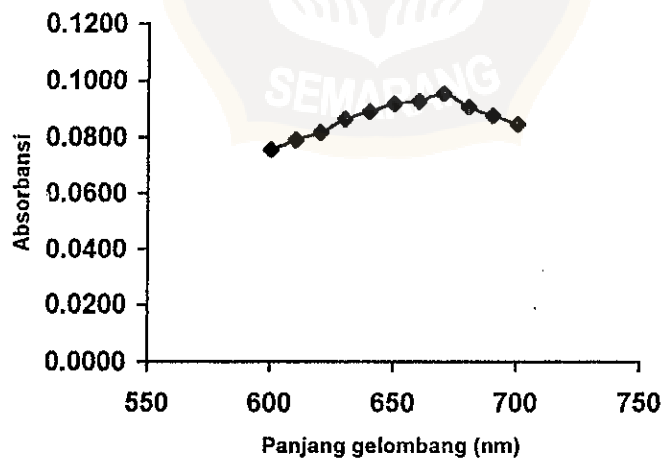


LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum (λ_{Opt}), Kurva Standar dan Rumus Kurva Standar untuk Glukosa.

Tabel 1.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum (λ_{opt} Larutan Standar Glukosa)

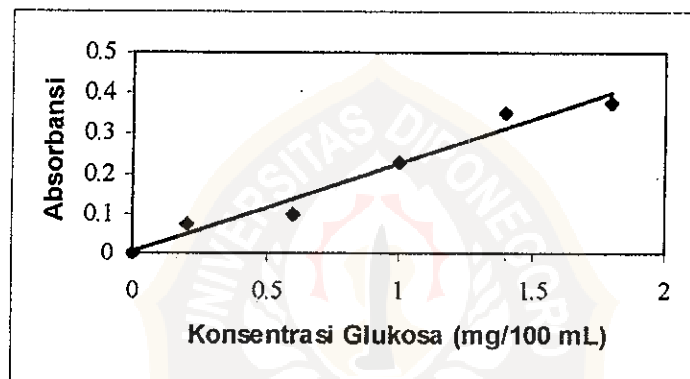
No	Panjang Gelombang (λ) (nm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
		A ₁	A ₂	A ₃	
1.	600	0,076	0,076	0,076	0,0760
2.	610	0,079	0,079	0,080	0,0793
3.	620	0,082	0,082	0,082	0,0820
4.	630	0,086	0,088	0,086	0,0866
5.	640	0,087	0,091	0,090	0,0893
6.	650	0,092	0,092	0,092	0,0920
7.	660	0,093	0,093	0,093	0,0930
8.	670	0,095	0,096	0,096	0,0956
9.	680	0,093	0,090	0,090	0,0910
10.	690	0,089	0,087	0,087	0,0880
11.	700	0,085	0,085	0,085	0,0850



Grafik 1.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Glukosa

Tabel 1.2. Hasil Penentuan Kurva Standar Glukosa

No	Konsentrasi (mg/100 mL)	Absorbansi (670 nm)			Absorbansi Rata-rata
		A ₁	A ₂	A ₃	
1.	0,0	0	0	0	0
2.	0,2	0,074	0,073	0,075	0,074
3.	0,6	0,096	0,110	0,098	0,1013
4.	1,0	0,220	0,230	0,230	0,2266
5.	1,4	0,353	0,352	0,352	0,3523
6.	1,8	0,378	0,376	0,375	0,3763



Grafik 1.2. Hasil Penentuan Kurva Standar Glukosa

Hasil penentuan Rumus Kurva Standar Glukosa pada panjang gelombang 670 nm secara grafik dengan sumbu y sebagai absorbansi dan sumbu x sebagai konsentrasi. Diperoleh rumus kurva standar sebagai berikut:

$$Y = 0,2180X + 0,00675$$

Keterangan: 0,2180 = slope

0,00675 = intersep

Sehingga untuk menentukan kadar glukosa digunakan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{Y - 0,00675}{0,2180} \times \frac{V_{tot}}{V_{enz}} \times \frac{V_{smp}}{V_{anls}} \times \frac{1}{180} \times \frac{1000}{100}$$

Di mana: X = Konsentrasi glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)

Y = Absorbansi

V_{tot} = Volume substrat, enzim, dan bufer (5 mL)

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

V_{smp} = Volume sampel (5 mL)

V_{anls} = Volume analisa (0,1 mL)

Contoh: Penentuan kadar glukosa dan penentuan aktivitas spesifik enzim.

Pada pengukuran absorbansi diperoleh $Y = 0,0283$

Sehingga jika dimasukkan ke dalam persamaan:

$$X = \frac{Y - 0,00675}{0,2180} \times \frac{V_{tot}}{V_{enz}} \times \frac{V_{smp}}{V_{anls}} \times \frac{1}{180} \times \frac{1000}{100}, \text{ diperoleh:}$$

$$X = \frac{0,0283 - 0,00675}{0,2180} \times \frac{V_{tot}}{V_{enz}} \times \frac{V_{smp}}{V_{anls}} \times \frac{1}{180} \times \frac{1000}{100}$$

$$X = 13,7296 \mu\text{mol/mL}$$

Penentuan aktivitas spesifik enzim, jika diketahui kadar protein enzim adalah 0,8688 mg/mL yaitu:

$$\text{Aktivitas spesifik enzim} = \frac{\text{jumlah unit glukosa}}{\text{kadar protein enzim}} \text{ U/mg protein}$$

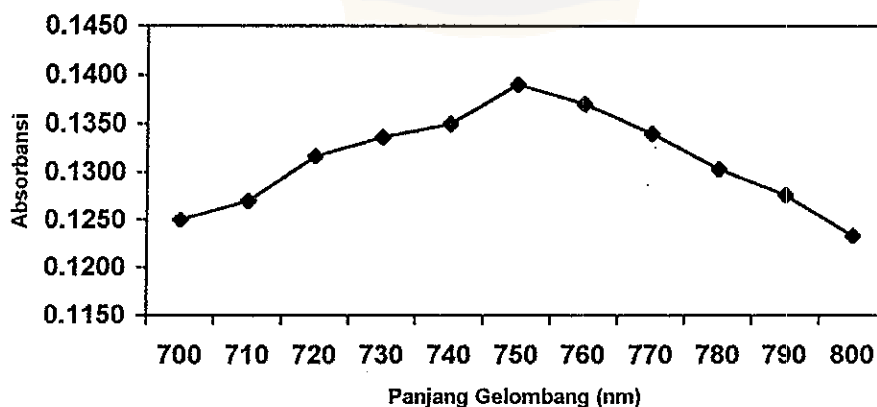
$$\text{Aktivitas spesifik enzim} = \frac{13,7296 \mu\text{mol.mL}^{-1}}{0,8688 \text{ mg.mL}^{-1}} = 15,80 \text{ U/mg protein}$$

$$\text{Aktivitas spesifik enzim} = \frac{13,7296 \mu\text{mol.mL}^{-1}}{0,8688 \text{ mg.mL}^{-1}} = 15,80 \text{ U/mg protein}$$

Lampiran 2. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum (λ_{Opt}), Kurva Standar dan Rumus Kurva Standar Kasein

Tabel 2.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Kasein

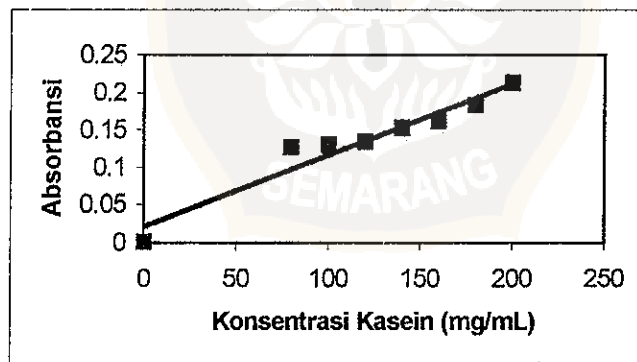
No	Panjang Gelombang (λ) (nm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
		A ₁	A ₂	A ₃	
1.	700	0,125	0,125	0,125	0,1250
2.	710	0,127	0,127	0,127	0,1270
3.	720	0,131	0,131	0,132	0,1316
4.	730	0,133	0,133	0,134	0,1336
5.	740	0,135	0,135	0,135	0,1350
6.	750	0,139	0,139	0,139	0,1390
7.	760	0,137	0,137	0,137	0,1370
8.	770	0,134	0,134	0,134	0,1340
9.	780	0,130	0,130	0,131	0,1303
10.	790	0,128	0,128	0,127	0,1276
11.	800	0,123	0,123	0,124	0,1233



Grafik 2.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum (λ_{Opt}) Larutan Standar Kasein

Tabel 2.2. Hasil Penentuan Kurva Standar Kasein

No.	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi (750 nm)			Absorbansi Rata-rata
		A ₁	A ₂	A ₃	
1.	0	0	0	0	0
2.	80	0,127	0,127	0,126	0,1266
3.	100	0,130	0,130	0,130	0,1300
4.	120	0,135	0,134	0,135	0,1346
5.	140	0,153	0,152	0,152	0,1523
6.	160	0,162	0,162	0,161	0,1616
7.	180	0,183	0,182	0,182	0,1823
8.	200	0,212	0,212	0,213	0,2123



Grafik 2.2. Hasil Penentuan Kurva Standar Kasein

Hasil penentuan rumus kurva standar kasein pada panjang gelombang 750 nm secara grafik dengan sumbu Y sebagai absorbansi dan sumbu X sebagai konsentrasi.

Diperoleh rumus kurva standar protein sebagai berikut:

$$Y = 0,000953X + 0,02072$$

Keterangan: 0,000953 = slope

0,02072 = intersep

Sehingga untuk menentukan kadar protein digunakan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{Y - 0,02072}{0,000953} \times fp$$

Keterangan: X = konsentrasi protein enzim (mg/mL)

Y = absorbansi

fp = faktor pengenceran

Contoh: Penentuan kadar protein enzim α -amilase

Pengukuran absorbansi diperoleh Y = 0,0290

Jika dimasukkan ke dalam persamaan $X = \frac{Y - 0,02072}{0,000953} \times fp$

dengan fp = 100, akan diperoleh: $X = \frac{0,0290 - 0,02072}{0,000953} \times 100$

$$X = 0,8688 \text{ mg/mL}$$

Lampiran 3. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim α -Amilase dengan Penambahan Asam Askorbat, Asam Fitat dan Asam Oksalat

Tabel 3.1. Hasil Penentuan Kadar Glukosa Enzim (pH = 6,1, T = 65°C, Waktu Inkubasi = 30 menit) melalui Variasi Konsentrasi Askorbat dengan Substrat Amilum 1%

No	Konsentrasi Askorbat (mM)	Absorbansi (670 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi Kontrol	As-Ak	Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1.	0,0	0,182	0,181	0,181	0,1813	0,153	0,0283	13,7296
2.	0,2	0,166	0,167	0,167	0,1666	0,146	0,0206	8,8239
3.	0,6	0,152	0,153	0,153	0,1526	0,133	0,0196	8,1868
4.	1,0	0,147	0,148	0,148	0,1476	0,129	0,0186	7,5497
5.	1,4	0,136	0,136	0,136	0,1360	0,119	0,0170	6,5303
6.	1,8	0,125	0,124	0,124	0,1243	0,108	0,0163	6,0843
7.	2,2	0,119	0,118	0,119	0,1186	0,104	0,0146	5,0013
8.	2,6	0,111	0,110	0,110	0,1103	0,097	0,0133	4,1730
9.	3,0	0,104	0,104	0,104	0,1040	0,092	0,0120	3,3448

Tabel 3.2. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim melalui Variasi Konsentrasi Asam Askorbat

No.	Konsentrasi (mM)	Unit Aktivitas (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg protein)	% Inhibisi
1.	0,0	13,7296	0,8688	15,80	-
2.	0,2	8,8239	0,8688	10,16	35,73
3.	0,6	8,1868	0,8688	9,42	40,37
4.	1,0	7,5497	0,8688	8,69	45,01
5.	1,4	6,5303	0,8688	7,52	52,44
6.	1,8	6,0843	0,8688	7,01	55,68
7.	2,2	5,0013	0,8688	5,76	63,57
8.	2,6	4,1730	0,8688	4,80	69,61
9.	3,0	3,3448	0,8688	3,85	75,64

Tabel 3.3. Hasil Penentuan Kadar Glukosa Enzim (pH = 6,1, T = 65°C, Waktu Inkubasi = 30 menit) melalui Variasi Konsentrasi Fitat dengan Substrat Amilum 1%

No	Konsentrasi Askorbat (mM)	Absorbansi (670 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi Kontrol	As-Ak	Glukosa (µmol/mL)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1.	0,0	0,242	0,242	0,243	0,2423	0,219	0,0233	12,5069
2.	0,5	0,207	0,207	0,207	0,2070	0,189	0,0180	7,8715
3.	1,0	0,192	0,192	0,192	0,1920	0,176	0,0160	6,1223
4.	1,5	0,177	0,177	0,178	0,1773	0,162	0,0153	5,5101
5.	2,0	0,161	0,162	0,161	0,1613	0,147	0,0143	4,6354
6.	2,5	0,154	0,155	0,155	0,1546	0,141	0,0136	4,0232
7.	3,0	0,143	0,143	0,143	0,1430	0,131	0,0120	2,6238
8.	3,5	0,137	0,136	0,137	0,1366	0,125	0,0116	2,2739
9.	4,0	0,117	0,118	0,117	0,1173	0,107	0,0103	1,1427
10.	4,5	0,105	0,106	0,105	0,1056	0,099	0,0066	-
11.	5,0	0,102	0,101	0,101	0,1013	0,093	0,0083	-

Tabel 3.4. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim melalui Variasi Konsentrasi Asam Fitat

No.	Konsentrasi (mM)	Unit Aktivitas (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg protein)	% Inhibisi
1.	0,0	12,5069	0,8688	14,39	-
2.	0,5	7,8715	0,8688	9,06	37,06
3.	1,0	6,1223	0,8688	7,05	51,05
4.	1,5	5,5101	0,8688	6,34	55,94
5.	2,0	4,6354	0,8688	5,34	62,94
6.	2,5	4,0232	0,8688	4,63	67,83
7.	3,0	2,6238	0,8688	3,02	79,02
8.	3,5	2,2739	0,8688	2,62	81,82
9.	4,0	1,1427	0,8688	1,32	90,86
10.	4,5	-	0,8688	-	-
11.	5,0	-	0,8688	-	-

Tabel 3.5. Hasil Penentuan Kadar Glukosa Enzim (pH = 6,1, T = 65 °C, Waktu Inkubasi = 30 menit) melalui Variasi Konsentrasi Oksalat dengan Substrat Amilum 1%

No	Konsentrasi Askorbat (mM)	Absorbansi (670 nm)			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi Kontrol	As-A ₃	Glukosa (µmol/ml.)
		A ₁	A ₂	A ₃				
1.	0,0	0,198	0,199	0,199	0,1986	0,181	0,0176	13,6015
2.	0,5	0,172	0,171	0,172	0,1716	0,157	0,0146	10,5219
3.	1,0	0,164	0,163	0,163	0,1633	0,149	0,0143	10,2139
4.	1,5	0,156	0,156	0,156	0,1560	0,143	0,0130	8,8794
5.	2,0	0,144	0,144	0,145	0,1443	0,132	0,0123	8,1609
6.	2,5	0,136	0,137	0,137	0,1366	0,126	0,0106	6,4158
7.	3,0	0,131	0,130	0,130	0,1303	0,120	0,0103	6,1078
8.	3,5	0,126	0,125	0,126	0,1256	0,117	0,0086	4,3627
9.	4,0	0,120	0,120	0,120	0,1200	0,112	0,0080	3,7468
10.	4,5	0,112	0,113	0,113	0,1113	0,106	0,0053	0,9752
11.	5,0	0,104	0,104	0,103	0,1036	0,101	0,0026	-

Tabel 3.6. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim melalui Variasi Konsentrasi Asam Oksalat

No.	Konsentrasi (mM)	Unit Aktivitas (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg protein)	% Inhibisi
1.	0,0	13,6015	0,8688	15,66	-
2.	0,5	10,5219	0,8688	12,11	22,64
3.	1,0	10,2139	0,8688	11,75	24,91
4.	1,5	8,8794	0,8688	10,22	34,72
5.	2,0	8,1609	0,8688	9,39	40,00
6.	2,5	6,4158	0,8688	7,38	52,83
7.	3,0	6,1078	0,8688	7,03	55,09
8.	3,5	4,3627	0,8688	5,02	67,93
9.	4,0	3,7468	0,8688	4,31	72,45
10.	4,5	0,9752	0,8688	1,12	92,83
11.	5,0	-	0,8688	-	-

Lampiran 4. Pembuatan Bufer Fosfat

Larutan A: 0,2 M Larutan Natrium fosfat monobasis (27,89 g dalam 1000 mL)

Larutan B: 0,2 M Larutan Natrium fosfat dibasis (52,65 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ atau
71,79 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 mL)

X mL Larutan A dicampur dengan Y mL larutan B, kemudian diencerkan
hingga 200 mL

X	Y	pH	X	Y	pH
93,5	6,5	5,7	45,0	45,0	6,9
92,0	8,0	5,8	39,0	61,0	7,0
90,0	10,0	5,9	32,0	67,0	7,1
87,7	12,3	6,0	28,0	72,0	7,2
85,0	15,0	6,1	23,0	77,0	7,3
81,5	18,5	6,2	19,0	81,0	7,4
77,5	22,5	6,3	16,0	84,0	7,5
73,5	26,5	6,4	13,0	87,0	7,6
68,5	31,5	6,5	10,5	89,5	7,7
62,5	37,5	6,6	8,5	91,5	7,8
56,5	43,5	6,7	7,0	93,0	7,9
51,0	49,0	6,8	5,3	94,7	8,0

Lampiran 5. Daftar Kebutuhan Amonium Sulfat

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

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