

Lampiran 1. Hasil kurva pertumbuhan bakteri termofilik

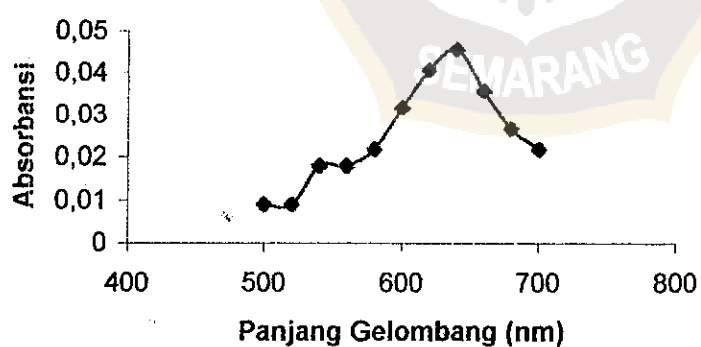
Tabel 1. Hasil kurva pertumbuhan bakteri termofilik

Waktu (jam)	Log Jumlah Sel Hidup
0	0,004
2	0,002
4	0,698
6	1,15
8	1,52
10	1,52
12	1,69
14	1,52
16	1,39
18	1,3
20	1,39
22	1,52
24	1,52
26	1,39
28	1,52
30	1,69
32	1,52
34	1,39
36	1,39
38	1,3
40	1,3
42	1,39
44	1,3
46	1,22
48	1,15

LAMPIRAN 2. Penentuan panjang gelombang optimum larutan standard kasein

Tabel 2. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar kasein

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
500	0,009
520	0,009
540	0,018
560	0,018
580	0,022
600	0,032
620	0,041
640	0,046
660	0,036
680	0,027
700	0,022

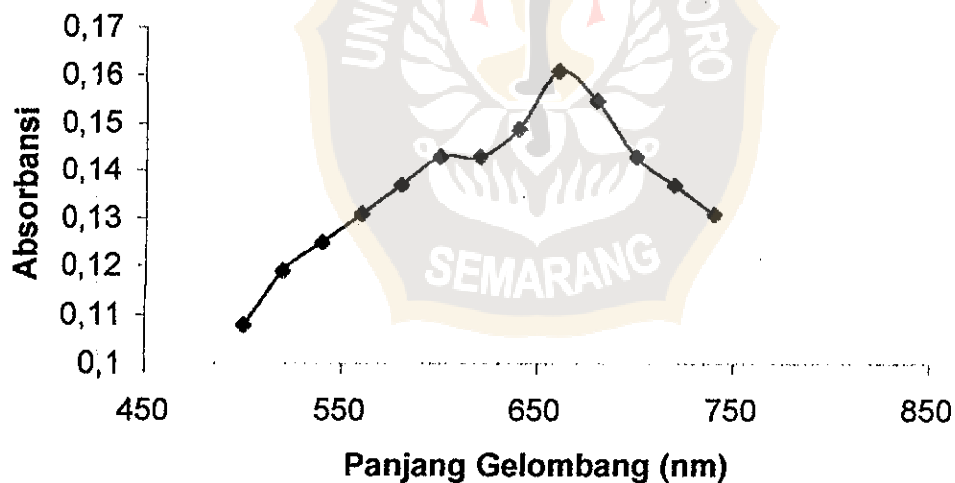


Gambar 5. Kurva panjang gelombang optimum larutan standar kasein

LAMPIRAN 3. Penentuan panjang gelombang optimum larutan standar Bovine Albumine Serum (BSA)

Tabel 3. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar BSA (Bovine Albumin Serum)

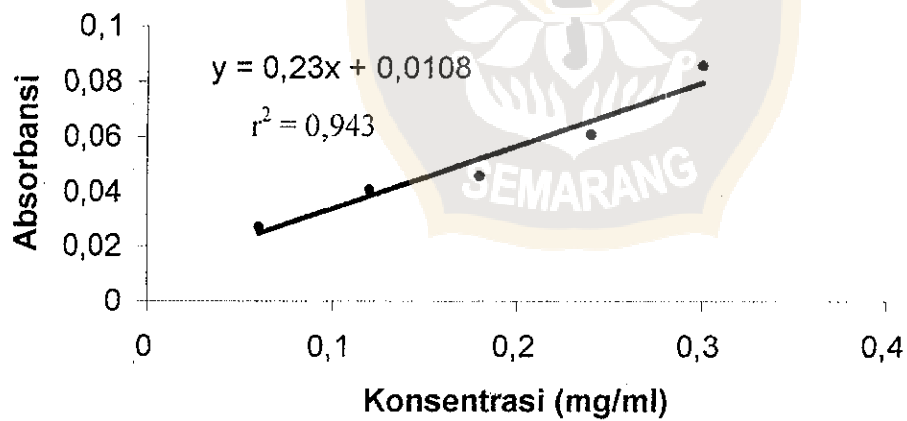
Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
500	0,108
520	0,119
540	0,125
560	0,131
580	0,137
600	0,143
620	0,143
640	0,149
660	0,161
680	0,155
700	0,143
720	0,137
740	0,131



Gambar 6. Kurva panjang gelombang optimum larutan standar BSA

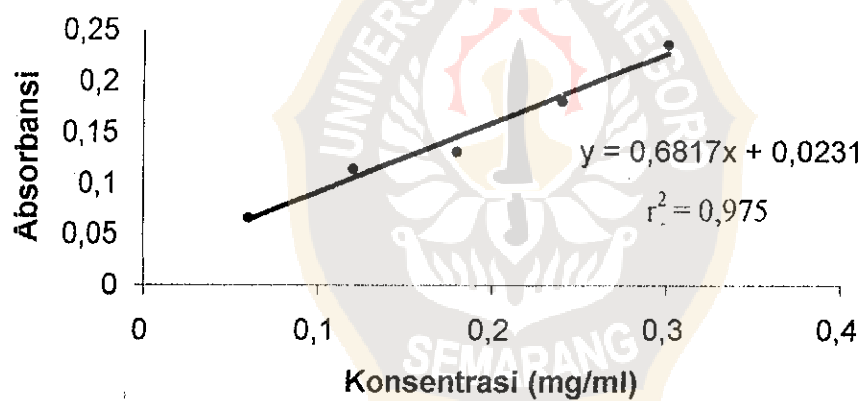
LAMPIRAN 4. Penentuan kurva standar kasein**Tabel 4. Hasil penentuan kurva standar kasein**

Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi
0,06	0,027
0,12	0,041
0,18	0,046
0,24	0,061
0,3	0,086

**Gambar 7. Kurva standar kasein**

LAMPIRAN 5. Penentuan kurva standar BSA**Tabel 5. Hasil penentuan kurva standar BSA**

Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi
0,06	0,066
0,12	0,114
0,18	0,131
0,24	0,181
0,3	0,237

**Gambar 8. Kurva standar BSA**

Lampiran 6. Penentuan aktivitas enzim dan kadar protein

Penentuan aktivitas enzim $\lambda = 640 \text{ nm}$

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{Y - 0,0108}{0,23} \times \frac{V_{\text{total}}}{\text{volume enzim}} \times \frac{1}{\text{waktu inkubasi}}$$

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{Y - 0,0108}{0,23} \times \frac{5}{0,3} \times \frac{1}{15}$$

Keterangan: Y = Absorbansi kontrol - absorbansi sampel

V_{total} = volume enzim + volume substrat + volume buffer + volume TCA

1 unit aktivitas = berkurangnya jumlah substrat kasein (mg) per satuan waktu inkubasi pada kondisi optimum

Tabel 6. Hasil penentuan aktivitas enzim pada tiap fraksi

	Absorbansi kontrol			Absorbansi sampel			$\bar{A}_k - \bar{A}_s$ (Y)	Aktivitas Enzim (unit)
	A ₁	A ₂	\bar{A}_k	A ₁	A ₂	\bar{A}_s		
EK	0,036	0,040	0,038	0,022	0,017	0,018	0,02	0,044
F1	0,259	0,252	0,256	0,229	0,222	0,226	0,03	0,093
F2	0,259	0,252	0,256	0,187	0,194	0,191	0,065	0,262
F3	0,119	0,113	0,116	0,092	0,086	0,089	0,027	0,078
F4	0,143	0,137	0,140	0,113	0,119	0,116	0,024	0,064

Penentuan Kadar Protein $\lambda = 660 \text{ nm}$

$$\text{Kadar Protein} = \frac{Y - 0,0231}{0,682} \times fp$$

Keterangan: fp = faktor pengenceran

Tabel 7. Hasil penentuan kadar protein tiap fraksi

	Absorbansi kontrol			Absorbansi sampel			$\bar{A}_s - \bar{A}_k$ (Y)	fp	Kadar Protein (mg) (X)
	A ₁	A ₂	\bar{A}_k	A ₁	A ₂	\bar{A}_s			
EK	0,136	0,130	0,113	0,161	0,154	0,158	0,025	10	0,028
F1	0,200	0,200	0,200	0,229	0,222	0,226	0,026	10	0,043
F2	0,114	0,108	0,111	0,143	0,137	0,140	0,029	10	0,087
F3	0,046	0,041	0,044	0,076	0,071	0,074	0,030	5	0,051
F4	0,060	0,056	0,058	0,092	0,086	0,089	0,031	5	0,056

Lampiran 7. Penentuan aktivitas spesifik dan hasil karakterisasi enzim

Tabel 8. Hasil penentuan aktivitas spesifik enzim pada tiap fraksi

	Aktivitas Enzim (unit)	Kadar Protein (mg)	Aktivitas Spesifik (unit/mg)
EK	0,044	0,028	1,57
F I	0,093	0,043	2,16
F II	0,262	0,087	3,01
F III	0,078	0,051	1,53
F IV	0,064	0,056	1,14

*1 unit aktivitas enzim = berkurangnya jumlah substrat kasein per mg satuan waktu inkubasi pada kondisi optimum

Hasil Karakterisasi Enzim Protease

Tabel 9. Hasil Penentuan pH optimum pada berbagai variasi pH

pH	Absorbansi control			Absorbansi sampel			$\bar{A}_k - \bar{A}_s$ (Y)	Aktivitas Enzim (unit)	Aktivitas Spesifik (unit/mg)
	A ₁	A ₂	\bar{A}_k	A ₁	A ₂	\bar{A}_s			
7,0	0,201	0,215	0,208	0,187	0,187	0,187	0,021	0,049	0,563
7,3	0,201	0,201	0,201	0,167	0,174	0,171	0,030	0,093	1,069
7,5	0,268	0,252	0,260	0,180	0,201	0,191	0,069	0,281	3,229
7,8	0,278	0,259	0,269	0,222	0,213	0,218	0,051	0,194	2,229
8,0	0,237	0,229	0,223	0,222	0,208	0,215	0,018	0,035	0,402

Kadar Protein = 0,087 mg

*1 unit aktivitas enzim = berkurangnya jumlah substrat kasein per mg satuan waktu inkubasi pada kondisi optimum

Tabel 10. Hasil Penentuan Temperatur Optimum pada berbagai variasi temperatur

Temperatur °C	Absorbansi kontrol			Absorbansi sample			$\bar{A}_k - \bar{A}_s$ (Y)	Aktivitas Enzim (unit)	Aktivitas Spesifik (unit/mg)
	A ₁	A ₂	\bar{A}_k	A ₁	A ₂	\bar{A}_s			
34	0,201	0,194	0,198	0,174	0,180	0,117	0,021	0,049	0,563
36	0,244	0,229	0,237	0,187	0,201	0,194	0,043	0,156	1,790
38	0,222	0,215	0,219	0,187	0,194	0,191	0,028	0,083	0,954
40	0,252	0,252	0,252	0,194	0,194	0,194	0,058	0,228	2,620
42	0,268	0,259	0,264	0,201	0,194	0,198	0,066	0,267	3,069
44	0,301	0,309	0,305	0,215	0,229	0,222	0,083	0,349	4,011
46	0,283	0,292	0,288	0,208	0,215	0,212	0,076	0,315	3,621

Kadar protein = 0.087 mg

*1 unit aktivitas enzim = berkurangnya jumlah substrat kasein per mg satuan waktu inkubasi pada kondisi optimum

Lampiran 8. Penentuan waktu inkubasi optimum

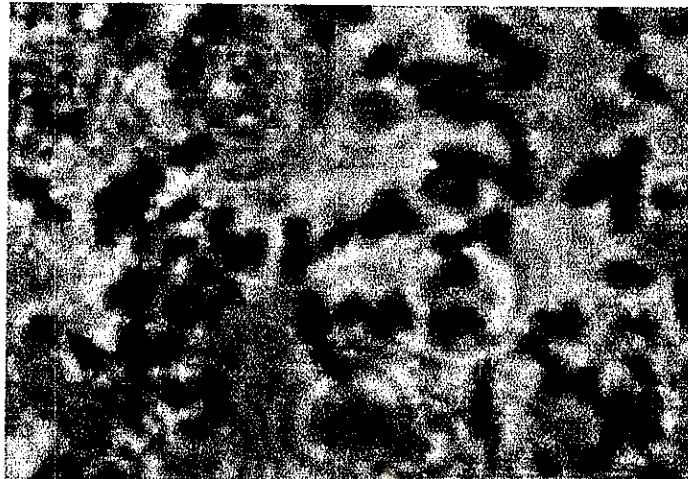
Tabel 11. Hasil penentuan waktu inkubasi optimum pada berbagai variasi waktu inkubasi

Waktu Inkubasi (menit)	Absorbansi kontrol			Absorbansi sample			$\bar{A}_k - \bar{A}_s$ (Y)	Aktivitas Enzim (unit)	Aktivitas Spesifik (unit/mg)
	A_1	A_2	\bar{A}_k	A_1	A_2	\bar{A}_s			
5	0,237	0,229	0,233	0,215	0,215	0,215	0,018	0,104	1,195
10	0,237	0,244	0,241	0,201	0,208	0,204	0,037	0,189	2,172
15	0,252	0,252	0,252	0,187	0,194	0,191	0,061	0,243	2,793
20	0,268	0,259	0,264	0,215	0,208	0,212	0,052	0,149	1,713
25	0,283	0,268	0,276	0,222	0,229	0,226	0,050	0,114	1,310

*1 unit aktivitas enzim = berkurangnya jumlah substrat kasein per mg satuan waktu inkubasi pada kondisi optimum

Kadar protein = 0.087 mg



Lampiran 9. Gambar isolat bakteri termofilik**Gambar 9. Isolat bakteri termofilik**

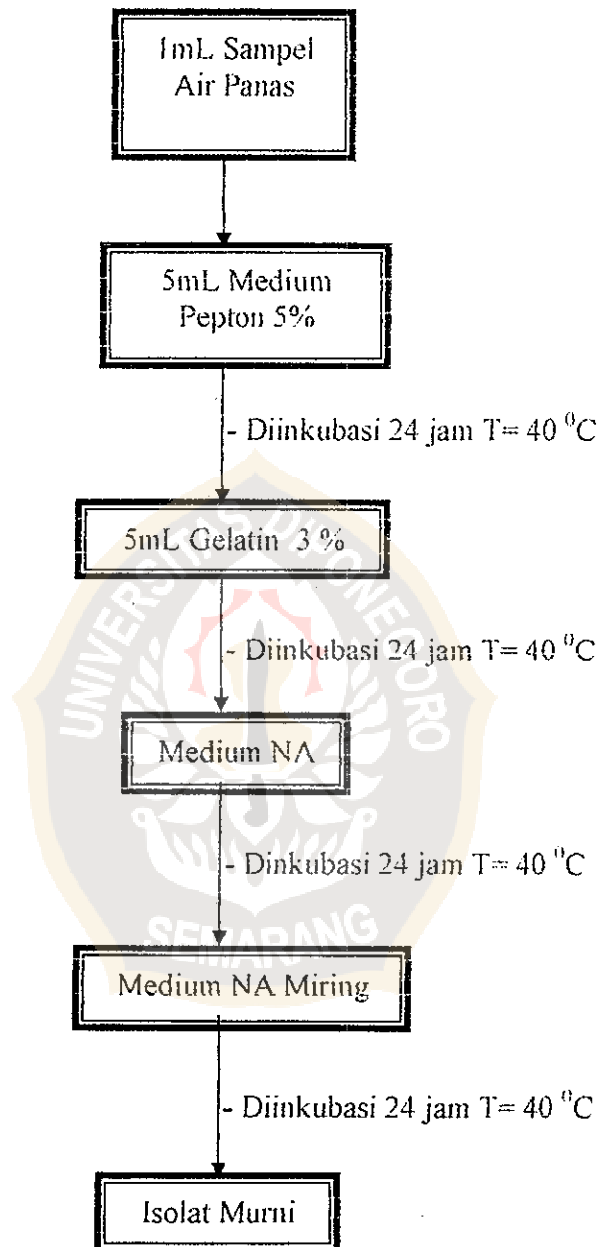
Lampiran 10 Daftar Kebutuhan Ammonium Sulfat

Tabel 12 Jumlah penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dalam gram/liter larutan enzim pada konsentrasi yang berbeda

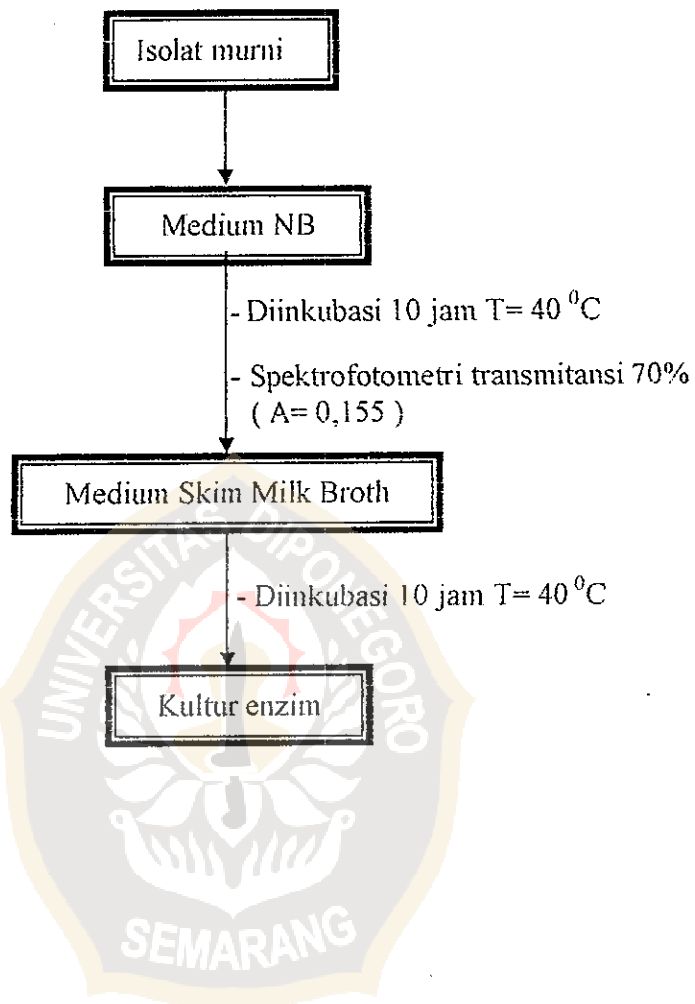
Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10	20	25	30	33	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90	100
0	56	114	144	176	196	209	243	277	313	351	390	420	472	516	561	662	767
10	57	86	118	137	150	183	216	251	288	326	365	365	406	449	494	592	694
20	29	59	78	91	123	155	189	225	262	300	300	340	382	424	520	619	
25	30	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	132	168	205	245	285	375	469							
50	33	66	101	137	176	214	252	292	333	426	522						
55	33	66	101	137	176	214	252	292	333	426	522						
60	33	66	101	137	176	214	252	292	333	426	522						
65	34	69	105	143	183	225	262	300	340	382	424	520	619				
70	34	69	105	143	183	225	262	300	340	382	424	520	619				
75	35	75	153	237													
80	36	115	198														
90	77	157															

DIAGRAM ALIR

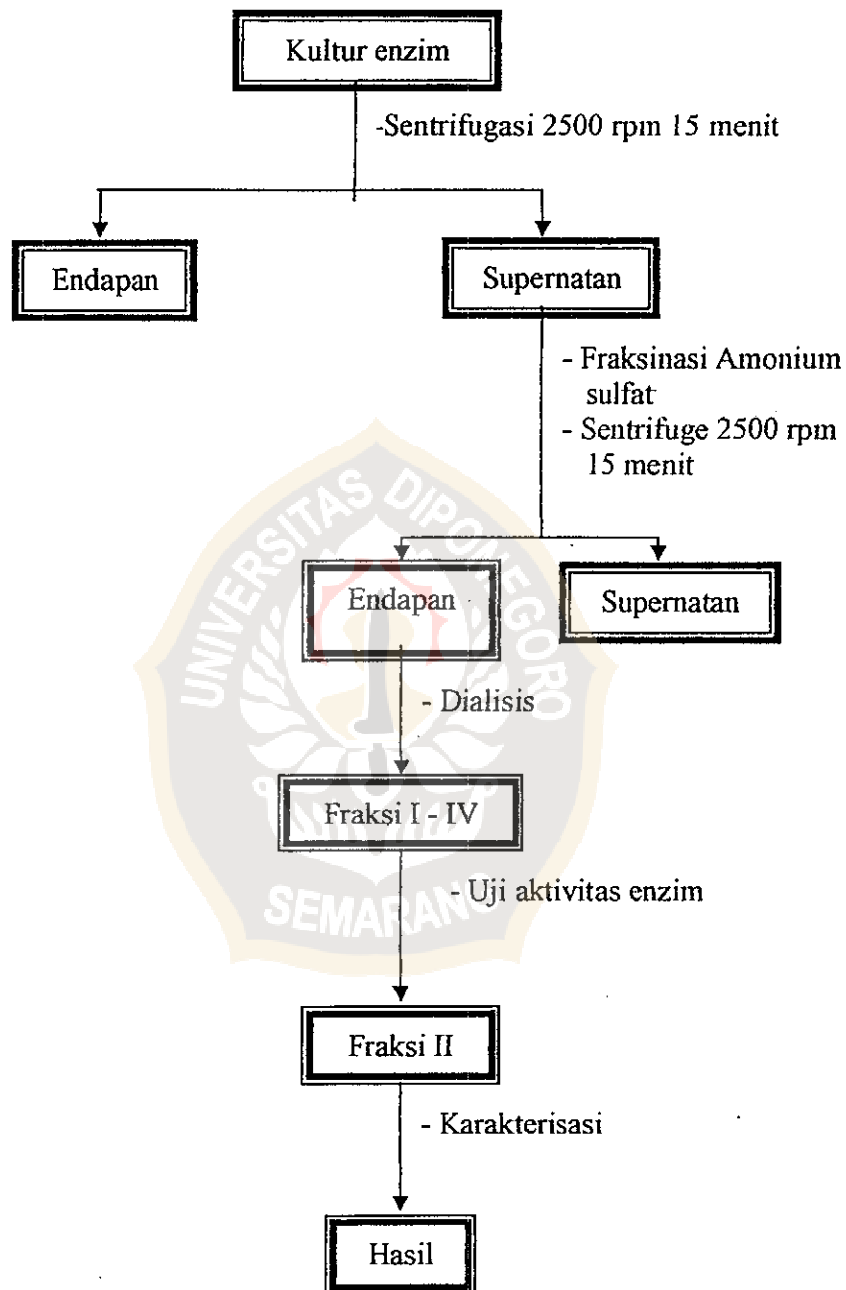
Tahap I: Isolasi Bakteri



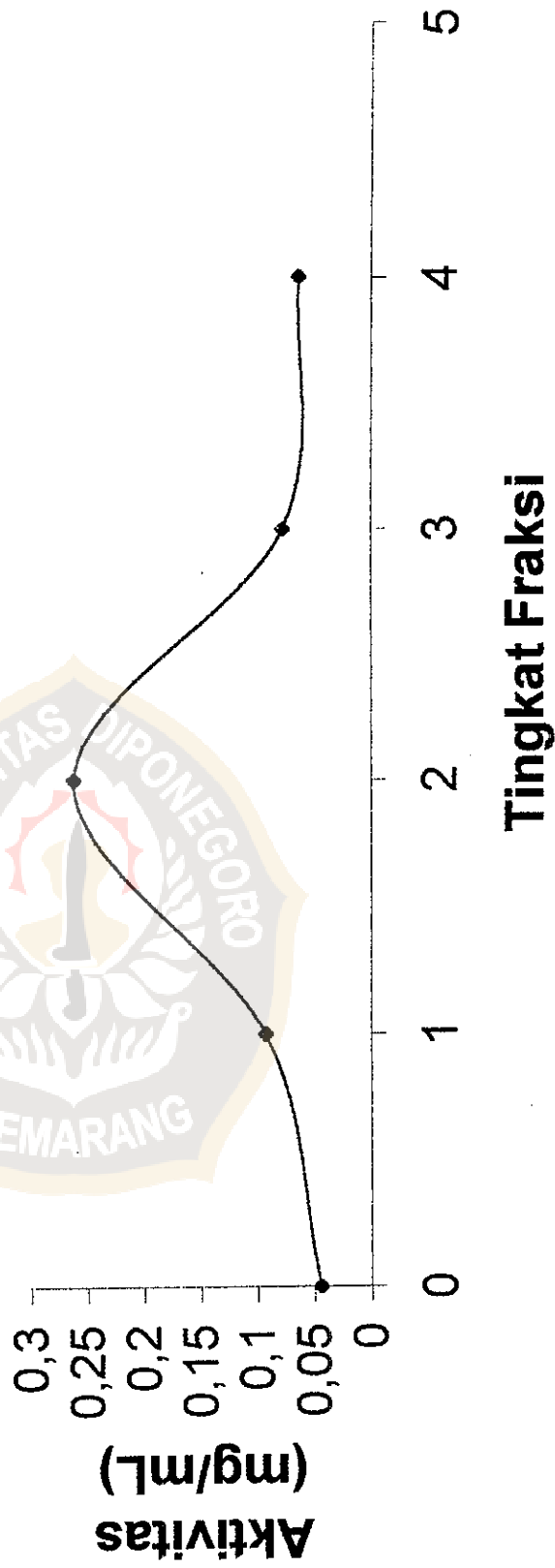
Tahap II: Produksi Enzim



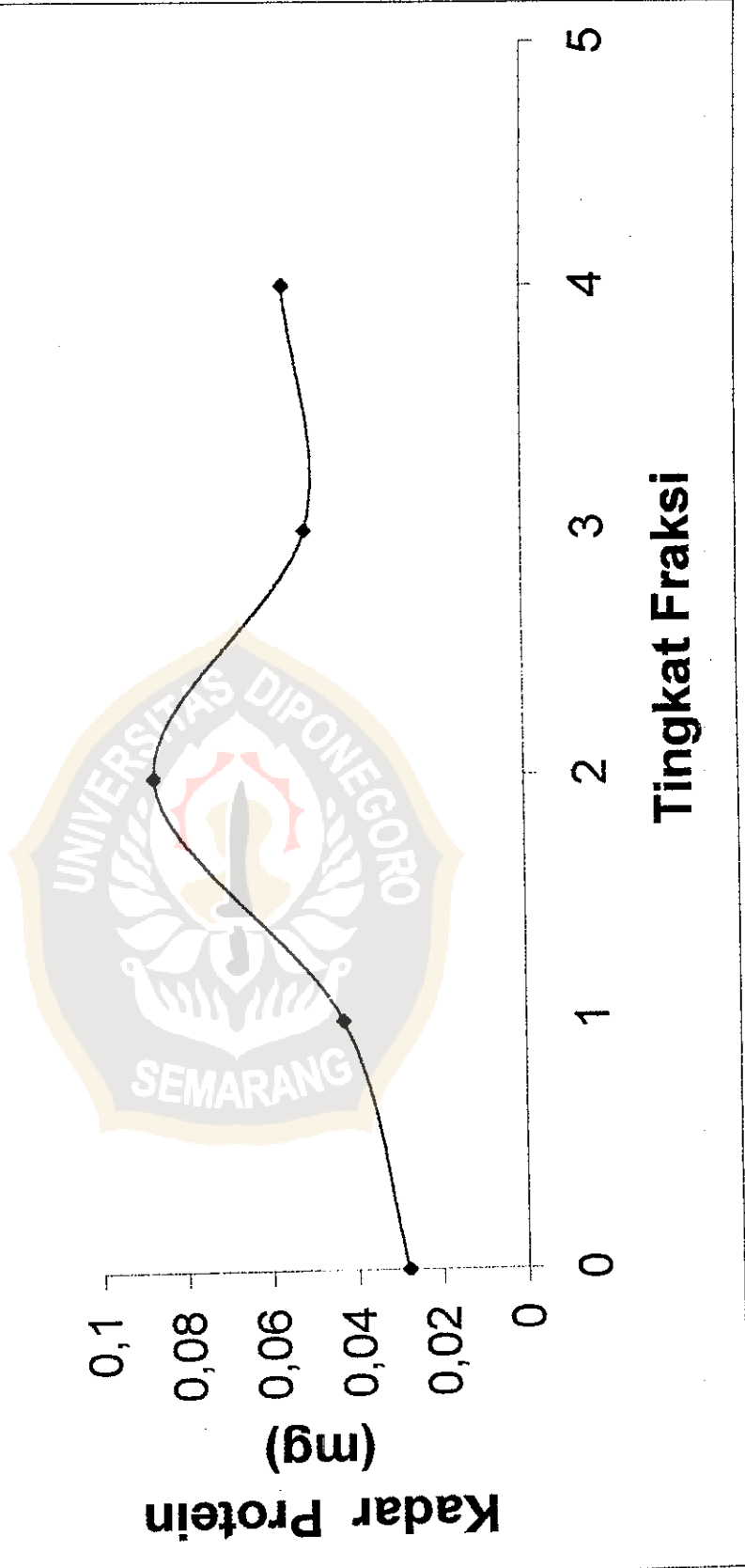
Tahap III: Isolasi Enzim



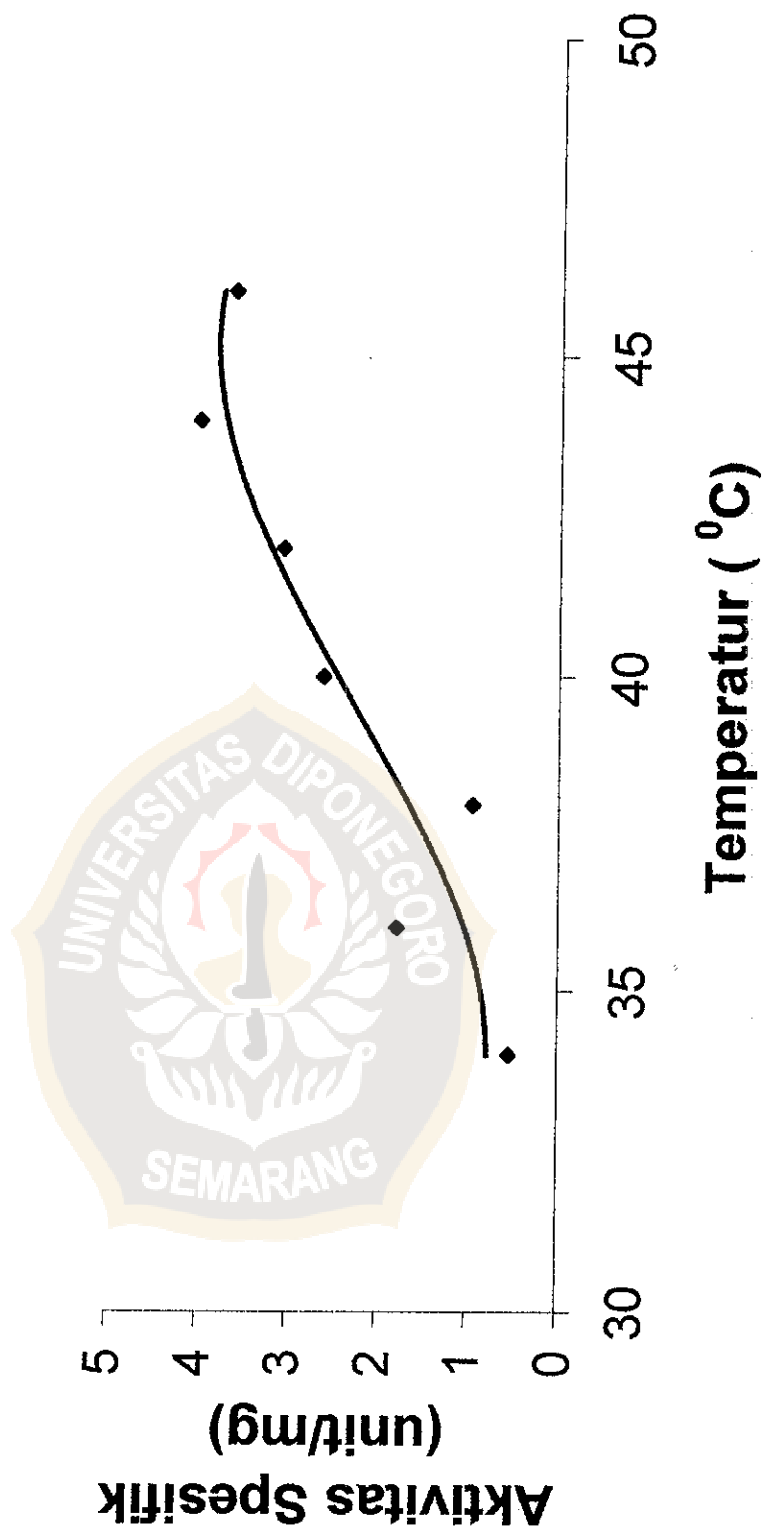
Grafik Penentuan Aktivitas Enzim Hasil Fraksinasi Bertingkat



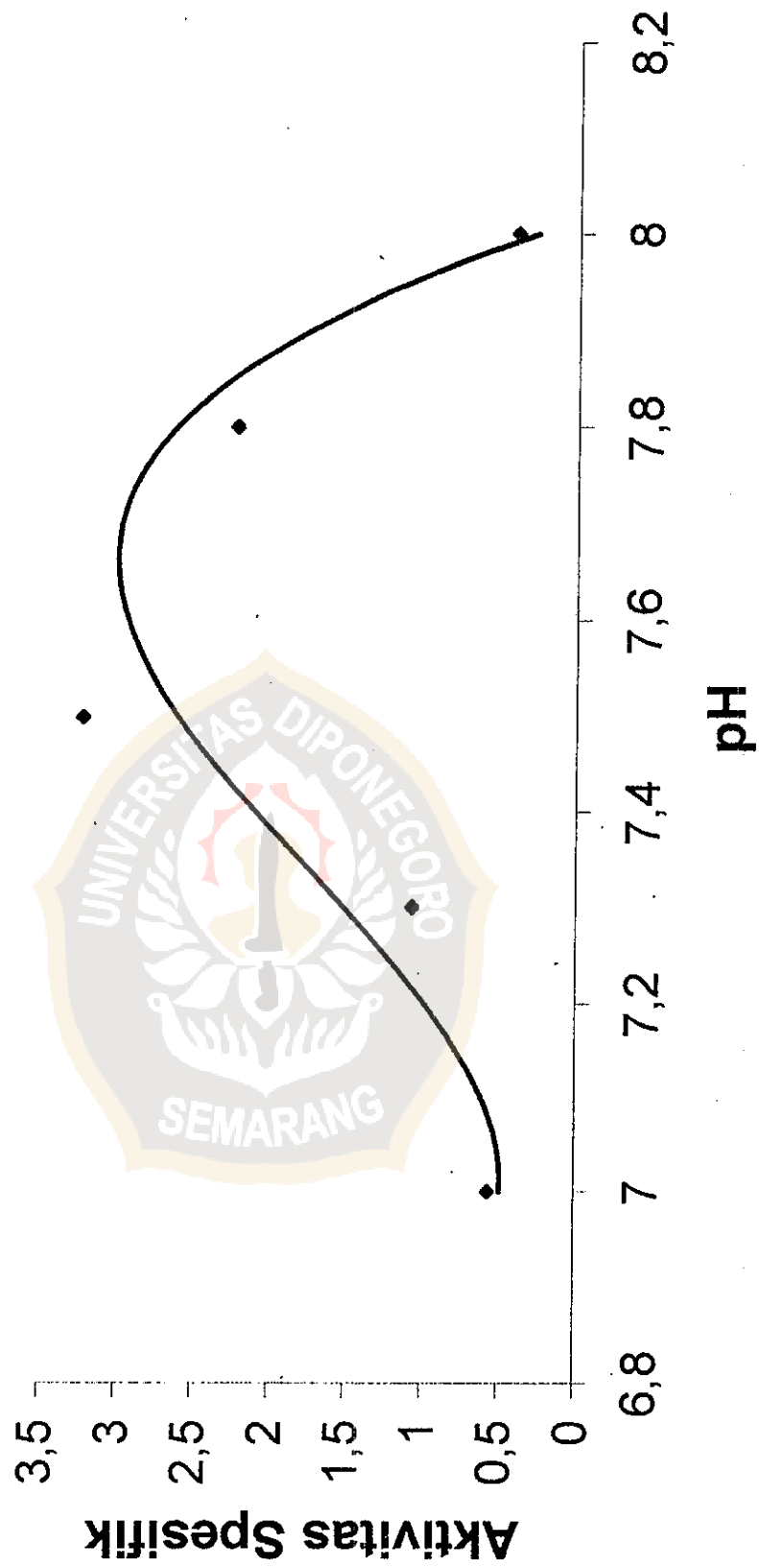
Grafik Penentuan Kadar Protein Hasil Fraksinasi Bertingkat



Grafik Penentuan Temperatur Optimum



Grafik Penentuan pH Optimum



Grafik Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

