

L

A

M

P

I

R

A

N

LAMPIRAN – LAMPIRAN

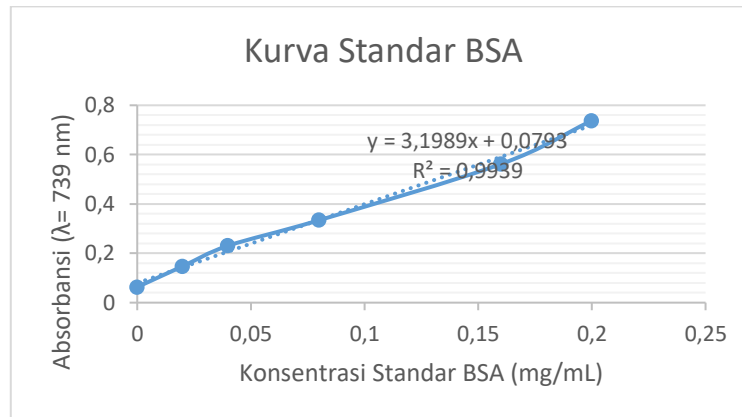
Lampiran 1. Komposisi bahan pereaksi metode Lowry

Kode pereaksi	Nama bahan	Jumlah
Pereaksi A	Na ₂ CO ₃	2 gram
	NaOH	100 mL
Pereaksi B	CuSO ₄ .5H ₂ O 1%	5 mL
	Na-K tartat 1%	3 mL
Pereaksi C	Pereaksi B	2 mL
	Pereaksi A	100 mL
Pereaksi D	pereaksi Folin-Ciocalteu	5 mL
	Aquades	5 mL
Larutan Standar	<i>Bovine Serum Albumin (BSA)</i>	

Lampiran 2. Kurva baku standar BSA

Konsentrasi BSA (mg/mL)	Absorbansi ($\lambda = 739 \text{ nm}$)
0	0.0631
0.02	0.1476
0.04	0.2307
0.08	0.3342
0.16	0.5618
0.2	0.7378

Lampiran 3. Kurva standar BSA



Lampiran 4. Absorbansi dan perhitungan kadar sampel enzim protease dan amilase

No	<i>Bacillus cereus</i>	
	Protease	Amilase
1.	0,1975	0,1714
2.	0,2034	0,1736
3.	0,2030	0,201
Rata- rata	0,2013	0,182
SD	0,003	0,016

Protease

$$y = 3,1989 x + 0,0793$$

$$0,2013 = 3,1989 x + 0,0793$$

$$X = 0,03815 \times 100$$

$$X = 3,815 \text{ mg/mL}$$

Amilase

$$y = 3,1989 x + 0,0793$$

$$0,1820 = 3,1989 x + 0,0793$$

$$X = 0,03211 \times 100$$

$$X = 3,211 \text{ mg/mL}$$

Lampiran 5. Data absorbansi dan aktivitas enzim protease:

Protease	Absorbansi enzim	Rata-rata absorbansi	Aktivitas enzim (U/mL)
blanko	0,171	0,1713	
	0,172		
	0,171		
standar	0,535	0,536	
	0,536		
	0,537		
1%	0,231	0,2313	$164,52 \times 10^{-3}$
	0,231		
	0,232		
1,50%	0,317	0,330	$435,15 \times 10^{-3}$
	0,334		
	0,339		
2%	0,388	0,4043	$638,88 \times 10^{-3}$
	0,397		
	0,428		

Lampiran 6. Perhitungan uji aktivitas protease:

$$PU = \frac{1}{T} \times \frac{Asp - Abl}{Ast - Abl} \times FP$$

Keterangan:

PU : unit aktivitas protease (U/mL)

Abl : nilai absorbansi blanko

Ast : nilai absorbansi standar

Asp : nilai absorbansi sampel

T : waktu inkubasi (menit)

Fp : faktor pengencer

1. Untuk konsentrasi substrat 1%

$$PU = \frac{1}{10} \times \frac{0,2313 - 0,1713}{0,536 - 0,1713} \times 10 = 0,1645 \text{ U/mL}$$

2. Untuk konsentrasi substrat 1,5%

$$PU = \frac{1}{10} \times \frac{0,330 - 0,1713}{0,536 - 0,1713} \times 10 = 0,4351 \text{ U/mL}$$

3. Untuk konsentrasi substrat 2%

$$PU = \frac{1}{10} \times \frac{0,4043 - 0,1713}{0,536 - 0,1713} \times 10 = 0,6388 \text{ U/mL}$$

Lampiran 7. Pembuatan larutan glukosa

Cara membuat larutan stok glukosa 200 ppm adalah:

$$200 \text{ ppm} = \frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ mL}}$$

Untuk membuat larutan standar 200 ppm diperlukan 20 mg glukosa anhidrat, dilarutkan dengan aquades dalam labu takar 100 mL hingga tanda batas, kemudian larutan glukosa dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125, 150 ppm sebanyak 100 mL dibuat sesuai dengan menggunakan rumus pengenceran sebagaimana berikut:

1. Konsentrasi 25 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V1 = 2,5 \text{ mL}$$

2. Konsentrasi 50 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V1 = 5 \text{ mL}$$

3. Konsentrasi 75 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 75 \text{ ppm}$$

$$V1 = 7,5 \text{ mL}$$

4. Konsentrasi 100 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V1 = 10 \text{ mL}$$

5. Konsentrasi 125 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 125 \text{ ppm}$$

$$V1 = 12,5 \text{ mL}$$

6. Konsentrasi 150 ppm

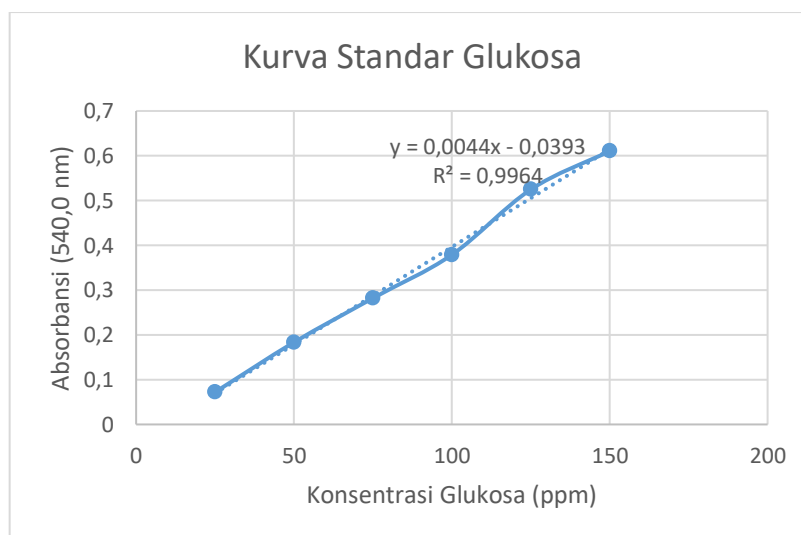
$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 150 \text{ ppm}$$

$$V1 = 15 \text{ mL}$$

Lampiran 8. Absorbansi standar glukosa:

Kons glukosa (ppm)	Absorbansi (540,0 nm)
25	0,0722
50	0,1834
75	0,2821
100	0,3789
125	0,5247
150	0,6105

Lampiran 9. Kurva standar glukosa**Lampiran 10. Data uji aktivitas enzim amilase**

Amilase BC	Absorbansi (540,0 nm)	rata-rata absorbansi	aktivitas enzim (U/mL)
1%	0,1650	0,1642	$25,7 \times 10^{-3}$
	0,1634		
	0,1642		
1,25%	0,3056	0,2971	$42,5 \times 10^{-3}$
	0,2934		
	0,2923		
1,50%	0,4565	0,4516	$61,2 \times 10^{-3}$
	0,4546		
	0,4437		

Lampiran 11. Perhitungan aktivitas enzim amilase:

1. Untuk konsentrasi substrat 1%

$$Y = 0,0044x - 0,0393$$

$$0,1642 = 0,0044x - 0,0393$$

$$0,2035 = 0,0044x$$

$$X = 46,25 \text{ ppm}$$

2. Untuk konsentrasi substrat 1,25%

$$Y = 0,0044x - 0,0393$$

$$0,2971 = 0,0044x - 0,0393$$

$$0,3364 = 0,0044x$$

$$X = 76,45 \text{ ppm}$$

3. Untuk konsentrasi substrat 1,5%

$$Y = 0,0044x - 0,0393$$

$$0,4516 = 0,0044x - 0,0393$$

$$0,4909 = 0,0044x$$

$$X = 111,57 \text{ ppm}$$

Rumus dan perhitungan aktivitas enzim amilase:

$$AE = \frac{H}{E} \times \frac{C}{BM \text{ glukosa} \times t}$$

AE : Aktivitas enzim (U/mL)

C : konsentrasi glukosa

BM : berat molekul glukosa

T : waktu inkubasi (menit)

H : volume enzim + substrat (mL)

E : volume enzim tanpa substrat (mL)

1. Untuk konsentrasi substrat 1%

$$AE = \frac{2}{1} \times \frac{46,25}{180 \times 20} = 0,0257 \text{ U/mL}$$

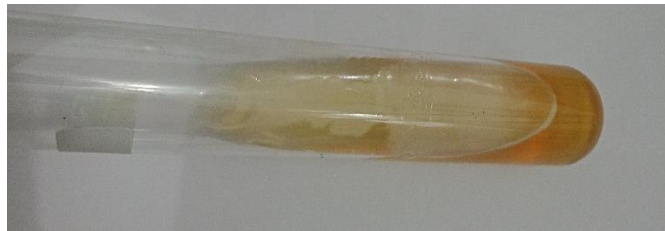
2. Untuk konsentrasi substrat 1,25%

$$AE = \frac{2}{1} \times \frac{76,45}{180 \times 20} = 0,0425 \text{ U/mL}$$

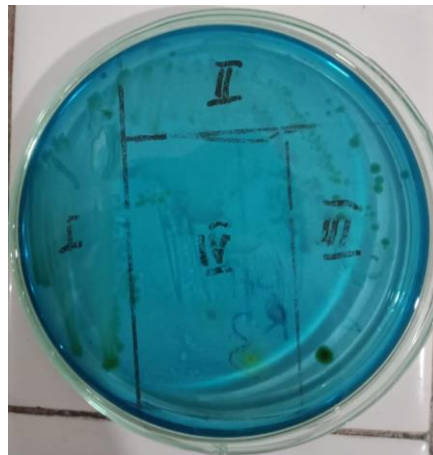
3. Untuk konsentrasi substrat 1,5%

$$AE = \frac{2}{1} \times \frac{111,57}{180 \times 20} = 0,0612 \text{ U/mL}$$

Lampiran 12. Hasil peremajaan bakteri *Bacillus cereus*



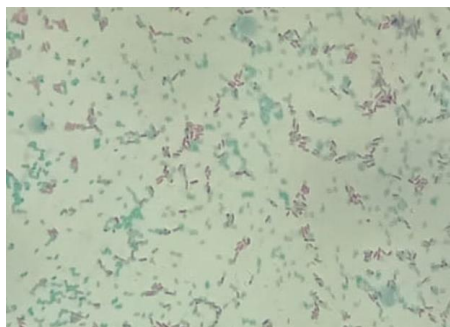
Lampiran 13. Hasil identifikasi koloni bakteri *Bacillus cereus* pada media BCA



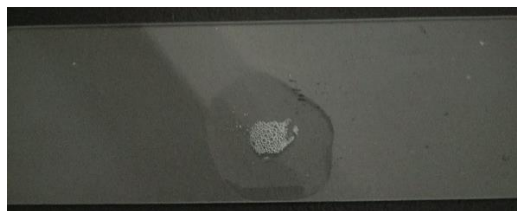
Lampiran 14. Hasil pewarnaan Gram bakteri *Bacillus cereus*



Lampiran 15. Hasil pewarnaan endospora bakteri *Bacillus cereus*



Lampiran 16. Hasil uji katalase bakteri *Bacillus cereus*



Lampiran 17. Hasil uji koagulasi bakteri *Bacillus cereus*



Lampiran 18. Hasil uji fermentasi glukosa bakteri *Bacillus cereus*

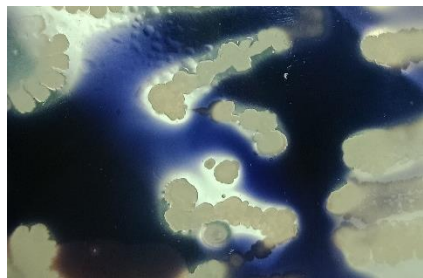




Lampiran 19. Skrining kualitatif *Bacillus cereus* sebagai penghasil protease

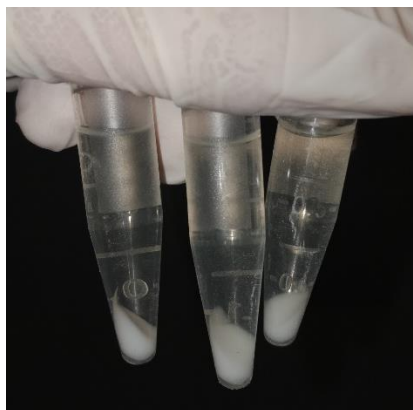


Lampiran 20. Skrining kualitatif *Bacillus cereus* sebagai penghasil amilase

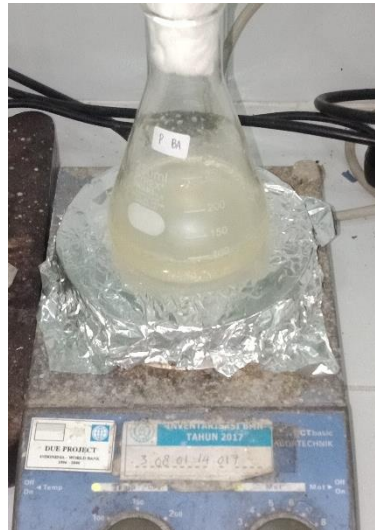


Lampiran 21. Media produksi enzim sebelum diinkubasi



Lampiran 22. Media produksi enzim setelah diinkubasi**Lampiran 23. Alat inkubator shaker****Lampiran 24. Hasil sentrifugasi isolasi enzim amilase**

Lampiran 25. Alat magnetic stirrer



Lampiran 26. Hasil analisis data statistika uji aktivitas enzim dari *Bacillus cereus*

1. Data analisis statistika aktivitas enzim protease

Uji Normalitas

Tests of Normality

	kelompok_perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
abs_enzim_protease	Blanko	.385	3	.	.750	3	.000
	Standar	.175	3	.	1.000	3	1.000
	1 %	.385	3	.	.750	3	.000
	1,5 %	.302	3	.	.910	3	.417
	2 %	.303	3	.	.908	3	.413

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan hasil uji normalitas terdapat data yang memiliki nilai sig <0,05 artinya data tidak terdistribusi normal, pengujian dilanjutkan dengan uji non parametric Kruskal Wallis.

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	kelompok_perlakuan	N	Mean Rank
abs_enzim_protease	Blanko	3	2.00
	Standar	3	14.00
	1 %	3	5.00
	1,5 %	3	8.00
	2 %	3	11.00
	Total	15	

Test Statistics ^{a,b}	
	abs_enzim_protease
Kruskal-Wallis H	13.548
Df	4
Asymp. Sig.	.009
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: kelompok_perlakuan	

Nilai sig <0,05 terdapat perbedaan yang signifikan antar masing-masing kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc Tukey

abs_enzim_protease						
Tukey HSD ^a						
kelompok_perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Blanko	3	.17133				
1 %	3		.23133			
1,5 %	3			.33000		
2 %	3				.40433	
Standar	3					.53600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

2. Data analisis statistika aktivitas enzim amilase

Uji Normalitas

Tests of Normality							
	kelompok_perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
abs_enzim_amilase	1 %	.175	3	.	1.000	3	1.000
	1,25 %	.359	3	.	.812	3	.142
	1,5 %	.335	3	.	.859	3	.264

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan hasil uji normalitas terdapat data yang memiliki nilai sig >0,05 artinya data terdistribusi normal.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
abs_enzim_amilase	Based on Mean	5.805	2	6	.040
	Based on Median	.549	2	6	.604
	Based on Median and with adjusted df	.549	2	3.937	.616
	Based on trimmed mean	4.841	2	6	.056

Berdasarkan hasil uji homogenitas didapatkan nilai sig <0,05 artinya data tidak terdistribusi homogen, pengujian dilanjutkan dengan uji non parametric Kruskal Wallis.

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	kelompok_perlakuan	N	Mean Rank
abs_enzim_amilase	1 %	3	2.00
	1,25 %	3	5.00
	1,5 %	3	8.00
	Total	9	

Test Statistics ^{a,b}	
	abs_enzim_a milase
Kruskal-Wallis H	7.200
df	2
Asymp. Sig.	.027
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: kelompok_perlakuan	

Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis nilai sig <0,05 artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar masing-masing kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc Tukey

abs_enzim_amilase				
Tukey HSD ^a				
kelompok_perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1 %	3	.164200		
1,25 %	3		.297100	
1,5 %	3			.451600
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

Oneway

Tujuan: Untuk mengetahui perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak enzim daun mangga kopyor terhadap diameter zona jernih yang dihasilkan.

Kriteria uji: Sig <0,05 H0 ditolak

Sig >0,05 H0 diterima

Descriptives

Absorbansi enzim

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	6	.35367	.199737	.081542	.14406	.56328	.171	.537
164,5 x 10 ⁻³	3	.23133	.000577	.000333	.22990	.23277	.231	.232
435,1 x 10 ⁻³	3	.33000	.011533	.006658	.30135	.35865	.317	.339
638,8 x 10 ⁻³	3	.40433	.020984	.012115	.35221	.45646	.388	.428
Total	15	.33460	.133483	.034465	.26068	.40852	.171	.537

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Absorbansi enzim	Based on Mean	2262.837	3	11	.000
	Based on Median	611.767	3	11	.000
	Based on Median and with adjusted df	611.767	3	3.134	.000
	Based on trimmed mean	2063.135	3	11	.000

ANOVA

Absorbansi enzim

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.049	3	.016	.892	.475
Within Groups	.201	11	.018		
Total	.249	14			

Kesimpulan: sig >0,05 berarti H0 diterima maka terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi substrat kasein terhadap aktivitas enzim protease yang dihasilkan.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Absorbansi enzim

Tukey HSD

(I) aktivitas enzim	(J) aktivitas enzim	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	164,5 x 10 ⁻³	.122333	.095495	.592	-.16506	.40973
	435,1 x 10 ⁻³	.023667	.095495	.994	-.26373	.31106
	638,8 x 10 ⁻³	-.050667	.095495	.950	-.33806	.23673
164,5 x 10 ⁻³	0	-.122333	.095495	.592	-.40973	.16506
	435,1 x 10 ⁻³	-.098667	.110268	.808	-.43052	.23319
	638,8 x 10 ⁻³	-.173000	.110268	.433	-.50486	.15886
435,1 x 10 ⁻³	0	-.023667	.095495	.994	-.31106	.26373
	164,5 x 10 ⁻³	.098667	.110268	.808	-.23319	.43052
	638,8 x 10 ⁻³	-.074333	.110268	.905	-.40619	.25752
638,8 x 10 ⁻³	0	.050667	.095495	.950	-.23673	.33806
	164,5 x 10 ⁻³	.173000	.110268	.433	-.15886	.50486
	435,1 x 10 ⁻³	.074333	.110268	.905	-.25752	.40619

Homogeneous Subsets

Absorbansi enzim

Tukey HSD^{a,b}

aktivitas enzim	N	Subset for alpha = 0.05
		1
164,5 x 10 ⁻³	3	.23133
435,1 x 10 ⁻³	3	.33000
0	6	.35367
638,8 x 10 ⁻³	3	.40433
Sig.		.379

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.429.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

3. Data analisis aktivitas enzim amilase

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Absorbansi (540,0 nm)	.202	9	.200*	.840	9	.058
aktivitas enzim (U/mL)	.209	9	.200*	.823	9	.037

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan menggunakan Kolmogorov-Smirnov diketahui nilai signifikansi sebesar 0,200 dan 0,200, sehingga lebih dari signifikansi 5% yaitu 0,05. maka dapat ditarik kesimpulan bahwa data terdistribusi normal.

Descriptives

Absorbansi (540,0 nm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
25,7 x 10-3	3	.16420	.000800	.000462	.16221	.16619	.163	.165
42,5 x 10-3	3	.29710	.007382	.004262	.27876	.31544	.292	.306
61,2 x 10-3	3	.45160	.006907	.003988	.43444	.46876	.444	.457
Total	9	.30430	.124668	.041556	.20847	.40013	.163	.457

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Absorbansi (540,0 nm)	Based on Mean	5.805	2	6	.040
	Based on Median	.549	2	6	.604
	Based on Median and with adjusted df	.549	2	3.937	.616
	Based on trimmed mean	4.841	2	6	.056

ANOVA

Absorbansi (540,0 nm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.124	2	.062	1810.552	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.124	8			

Kesimpulan: sig <0,05 berarti H₀ ditolak maka terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi substrat amilum terhadap aktivitas enzim amilase yang dihasilkan.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Absorbansi (540,0 nm)

Tukey HSD

(I) aktivitas enzim (U/mL)	(J) aktivitas enzim (U/mL)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
25,7 x 10 ⁻³	42,5 x 10 ⁻³	-.132900*	.004781	.000	-.14757	-.11823
	61,2 x 10 ⁻³	-.287400*	.004781	.000	-.30207	-.27273
42,5 x 10 ⁻³	25,7 x 10 ⁻³	.132900*	.004781	.000	.11823	.14757
	61,2 x 10 ⁻³	-.154500*	.004781	.000	-.16917	-.13983
61,2 x 10 ⁻³	25,7 x 10 ⁻³	.287400*	.004781	.000	.27273	.30207
	42,5 x 10 ⁻³	.154500*	.004781	.000	.13983	.16917

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Absorbansi (540,0 nm)

Tukey HSD^a

aktivitas enzim (U/mL)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
25,7 x 10 ⁻³	3	.16420		
42,5 x 10 ⁻³	3		.29710	
61,2 x 10 ⁻³	3			.45160
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.