

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Penentuan λ Optimum, Kurva Standar, dan Rumus Kurva Standar Amonium Sulfat

Tabel 1. 1. Hasil Penentuan λ Optimum Larutan Standar Amonium Sulfat

No	Panjang Gelombang (λ)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	
1	350	0,037	0,037	0,037	0,037
2	360	0,040	0,040	0,040	0,040
3	370	0,049	0,049	0,049	0,049
4	380	0,070	0,070	0,070	0,070
5	390	0,075	0,073	0,074	0,075
6	400	0,082	0,082	0,082	0,082
7	410	0,075	0,075	0,075	0,075
8	420	0,067	0,067	0,067	0,067
9	430	0,059	0,059	0,059	0,059
10	440	0,051	0,051	0,051	0,051
11	450	0,042	0,042	0,042	0,042
12	460	0,039	0,039	0,039	0,039
13	470	0,026	0,026	0,026	0,026
14	480	0,020	0,020	0,020	0,020

Tabel 1. 2. Hasil Penentuan Kurva Standar Amonium Sulfat pada $\lambda = 400 \text{ nm}$

No	Konsentrasi (mg. 100 mL ⁻¹)	Absorbansi			Absorbansi
		A1	A2	A3	Rata-rata
1	0	0	0	0	0
2	0,5	0,023	0,023	0,023	0,02300
3	1,0	0,041	0,041	0,041	0,04100
4	1,5	0,060	0,061	0,060	0,06033
5	2,0	0,067	0,067	0,067	0,06700
6	2,5	0,075	0,076	0,075	0,07533
7	3,0	0,081	0,081	0,081	0,08100

**Tabel 1. 3. Hasil Penentuan Rumus Kurva Standar Amonium Sulfat pada
 $\lambda = 400 \text{ nm}$**

No	X_i	Y_i	$(X_i)(Y_i)$	$(X_i)^2$
1	0	0	0	0
2	0,5	0,02300	0,0115	0,250
3	1,0	0,04100	0,0410	1,000
4	1,5	0,06033	0,0905	2,250
5	2,0	0,06700	0,1340	4,000
6	2,5	0,07533	0,1883	6,250
7	3,0	0,08100	0,2430	9,000
	$\Sigma X_i = 10,5$	$\Sigma Y_i = 0,3477$	$\Sigma (X_i)(Y_i) = 0,7083$	$\Sigma (X_i)^2 = 22,750$

Keterangan:

X_i = Konsentrasi Amonium Sulfat (mg. 100 mL⁻¹)

Y_i = Absorbansi rata-rata dari A1, A2, dan A3

Perhitungan

Persamaan garis lurusnya adalah $Y = aX + b$

Dimana: $a =$ gradien

$b =$ intersep

$$a = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$a = \frac{7(0,7083) - (10,5)(0,03477)}{7(22,75) - (10,5)^2}$$

$$a = \frac{4,9581 - 3,6508}{159,250 - 110,250}$$

$$a = 0,0267$$

$$b = \frac{\sum Y_i - a \sum X_i}{n}$$

$$b = 0,0096$$

$$b = \frac{0,3477 - 0,0267(10,5)}{7}$$

Sehingga $Y = 0,0267 X + 0,0096$



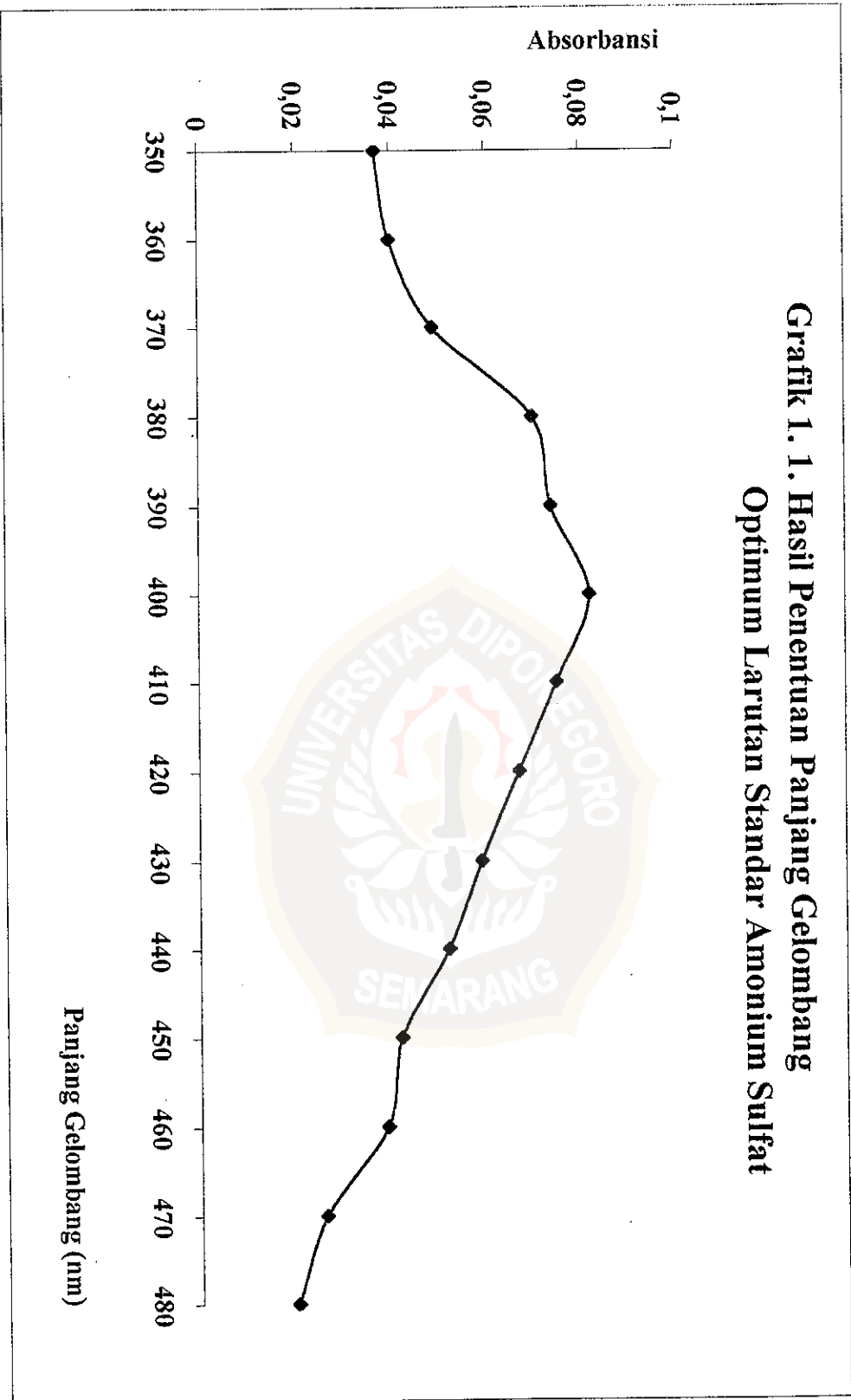
Maka untuk menentukan kadar amonia digunakan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{Y - 0,0096}{0,0267} \times \frac{V_{tot}}{V_{enz}} \times \frac{V_{smp}}{V_{anls}} \times \frac{1}{17,1} \times \frac{1000}{100}$$

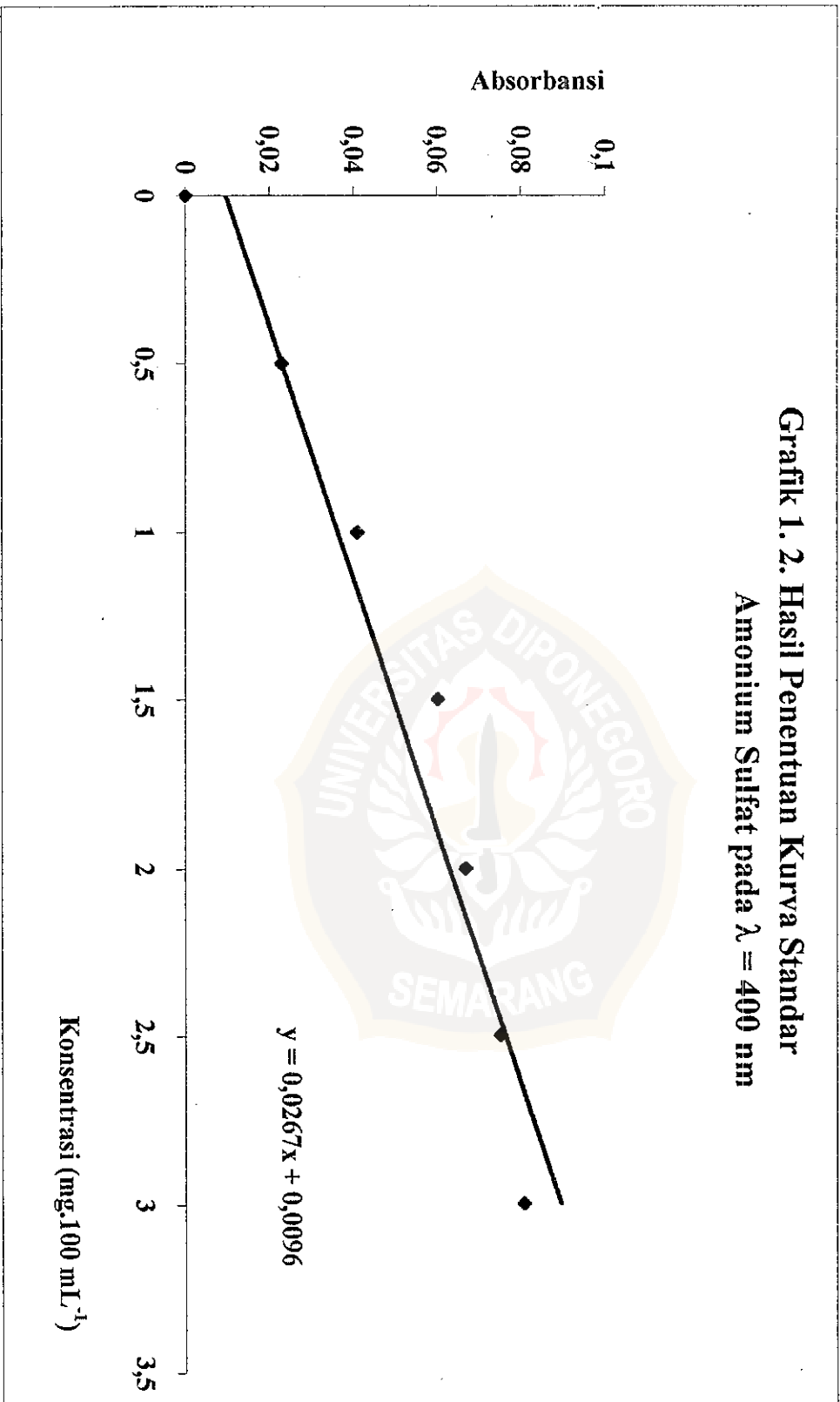
- Dimana: X = Konsentrasi amonia ($\mu\text{mol. mL}^{-1}$)
Y = Absorbansi
V_{tot} = Volume substrat, enzim, buffer dan TCA (2 mL)
V_{enz} = Volume enzim (0,1 mL)
V_{smp} = Volume sampel (5 mL)
V_{anls} = Volume analisa (0,25 mL)



Grafik 1. 1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Amonium Sulfat



**Grafik 1. 2. Hasil Penentuan Kurva Standar
Amonium Sulfat pada $\lambda = 400$ nm**



Lampiran 2. Hasil Penentuan λ Optimum, Kurva Standar, dan Rumus Kurva Standar Kasein

Tabel 2. 1. Hasil Penentuan λ Optimum Larutan Standar Kasein

No	Panjang Gelombang (λ)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
		A1	A2	A3	
1	650	0,110	0,110	0,110	0,11000
2	660	0,113	0,113	0,113	0,11300
3	670	0,114	0,114	0,114	0,11400
4	680	0,116	0,116	0,115	0,11566
5	690	0,118	0,118	0,118	0,118
6	700	0,121	0,120	0,120	0,12033
7	710	0,122	0,122	0,122	0,12200
8	720	0,122	0,122	0,122	0,12200
9	730	0,123	0,123	0,123	0,12300
10	740	0,125	0,125	0,126	0,12533
11	750	0,128	0,127	0,127	0,12733
12	760	0,129	0,129	0,129	0,12900
13	770	0,127	0,127	0,127	0,12700
14	780	0,125	0,125	0,125	0,12500
15	790	0,125	0,125	0,125	0,12500
16	800	0,125	0,125	0,125	0,12500

Tabel 2. 2. Hasil Penentuan Kurva Standar Kasein pada $\lambda = 760 \text{ nm}$

No	Konsentrasi (mg. mL ⁻¹)	Absorbansi			Absorbansi
		A1	A2	A3	Rata-rata
1	0	0	0	0	0
2	0,06	0,028	0,028	0,028	0,02800
3	0,12	0,069	0,069	0,068	0,06966
4	0,18	0,103	0,103	0,103	0,10300
5	0,24	0,117	0,117	0,117	0,11700
6	0,30	0,129	0,129	0,129	0,12900

Tabel 2. 3. Hasil Penentuan Rumus Kurva Standar Kasein pada $\lambda = 760 \text{ nm}$

No	Xi	Yi	(Xi)(Yi)	(Xi) ²
1	0	0	0	0
2	0,06	0,02800	0,00168	0,003600
3	0,12	0,06866	0,00824	0,01440
4	0,18	0,10300	0,01854	0,03240
5	0,24	0,11700	0,02808	0,05760
6	0,30	0,12900	0,03870	0,09000
$\Sigma Xi = 0,90$		$\Sigma Yi = 0,44566$	$\Sigma (Xi)(Yi) = 0,09524$	$\Sigma (Xi)^2 = 0,198$

Keterangan:

Xi = Konsentrasi Kasein (mg. mL⁻¹)

Yi = Absorbansi rata-rata dari A1, A2, dan A3

Perhitungan

Persamaan garis lurusnya adalah $Y = aX + b$

$$a = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$a = \frac{6(0,09524) - (0,9)(0,44566)}{6(0,198) - (0,9)^2}$$

$$a = \frac{0,57144 - 0,40109}{1,1880 - 0,8100}$$

$$a = 0,451$$

$$b = \frac{\sum Y_i - a \sum X_i}{n}$$

$$b = \frac{0,44566 - (0,451)(0,9)}{6}$$

$$b = 0,0065$$

Sehingga $Y = 0,451x + 0,0065$



Sehingga untuk menentukan kadar protein digunakan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{Y - 0,0065}{0,0451} \times fp$$

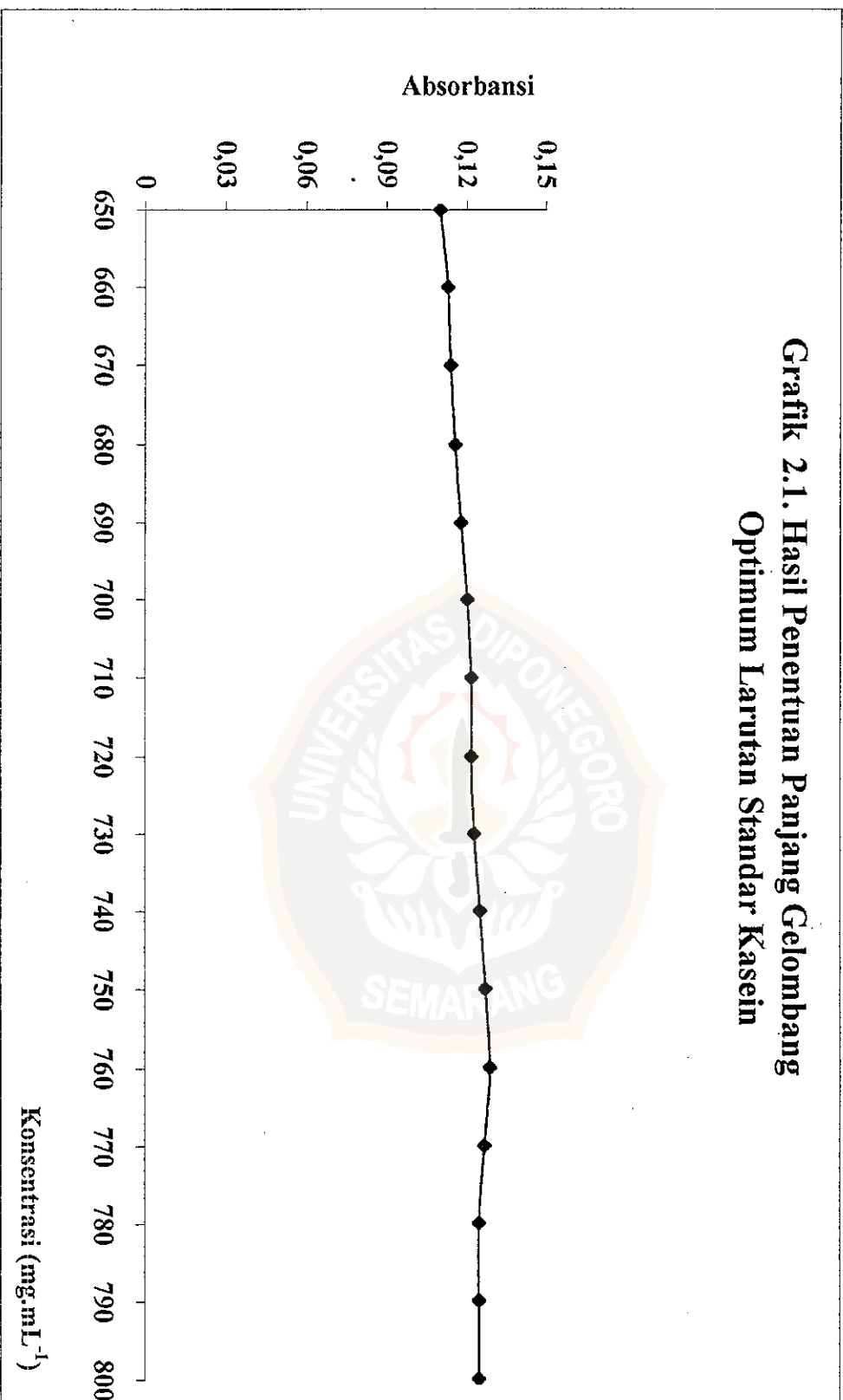
Dimana: X = konsentrasi protein enzim (mg. mL⁻¹)

Y = absorbansi

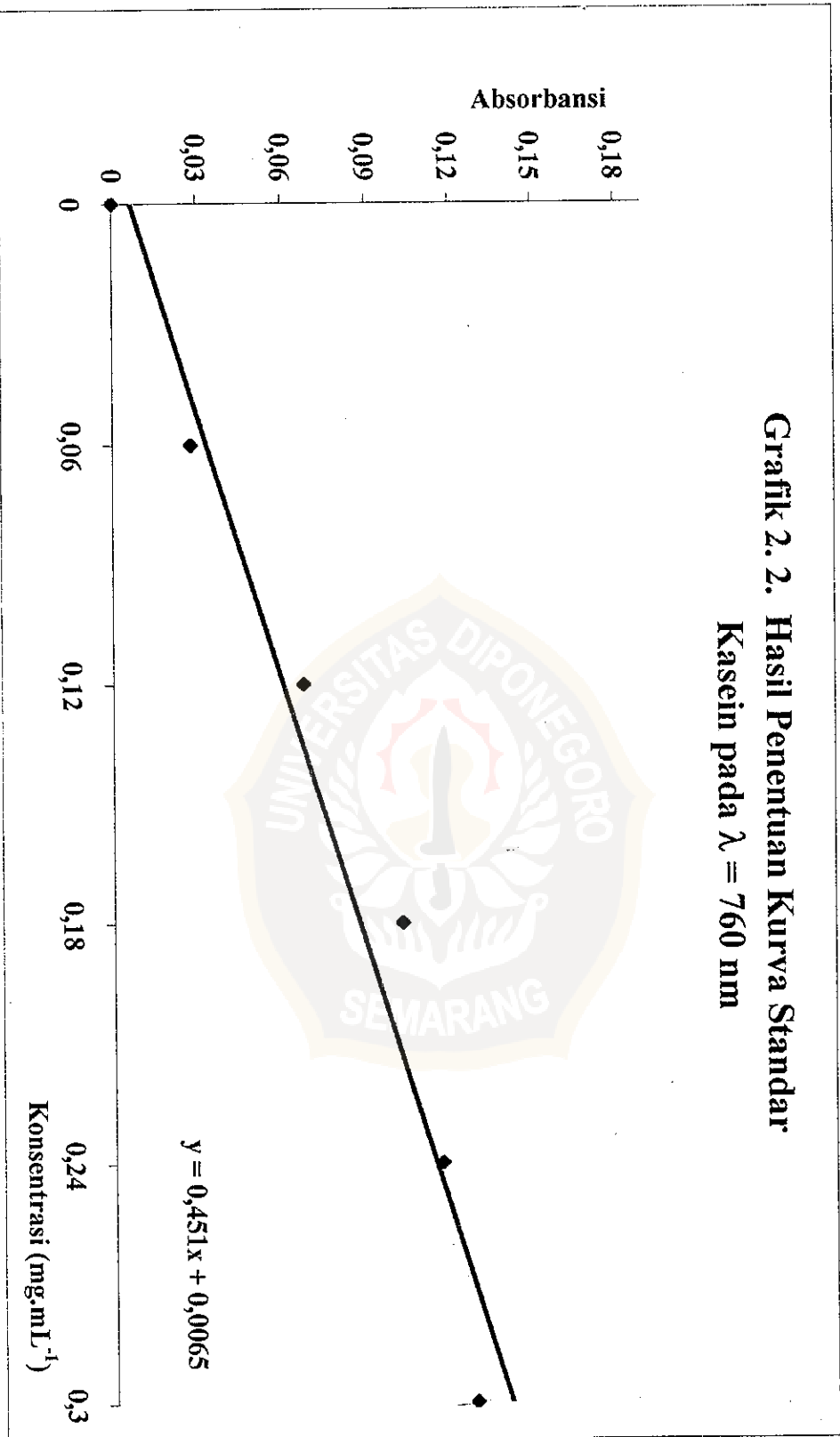
fp = faktor pengenceran



Grafik 2.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Kasein



**Grafik 2. 2. Hasil Penentuan Kurva Standar
Kasein pada $\lambda = 760$ nm**



Lampiran 3. Hasil Penentuan Fraksi Optimum

Tabel 3. 1. Hasil Penentuan Unit Aktivitas Enzim Berbagai Fraksi

No	Fraksi	Absorbansi (400 nm)			Absorbansi rata-rata	Unit Aktivitas (U. mL ⁻¹)
		A1	A2	A3		
1	Ek	0,032	0,032	0,032	0,032	6,5684
2	F1	0,044	0,044	0,044	0,044	10,1839
3	F2	0,076	0,076	0,076	0,076	19,4706
4	F3	0,050	0,050	0,050	0,050	11,8466
5	F4	0,026	0,026	0,026	0,026	4,8090
6	F5	0,036	0,036	0,036	0,036	7,7413

Tabel 3. 2. Hasil Penentuan Kadar Protein Enzim Berbagai Fraksi

No	Fraksi	Absorbansi (400 nm)			Absorbansi rata-rata	Kadar Protein (mg. mL ⁻¹)
		A1	A2	A3		
1	Ek	0,115	0,114	0,114	0,14433	23,2909
2	F1	0,048	0,048	0,048	0,04800	4,6010
3	F2	0,039	0,039	0,039	0,03900	1,4420
4	F3	0,060	0,060	0,060	0,06000	1,1740
5	F4	0,018	0,018	0,018	0,01800	0,2550
6	F5	0,131	0,131	0,131	0,13100	0,2760

Di mana:

EK = Ekstrak kasar

F1 = Fraksi dengan kejenuhan 0-20 %

F2 = Fraksi dengan kejenuhan 20-40 %

F3 = Fraksi dengan kejenuhan 40-60 %

F4 = Fraksi dengan kejenuhan 60-80 %

F5 = Fraksi dengan kejenuhan 80-100 %

Tabel 3. 3. Aktivitas Spesifik Enzim Berbagai Fraksi

No	Fraksi	Unit Aktivitas (U. mL ⁻¹)	Kadar Protein (mg. mL ⁻¹)	Aktivitas Spesifik (U. mg protein ⁻¹)	Tingkat Kemurnian
1	EK	6,5684	23,2909	0,2820	1
2	F1	10,1839	4,6010	2,2134	8
3	F2	19,4706	1,4420	13,5024	48
4	F3	11,8466	1,1740	10,1253	36
5	F4	4,8090	0,2550	18,8588	67
6	F5	7,7413	0,2760	28,0483	100



Lampiran 4. Hasil Penentuan pH Optimum

Tabel 4. 1. Hasil Penentuan Unit Aktivitas Enzim Fraksi 5 pada berbagai variasi pH

No	pH	Absorbansi (400 nm)			Absorbansi rata-rata	Unit Aktivitas (U. mL ⁻¹)
		A1	A2	A3		
1	7,0	0,012	0,012	0,012	0,012	0,7038
2	7,5	0,034	0,034	0,034	0,034	7,1549
3	8,0	0,051	0,051	0,051	0,051	12,1398
4	8,4	0,049	0,049	0,049	0,049	11,5533
5	8,5	0,040	0,040	0,040	0,040	8,9143
6	8,6	0,036	0,036	0,036	0,036	7,7413
7	9,0	0,028	0,028	0,028	0,028	5,3955

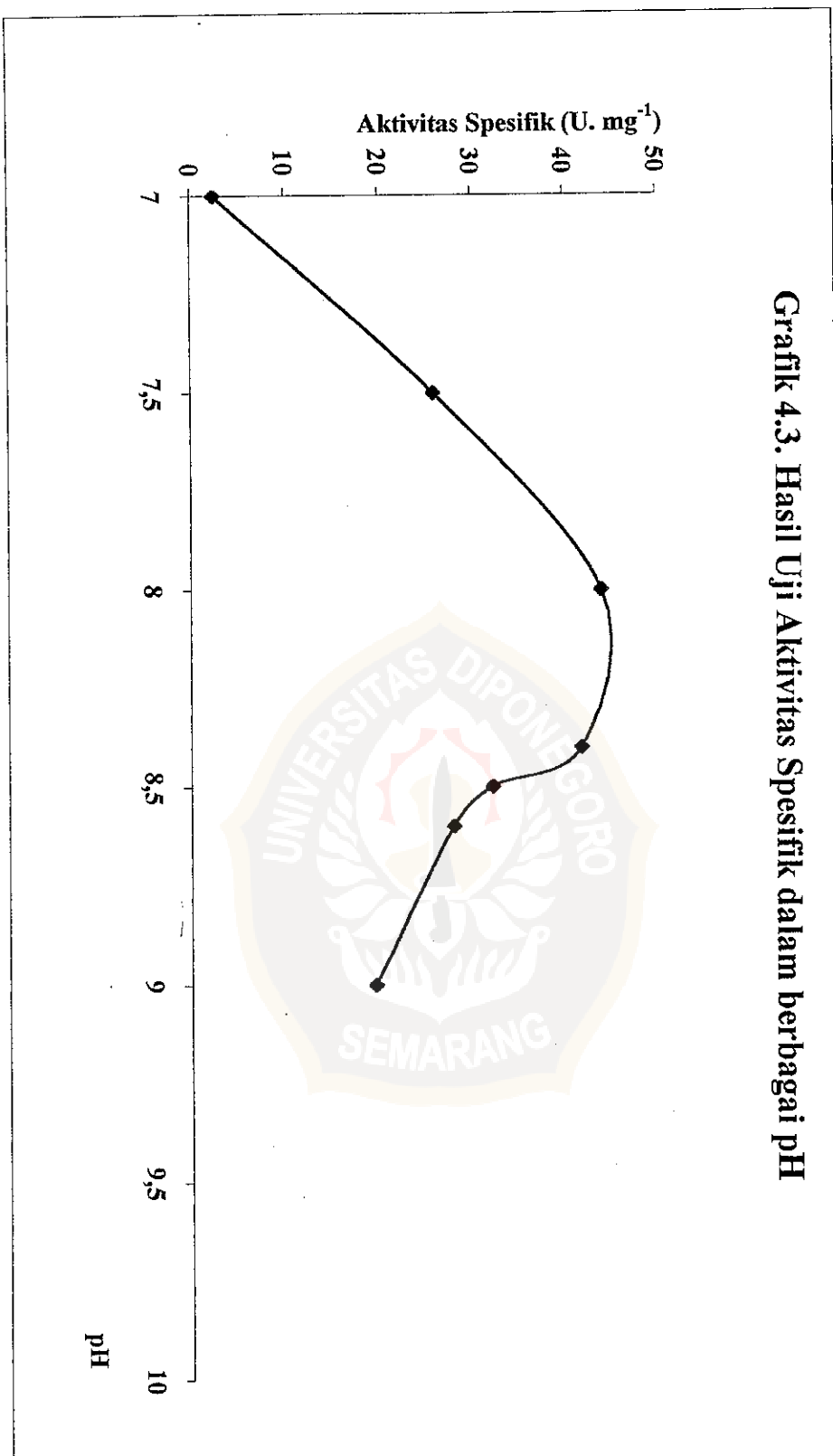
Tabel 4. 2. Hasil Penentuan Kadar Protein Fraksi 5

No	Absorbansi (760 nm)			Absorbansi rata-rata	Kadar Protein (mg. mL ⁻¹)
	A1	A2	A3		
	0,131	0,131	0,131	0,131	0,276

Tabel 4. 3. Aktivitas Spesifik Enzim Fraksi 5 pada berbagai variasi pH

No	pH	Aktivitas Spesifik (U. mg protein ⁻¹)
1	7,0	2,5498
2	7,5	25,9234
3	8,0	43,9848
4	8,4	41,8599
5	8,5	32,2980
6	8,6	28,0483
7	9,0	19,5488

Grafik 4.3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam berbagai pH



Lampiran 5. Hasil Penentuan Temperatur Optimum

Tabel 5. 1. Hasil Penentuan Unit Aktivitas Enzim Fraksi 5 pada berbagai variasi Temperatur

No	Temperatur (°C)	Absorbansi (400 nm)			Absorbansi rata-rata	Unit Aktivitas (U. mL ⁻¹)
		A1	A2	A3		
1	33	0,018	0,018	0,018	0,018	2,4631
2	35	0,038	0,038	0,0380	0,038	8,3278
3	37	0,051	0,051	0,051	0,051	12,1398
4	39	0,036	0,036	0,036	0,036	7,7413
5	41	0,015	0,015	0,015	0,015	1,5835

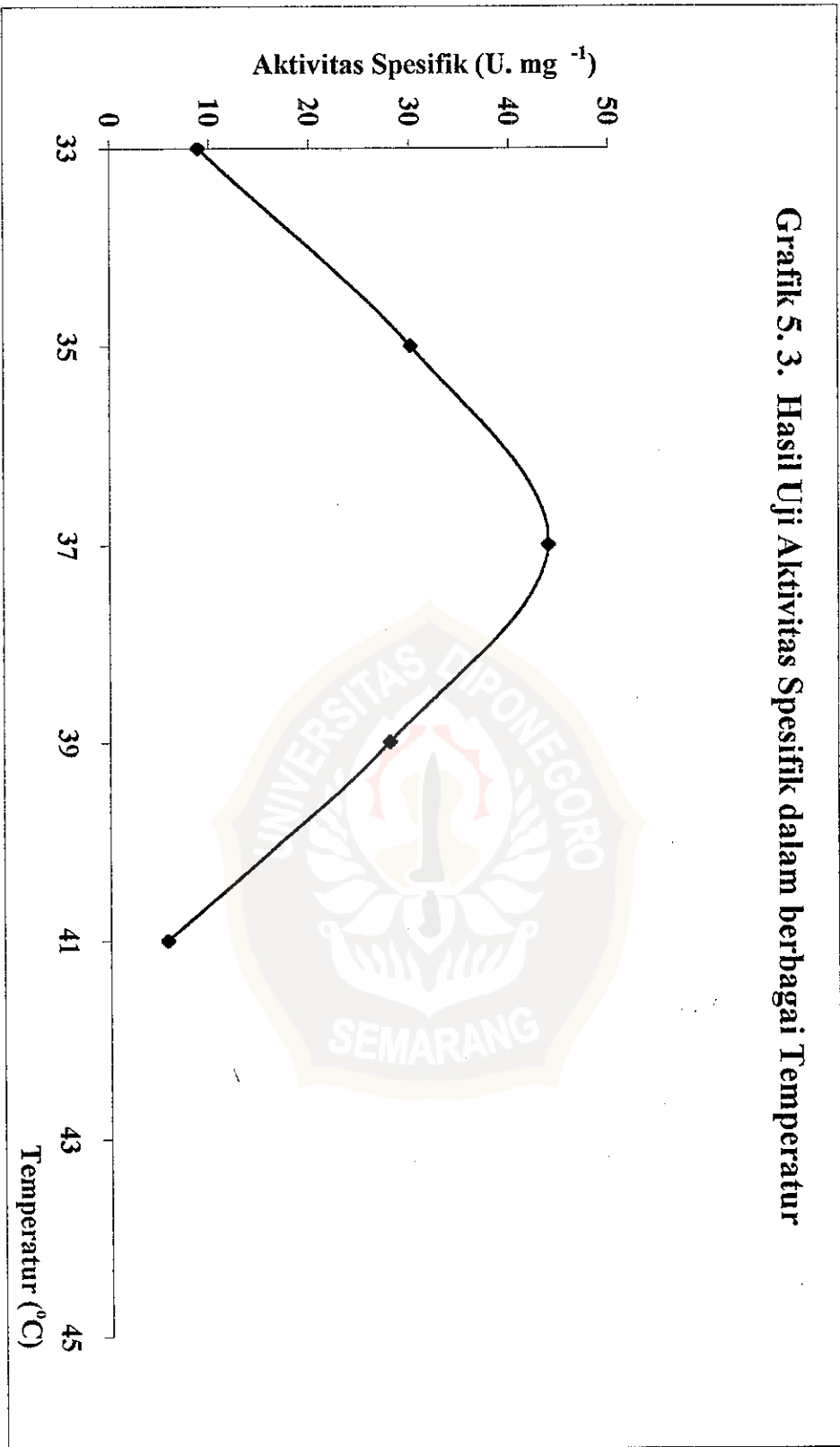
Tabel 5. 2. Hasil Penentuan Kadar Protein Fraksi 5

No	Absorbansi (760 nm)			Absorbansi rata-rata	Kadar Protein (mg. mL ⁻¹)
	A1	A2	A3		
	0,131	0,131	0,131	0,131	0,276

Tabel 5. 3. Aktivitas Spesifik Enzim Fraksi 5 pada berbagai variasi Temperatur

No	Temperatur (°C)	Aktivitas Spesifik (U. mg protein ⁻¹)
1	33	8,9244
2	35	30,1732
3	37	43,9848
4	39	28,0483
5	41	5,7371

Grafik 5. 3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam berbagai Temperatur



Lampiran 6. Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Tabel 6. 1. Hasil Penentuan Aktivitas Enzim Fraksi 5 pada berbagai variasi waktu inkubasi

No	Waktu (menit)	Absorbansi (400 nm)			Absorbansi rata-rata	Unit Aktivitas (U. mL ⁻¹)
		A1	A2	A3		
1	26	0,017	0,017	0,017	0,017	2,5037
2	28	0,024	0,024	0,024	0,024	4,5241
3	30	0,051	0,051	0,051	0,051	12,1398
4	32	0,030	0,030	0,030	0,030	5,6081
5	34	0,028	0,028	0,028	0,028	4,7607

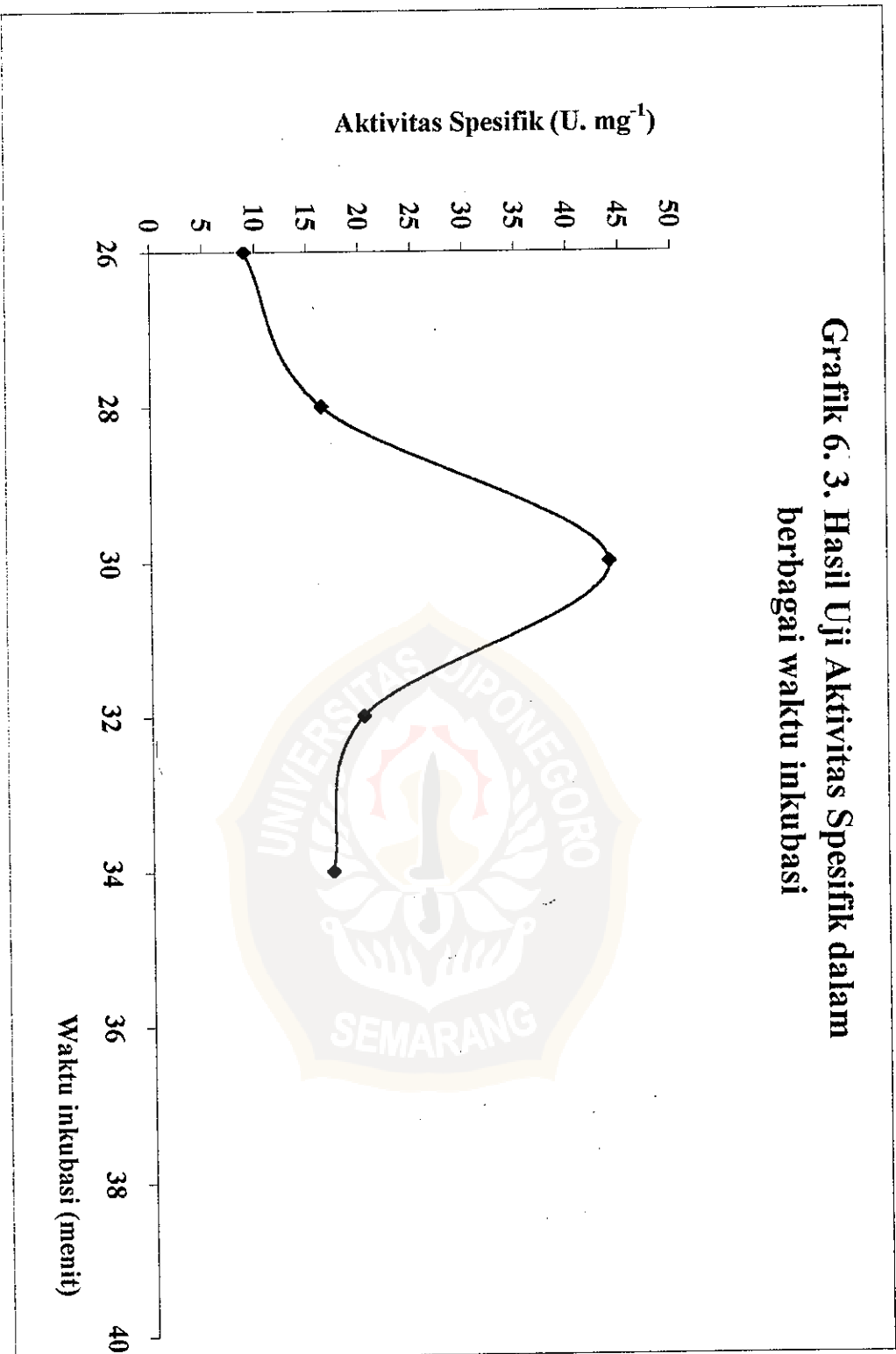
Tabel 6. 2. Hasil Penentuan Kadar Protein Fraksi 5

No	Absorbansi (760 nm)			Absorbansi rata-rata	Kadar Protein (mg. mL ⁻¹)
	A1	A2	A3		
	0,131	0,131	0,131	0,131	0,276

Tabel 6. 3. Aktivitas Spesifik Enzim Fraksi 5 pada berbagai variasi waktu inkubasi

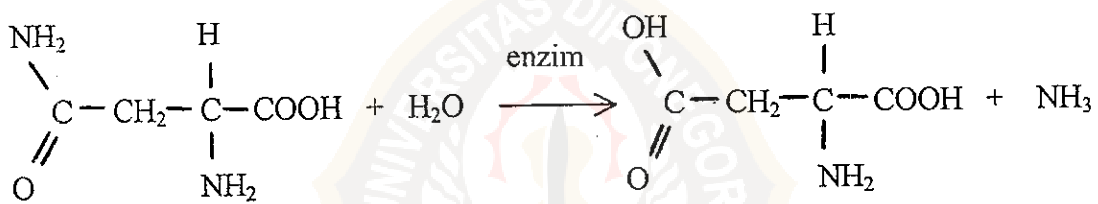
No	Waktu (menit)	Aktivitas Spesifik (U. mg protein ⁻¹)
1	26	9,0715
2	28	16,3919
3	30	43,9848
4	32	20,3191
5	34	17,2489

Grafik 6. 3. Hasil Uji Aktivitas Spesifik dalam berbagai waktu inkubasi



Lampiran 7. Reaksi Katalisis Enzim Asparaginase

L-Asparaginase



Lampiran 8 Daftar Kebutuhan Ammonium 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