text{ mol/mL}$ )
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>		
1	6,0	0,133	0,133	0,133	91,845
2	6,5	0,134	0,133	0,1335	92,470
3	7,0	0,133	0,133	0,133	91,845
4	7,5	0,130	0,131	0,1305	88,721
5	8,0	0,130	0,129	0,1295	87,472

Tabel 8.2. Hasil uji aktivitas spesifik pada berbagai pH

No	pH	Unit Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	6,0	18,369	7,166
2	6,5	18,494	7,215
3	7,0	18,369	7,166
4	7,5	17,744	6,923
5	8,0	17,494	6,825

Kadar protein = 2,563 mg/mL

Lampiran 9. Hasil penentuan stabilitas enzim bromelin bonggol nanas amobil  
pada kondisi optimum

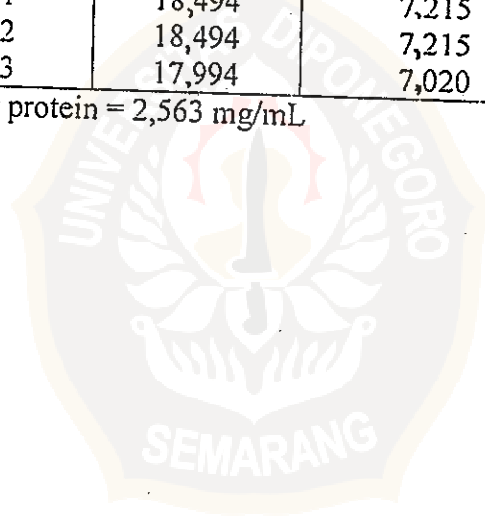
Tabel 9.1. Hasil penentuan kadar tirosin pada  $\lambda$  290 nm

Pemakaian ke	Aborbansi		Absorbansi rata-rata	Tirosin ( $\mu\text{mol/mL}$ )
	A1	A2		
1	0,133	0,134	0,1335	92,470
2	0,134	0,133	0,1335	92,470
3	0,131	0,132	0,1315	89,971

Tabel 9.2. Hasil uji aktivitas spesifik untuk beberapa kali pemakaian

Pemakaian ke	Unit aktivitas (U/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1	18,494	7,215
2	18,494	7,215
3	17,994	7,020

Kadar protein = 2,563 mg/mL



Lampiran 10. Tabel Pembuatan Buffer Fosfat.

Larutan A: 0.2 M Larutan natrium fosfat monobasis (27.4 g dalam 1000 ml)

Larutan B: 0.2 M Larutan natrium fosfat dibasis (60.4 g dalam 1000 ml)

X ml larutan A + Y ml larutan B, diencerkan sampai 200 ml

Tabel 10.1. Perbandingan volume larutan X dan larutan Y (larutan natrium fosfat monobasis dan larutan natrium fosfat dibasis).

X(ml)	Y (ml)	pH
87,7	12,3	6,0
68,5	31,5	6,5
39,0	61,0	7,0
16,0	84,0	8,0

Lampiran 11. Rumus Kecepatan Rotor Sentrifugasi.

$$RCF = \frac{S^2 r}{89.500}$$

Keterangan:

RCF = Relative Centrifugal Force (g)

r = Jari-jari (Cm)

S = Kecepatan rotasi rotor (rpm)