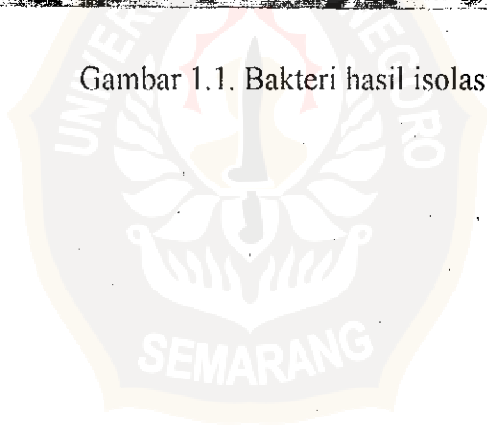


## LAMPIRAN

Lampiran 1. Bakteri hasil isolasi dari sumber air panas Plantungan, Kendal



Gambar 1.1. Bakteri hasil isolasi



Lampiran 2. Hasil penentuan  $\lambda$  optimum, kurva standar dan rumus kurva standar kasein.

Tabel 2.1. Hasil penentuan  $\lambda$  optimum larutan kasein.

No.	$\lambda$	A	No.	$\lambda$	A
1	660	0,279	13	<b>720</b>	<b>0,402</b>
2	665	0,287	14	725	0,385
3	670	0,293	15	730	0,377
4	675	0,296	16	735	0,37
5	680	0,306	17	740	0,366
6	685	0,31	18	745	0,358
7	690	0,311	19	750	0,355
8	695	0,325	20	755	0,301
9	700	0,339	21	760	0,283
10	705	0,342	22	765	0,258
11	710	0,359	23	770	0,204
12	715	0,36	24	775	0,196
			25	780	0,172

Keterangan :  $\lambda$  = panjang gelombang (nm)

A = Absorbansi

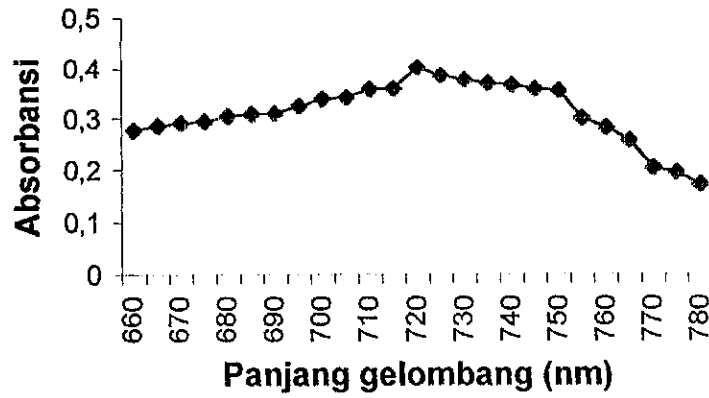
Tabel 2.2. Hasil penentuan kurva standar kasein pada  $\lambda = 720$  nm

No.	C	A1	A2	A3	Ar
1	<b>0,06</b>	0,029	0,029	0,026	<b>0,028</b>
2	<b>0,12</b>	0,077	0,078	0,071	<b>0,075</b>
3	<b>0,18</b>	0,157	0,157	0,156	<b>0,157</b>
4	<b>0,24</b>	0,161	0,158	0,167	<b>0,162</b>
5	<b>0,30</b>	0,183	0,188	0,187	<b>0,186</b>

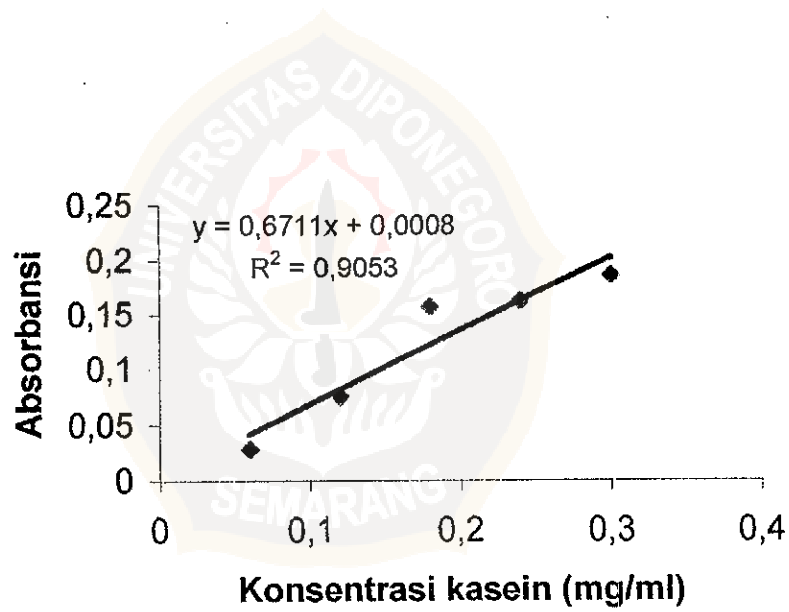
Keterangan : C = Konsentrasi (mg/mL)

A1, A2, A3 = Absorbansi

Ar = Absorbansi rata-rata



Grafik 2.1. Hasil penentuan  $\lambda$  optimum kasein



Grafik 2.2. Hasil penentuan kurva standar kasein

Lampiran 3. Hasil penentuan  $\lambda$  optimum, kurva standar, rumus kurva standar BSA dan penentuan kadar protein tiap fraksi

Tabel 3.1. Hasil penentuan  $\lambda$  optimum larutan BSA

No.	$\lambda$	A	No.	$\lambda$	A
1	570	0,365	11	620	0,477
2	575	0,377	12	625	0,452
3	580	0,382	13	630	0,449
4	585	0,397	14	635	0,427
5	590	0,405	15	640	0,402
6	595	0,411	16	645	0,398
7	600	0,421	17	650	0,372
8	605	0,437	18	655	0,365
9	610	0,452	19	660	0,357
10	615	0,465	20	665	0,35
			21	670	0,343

Keterangan :  $\lambda$  = panjang gelombang (nm)

A = Absorbansi

Tabel 3.2. Hasil penentuan kurva standar BSA pada  $\lambda = 620$  nm

C ( mg/ml)	A1	A2	A3
0,06	0,084	0,084	0,085
0,12	0,119	0,12	0,119
0,18	0,157	0,157	0,159
0,24	0,186	0,189	0,179
0,3	0,208	0,21	0,208

C ( mg/ml)	A1''	A2''	A3''	Ar
0,06	0,42	0,42	0,425	0,421667
0,12	0,595	0,6	0,595	0,596667
0,18	0,785	0,785	0,795	0,788333
0,24	0,93	0,945	0,895	0,923333
0,3	1,04	1,05	1,04	1,043333

Keterangan : C = Konsentrasi (mg/mL)

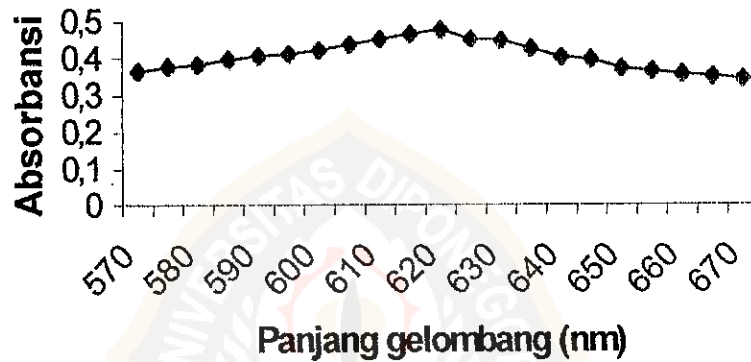
A1, A2, A3 = Absorbansi

A1'', A2'', A3'' = Absorbansi setelah pengenceran

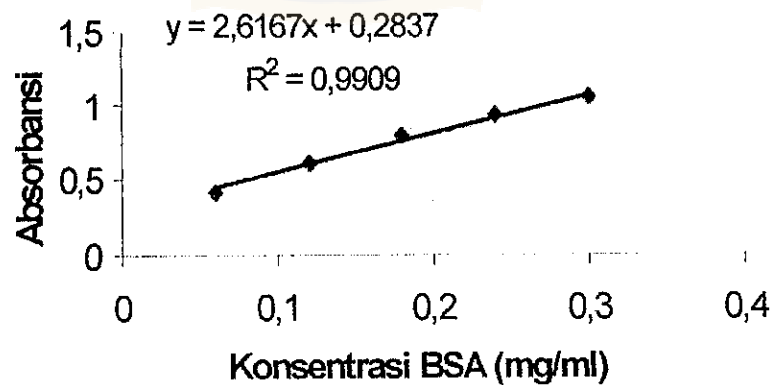
Ar = Absorbansi rata-rata

Tabel 3.4. Hasil penentuan kadar protein tiap fraksi.

Fraksi	1	2	3	A	Ap	Pengenceran	Kadar protein (mg)
EK	0,465	0,467	0,463	0,465	2,325	5 kali	0,780
FI	0,274	0,276	0,272	0,274	1,370	5 kali	0,415
FII	0,179	0,184	0,181	0,181	0,905	5 kali	0,237
FIII	0,211	0,213	0,211	0,212	1,060	5 kali	0,297
FIV	0,220	0,223	0,227	0,223	1,115	5 kali	0,318
FV	0,080	0,082	0,082	0,081	0,810	10 kali	0,201



Grafik 3.1. Hasil penentuan  $\lambda$  optimum BSA



Grafik 3.2. Hasil penentuan kurva standar BSA

#### Lampiran 4. Penentuan Aktivitas Enzim

Tabel 4.1. Data absorbansi tiap fraksi untuk penentuan aktivitas

Fraksi	As			As	Ak			Ak	Ak-As
	1	2	3		1	2	3		
EK	0,130	0,133	0,136	<b>0,133</b>	0,159	0,160	0,157	<b>0,159</b>	<b>0,026</b>
F <sub>I</sub>	0,070	0,068	0,069	<b>0,069</b>	0,102	0,103	0,105	<b>0,103</b>	<b>0,034</b>
F <sub>II</sub>	0,049	0,048	0,049	<b>0,049</b>	0,073	0,075	0,074	<b>0,074</b>	<b>0,025</b>
F <sub>III</sub>	0,041	0,038	0,039	<b>0,039</b>	0,063	0,064	0,064	<b>0,064</b>	<b>0,025</b>
F <sub>IV</sub>	0,042	0,042	0,043	<b>0,042</b>	0,069	0,068	0,069	<b>0,069</b>	<b>0,027</b>
F <sub>V</sub>	0,053	0,050	0,052	<b>0,052</b>	0,067	0,068	0,067	<b>0,067</b>	<b>0,015</b>

Keterangan : As = Absorbansi sampel

Ak = Absorbansi kontrol

Tabel 4.2. Hasil penentuan aktivitas enzim protease tiap fraksi

No.	Fraksi	Absorbansi (Ak-As)	Aktivitas (Unit/mL)
1	EK	0,026	41,73
2	F <sub>I</sub>	0,034	54,98
3	F <sub>II</sub>	0,025	40,08
4	F <sub>III</sub>	0,025	40,08
5	F <sub>IV</sub>	0,027	43,39
6	F <sub>V</sub>	0,015	23,52

$$\text{Aktivitas (Unit)} = \frac{y - 0,0008}{0,6711} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{enzim}}} \times \frac{1000}{\text{Waktu inkubasi}}$$

$$V_{\text{total}} = V_{\text{enzim}} + V_{\text{substrat}} + V_{\text{buffer}} + \text{TCA} = 5 \text{ ml}$$

$$V_{\text{enzim}} = 0,3 \text{ ml}$$

$$\text{Waktu inkubasi} = 15 \text{ menit}$$

Tabel 4.3. Hasil penentuan aktivitas spesifik tiap fraksi

Fraksi	Aktivitas (Unit/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg)
EK	41,73	0,780	53,50
F <sub>I</sub>	54,98	0,415	132,48
F <sub>II</sub>	40,08	0,237	169,11
F <sub>III</sub>	40,08	0,297	134,95
F <sub>IV</sub>	43,39	0,318	136,45
F <sub>V</sub>	23,52	0,201	117,01

Keterangan :

EK = Ekstrak kasar

F<sub>I</sub> = fraksi 1 (kejenuhan 0 – 20 %)

F<sub>II</sub> = fraksi 2 (kejenuhan 20 - 40 %)

F<sub>III</sub> = fraksi 3 (kejenuhan 40 – 60 %)

F<sub>IV</sub> = fraksi 4 (kejenuhan 60 – 80 %)

F<sub>V</sub> = fraksi 5 (kejenuhan 80 – 100 %)

Lampiran 5. Karakterisasi Protcase

Lampiran 5.1. Penentuan Aktivitas Spesifik Protease pada berbagai pH

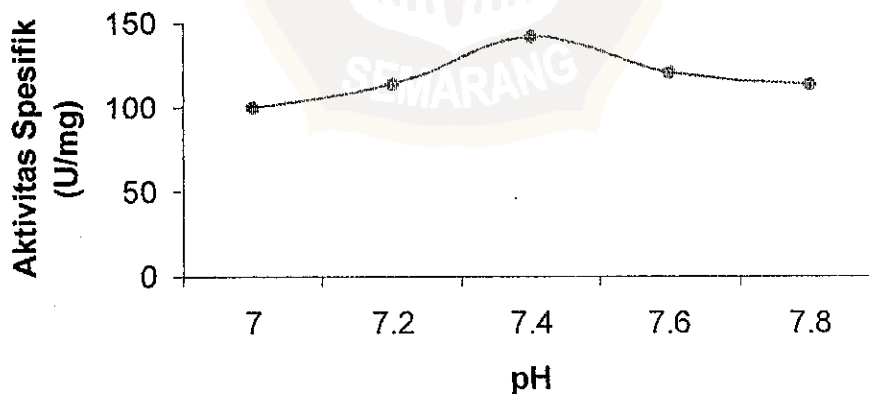
Tabel 5.1.1. Hasil penentuan absorbansi pada berbagai pH

pH	As			As	Ak			Ak	Ak-As
	1	2	3		1	2	3		
7,0	0,073	0,075	0,078	<b>0,075</b>	0,058	0,058	0,063	<b>0,060</b>	<b>0,015</b>
7,2	0,080	0,084	0,085	<b>0,083</b>	0,065	0,066	0,069	<b>0,066</b>	<b>0,017</b>
7,4	0,091	0,087	0,089	<b>0,089</b>	0,068	0,070	0,067	<b>0,068</b>	<b>0,021</b>
7,6	0,072	0,073	0,075	<b>0,073</b>	0,055	0,055	0,054	<b>0,055</b>	<b>0,018</b>
7,8	0,079	0,078	0,079	<b>0,079</b>	0,063	0,062	0,062	<b>0,062</b>	<b>0,017</b>

Tabel 5.1.2. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Protease pada berbagai pH

pH	Absorbansi	Aktivitas (Unit/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg)
7,0	0,015	23,52	100,08
7,2	0,017	26,83	114,17
7,4	0,021	33,45	142,34
7,6	0,018	28,48	121,19
7,8	0,017	26,83	114,17

Kadar protein enzim = 0,235 mg/mL



Grafik 5.1.1. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Protease pada berbagai pH



Lampiran 5.2. Penentuan Aktivitas Spesifik Protease pada berbagai Temperatur

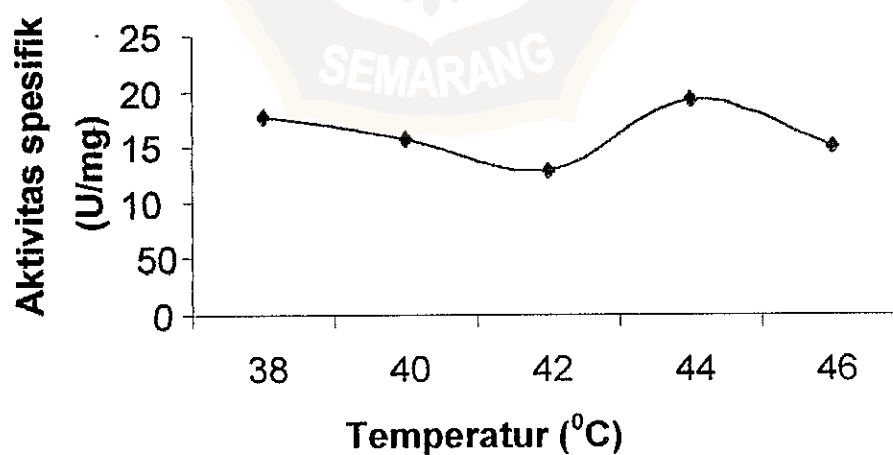
Tabel 5.2.1. Hasil penentuan absorbansi pada berbagai temperatur

T	As			As	Ak			Ak	Ak-As
	1	2	3		1	2	3		
38	0,082	0,082	0,085	<b>0,083</b>	0,056	0,057	0,058	<b>0,057</b>	<b>0,026</b>
40	0,082	0,087	0,086	<b>0,085</b>	0,062	0,063	0,062	<b>0,062</b>	<b>0,023</b>
42	0,090	0,090	0,090	<b>0,090</b>	0,073	0,071	0,070	<b>0,071</b>	<b>0,019</b>
44	0,099	0,100	0,099	<b>0,099</b>	0,072	0,071	0,071	<b>0,071</b>	<b>0,028</b>
46	0,090	0,091	0,093	<b>0,091</b>	0,072	0,069	0,067	<b>0,069</b>	<b>0,022</b>

Tabel 5.2.2. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Protease berbagai Temperatur

T (°C)	Absorbansi	Aktivitas (Unit/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg)
38	0,026	41,73	177,57
40	0,023	36,76	156,43
42	0,019	30,14	128,25
44	0,028	45,04	191,66
46	0,022	35,11	149,40

Kadar protein enzim = 0,235 mg/ml.



Grafik 5.2.1. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Protease berbagai Temperatur

Lampiran 5.3. Penentuan Aktivitas Spesifik Protease berbagai Waktu Inkubasi

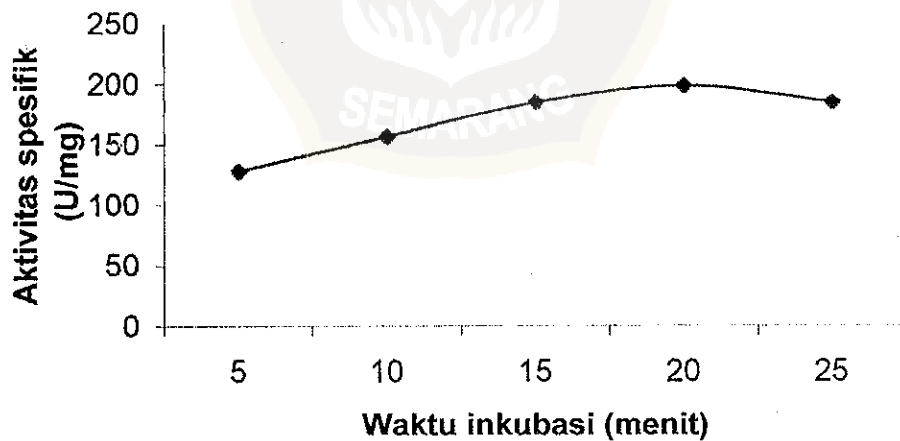
Tabel 5.3.1. Hasil penentuan absorbansi pada berbagai waktu inkubasi

$t_{\text{inkubasi}}$	As			As	Ak			Ak	Ak-As
	1	2	3		1	2	3		
5	0,072	0,077	0,078	<b>0,076</b>	0,057	0,057	0,056	<b>0,057</b>	<b>0,019</b>
10	0,075	0,082	0,081	<b>0,079</b>	0,058	0,056	0,057	<b>0,056</b>	<b>0,023</b>
15	0,091	0,087	0,087	<b>0,088</b>	0,059	0,060	0,063	<b>0,061</b>	<b>0,027</b>
20	0,092	0,090	0,091	<b>0,091</b>	0,062	0,062	0,063	<b>0,062</b>	<b>0,029</b>
25	0,083	0,085	0,089	<b>0,086</b>	0,061	0,059	0,057	<b>0,059</b>	<b>0,027</b>

Tabel 5.3.2. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Protease berbagai Waktu Inkubasi

$t_{\text{inkubasi}}$ (menit)	Absorbansi	Aktivitas (Unit/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg)
5	0,019	30,14	128,25
10	0,023	36,76	156,43
15	0,027	43,39	184,64
20	0,029	46,70	198,72
25	0,027	43,39	184,64

Kadar protein enzim = 0,235 mg/mL



Grafik 5.3.1. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Protease pada berbagai Waktu Inkubasi

Lampiran 6. Daftar kebutuhan Amonium Sulfat untuk Fraksinasi

Tabel 6.1. Jumlah penambahan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dalam gram/liter larutan enzim pada konsentrasi yang berbeda

Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	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	104	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