

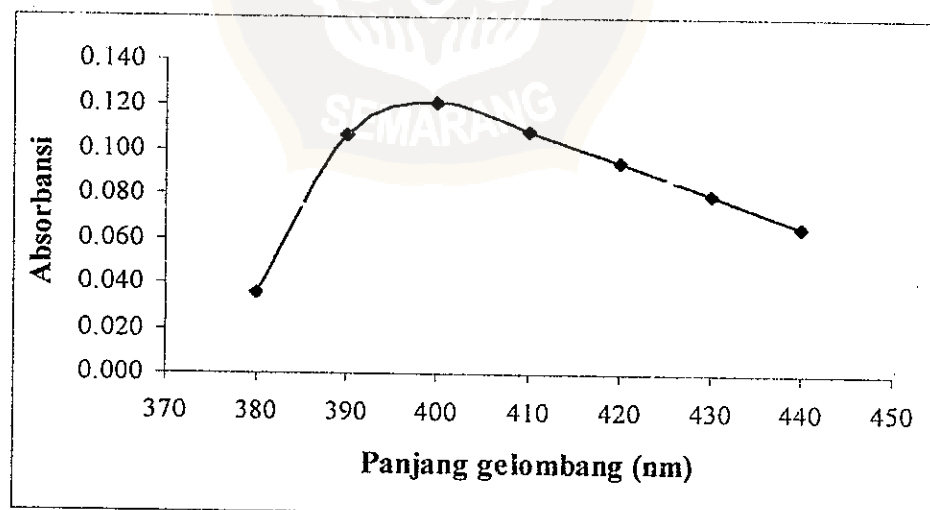
LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum, Kurva Standar dan Rumus Kurva Standar Ammonium Sulfat.

Tabel 1.1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum (λ_{opt} larutan standar amonium sulfat).

No	Panjang Gelombang (λ) (nm)	Absorbansi
1	380	0,036
2	390	0,1065
3	400	0,121
4	410	0,1085
5	420	0,0945
6	430	0,080
7	440	0,066

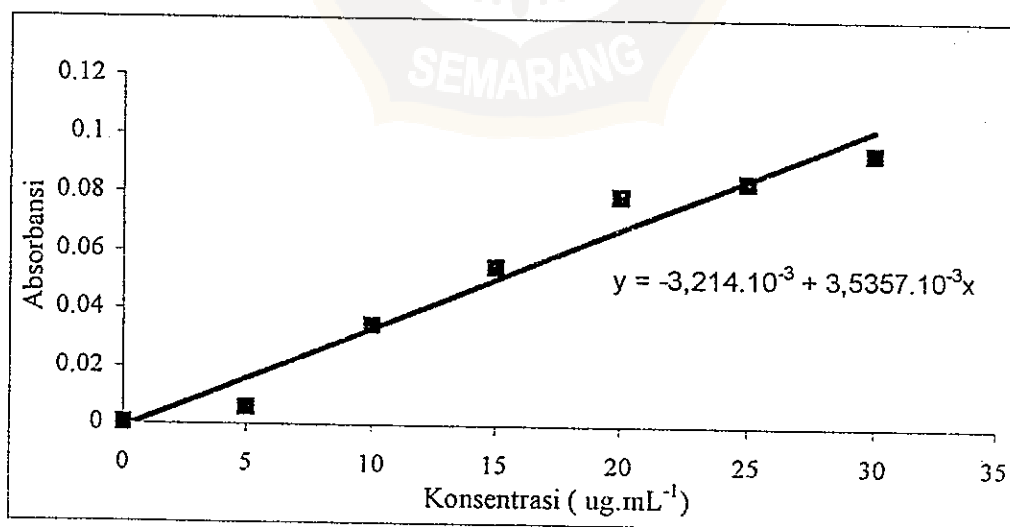
Garfik 1.1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum amonium sulfat



Tabel 1.2. Hasil penentuan kurva standar amonium sulfat pada $\lambda = 400 \text{ nm}$, dan rumus kurva standar amonium sulfat.

No	Konsentrasi (x) ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi (y)	x.y	x^2
1	5	0,0055	0,0275	25
2	10	0,0345	0,3450	100
3	15	0,0545	0,8175	225
4	20	0,0790	1,5800	400
5	25	0,0840	2,1000	625
6	30	0,0940	2,8200	900
7	35	0,1210	4,2350	1225
n=7	$\Sigma x = 140$	$\Sigma y = 0,4725$	$\Sigma xy = 11,9250$	$\Sigma x^2 = 3500$

Grafik 1.2. Hasil penentuan kurva standar amonium sulfat



Keterangan:

X = konsentrasi amonium sulfat $\mu\text{g.mL}^{-1}$

Y = absorbansi

Perhitungan :

Persamaan garis lurus adalah : $y = a + bx$

Dimana : a = intersep

b = gradien

$$\Leftrightarrow b = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{7(11,926) - (140)(0,4725)}{7(3500) - 140^2}$$

$$b = 0,00353557$$

$$\Leftrightarrow a = \frac{\sum y - b\sum x}{n}$$

$$a = \frac{0,4725 - (0,00353557)(140)}{7}$$

$$a = -0,003214$$

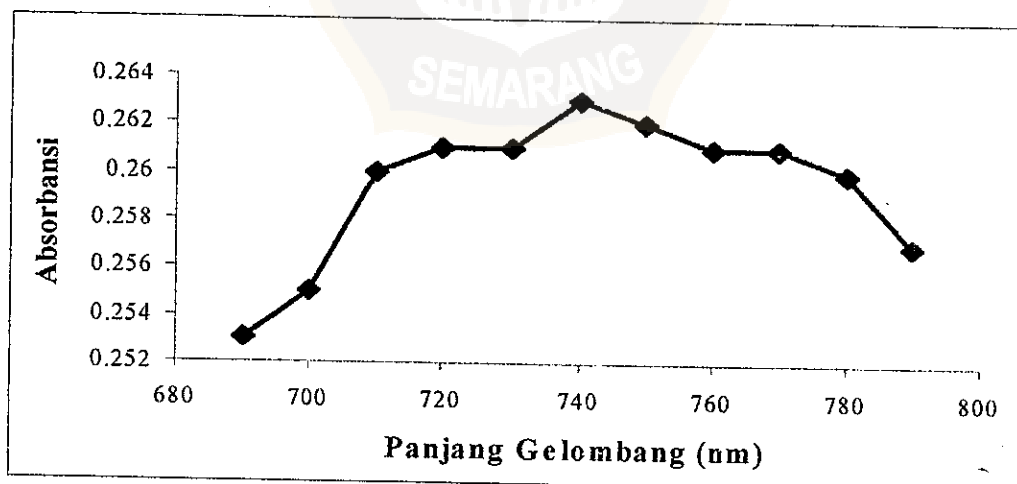


Lampiran 2. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum, Kurva Standar,
Rumus Kurva Standar Kasein dan Kadar Protein tiap Fraksi

Tabel 2.1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum larutan standar kasein

Panjang Gelombang (λ) (nm)	Absorbansi
690	0,253
700	0,255
710	0,260
720	0,261
730	0,261
740	0,263
750	0,262
760	0,261
780	0,260
790	0,257

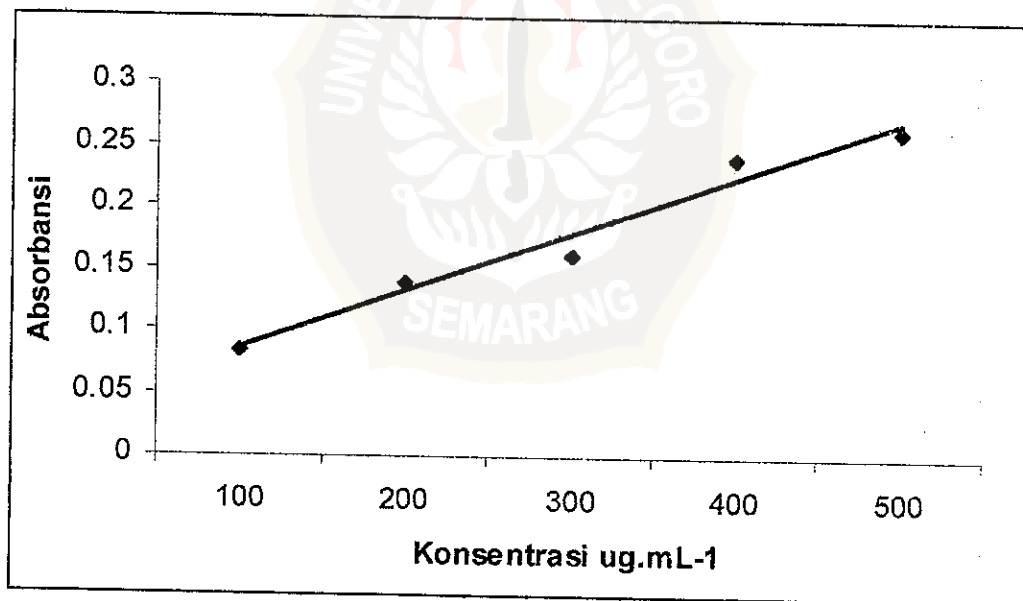
Grafik 2.1. Hasil penentuan panjang gelombang optimum kasein



Tabel 2.2. Hasil penentuan rumus kurva standar kasein pada $\lambda = 740 \text{ nm}$

No	Konsentrasi (x) ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi (y)	xy	x^2
1	100	0,083	8,3	10000
2	200	0,137	27,4	40000
3	300	0,160	48	90000
4	400	0,240	96	160000
5	500	0,263	131,5	250000
N = 5	$\Sigma x = 1500$	$\Sigma y = 0,883$	$\Sigma xy = 311,2$	$\Sigma x^2 = 550000$

Grafik 2.2. Kurva standar kasein



Perhitungan :

Persamaan garis lurus adalah : $y = a + bx$

Dimana : $a =$ intersep

$b =$ gradien

$$\begin{aligned}\Leftrightarrow b &= \frac{n\sum y - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2} \\ &= \frac{5(311,2) - (1500)(0,883)}{5(55000) - 1500^2} \\ &= 0,000463\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Leftrightarrow a &= \frac{\sum y - b\sum x}{n} \\ &= \frac{0,883 - (0,000463)(150)}{5} \\ &= 0,0377\end{aligned}$$

jadi persamaan garis kurva standar kasein adalah:

$$Y = 0,0377 + 0,000463x$$

Pada uji kadar protein, digunakan rumus:

$$X = \frac{y - 0,0377}{0,000463} x \text{ faktor pengenceran}$$

Dimana : $X =$ kadar protein mg.mL^{-1}

$Y =$ absorbansi

Tabel 2.3. Hasil penentuan kadar protein tiap fraksi

Fraksi	Absorbansi	Faktor Pengenceran	Kadar Protein mg.mL ⁻¹
Ekstrak kasar	0,2397	300	130,99
F1	0,240	350	153,68
F2	0,203	30	10,71
F3	0,1253	30	5,676
F4	0,1623	50	13,45
F5	0,140	60	13,257



Lampiran 3. Penentuan Aktivitas dan Aktivitas Spesifik Enzim Asperaginase

Tabel 3.1. Data absorbansi uji aktivitas (dengan kurva standar amonium sulfat) dan aktivitas enzim tiap fraksi.

Fraksi	Absorbansi			Aktivitas U.mL ⁻¹
	1	2	Rata - rata	
Ek	0,051	0,049	0,050	11,782
F1	0,016	0,013	0,0145	3,922
F2	0,072	0,074	0,073	16,875
F3	0,021	0,019	0,020	5,140
F4	0,044	0,041	0,0425	10,131
F5	0,009	0,006	0,0075	2,372

Keterangan :

- Ek = Ekstrak kasar
- F1 = Fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 0 – 20 %
- F2 = Fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 20 – 40 %
- F3 = Fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 40 – 60 %
- F4 = Fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 60 – 80 %
- F5 = Fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 80 – 100 %

Perhitungan :

$$\text{Aktivitas} = \frac{y-a}{b} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{enzim}}} \times \frac{V_{\text{sampel}}}{V_{\text{analisa}}} \times \frac{1}{BM_{\text{NH}_3}}$$

Dimana : Aktivitas = $\frac{\mu\text{mol}}{\text{mL}} = \text{U.mL}^{-1}$

y = absorbansi rata – rata

$$a = -0,113214$$

$$b = 0,0035357$$

$$V_{\text{total}} = 2 \text{ ml}$$

$$V_{\text{enzim}} = 0,1 \text{ ml}$$

$$V_{\text{sampel}} = 5 \text{ ml}$$

$$V_{\text{analisa}} = 0,25 \text{ ml}$$

$$BM_{\text{NH}_3} = 17,03061 \mu\text{g} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$$

Tabel 3.2. Hasil penentuan aktivitas spesifik dan tingkat kemurnian tiap fraksi

Fraksi	Aktivitas $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$	Kadar Protein $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	Aktivitas Spesifik $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	Tingkat Kemurnian
Ek	11,782	130,99	0,090	1
F1	3,922	153,682	0,026	0,289
F2	16,875	10,710	1,576	17,511
F3	5,140	5,676	0,906	10,067
F4	10,131	13,456	0,753	8,367
F5	2,372	13,257	0,179	1,989

Perhitungan :

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Spesifik} &= \frac{\text{Aktivitas (U/mL)}}{\text{Kadar protein (mg/mL)}} \\ &= \frac{U}{\text{mg}} \end{aligned}$$

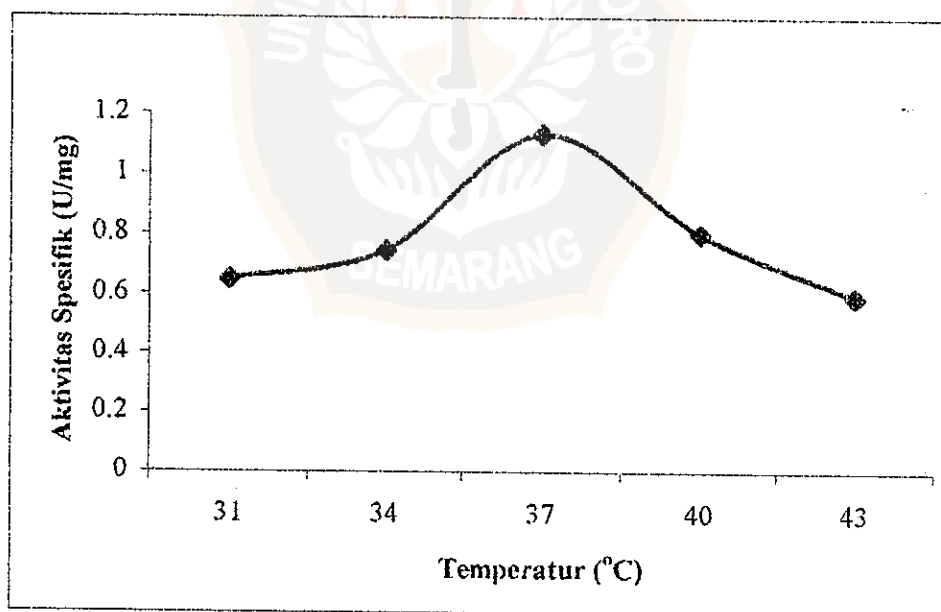
Lampiran 4. Karakterisasi Enzim Asparaginase

Lampiran 4.1. Penentuan Temperatur Optimum.

Tabel 4.1. Data absorbansi pada berbagai variasi temperatur dan penentuan temperatur optimum.

Temperatur °C	Absorbansi	Aktivitas U.mL ⁻¹	Kadar Protein mg.mL ⁻¹	Aktivitas Spesifik U.mg ⁻¹
31	0,0195	6,955	10,710	0,649
34	0,0235	7,975	10,710	0,745
37	0,040	12,109	10,710	1,131
40	0,026	8,589	10,710	0,802
43	0,017	6,327	10,710	0,591

Grafik. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai temperatur

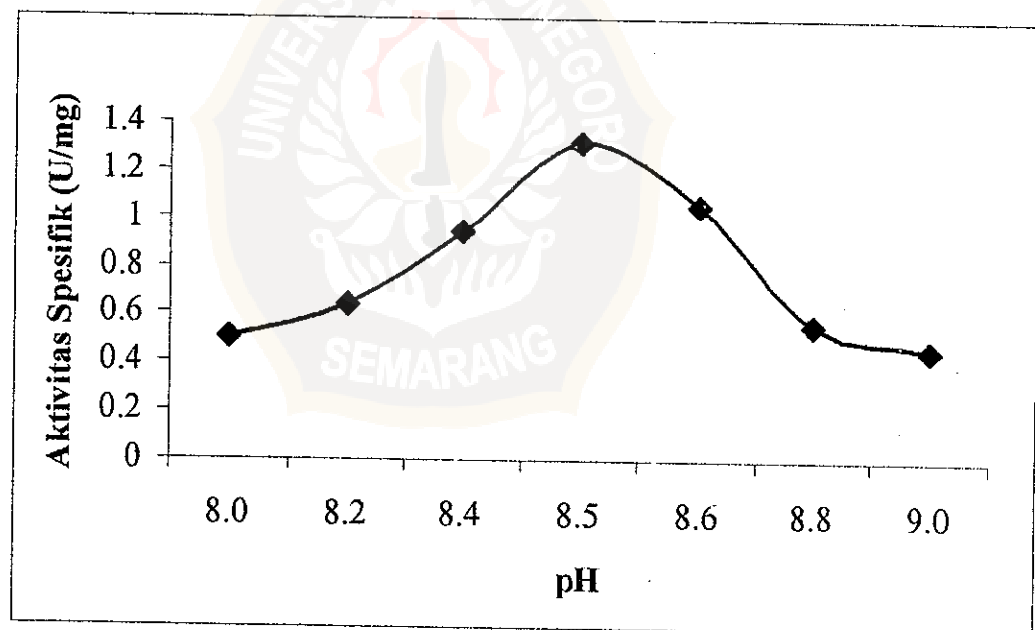


Lampiran 4.2. Penentuan pH Optimum

Tabel 4.2. Data absorbansi pada berbagai variasi pH dan penentuan pH optimum

pH	Absorbansi	Aktivitas (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
8,0	0,022	5,413	10,71	0,505
8,2	0,0275	6,868	10,71	0,641
8,4	0,0405	10,142	10,71	0,947
8,5	0,055	14,142	10,71	1,321
8,6	0,044	11,232	10,71	1,049
8,8	0,024	5,942	10,71	0,555
9,0	0,020	4,885	10,71	0,456

Grafik 4.2. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai pH

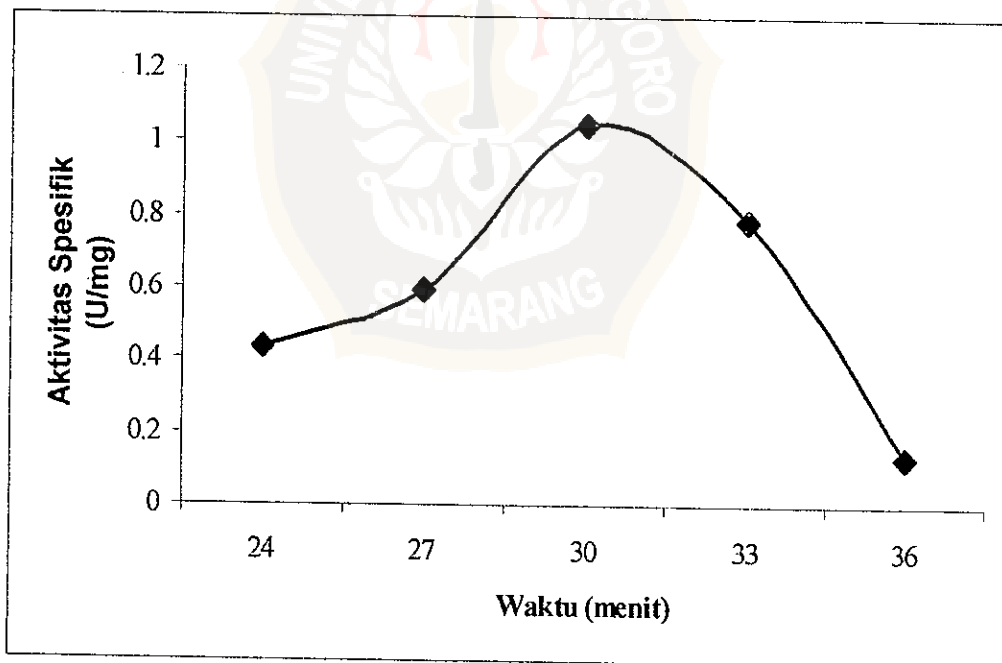


Lampiran 4.3. Penentuan Waktu Inkubasi

Tabel 4.3. Data absorbansi pada berbagai variasi waktu inkubasi dan hasil penentuan waktu inkubasi optimum.

Waktu (menit)	Absorbansi	Aktivitas (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
24	0,0125	4,613	10,710	0,431
27	0,0205	6,373	10,710	0,595
30	0,042	11,238	10,710	1,049
33	0,030	8,420	10,710	0,786
36	0,140	3,394	10,710	0,317

Grafik 4.3. Hasil uji aktivitas spesifik dalam berbagai waktu inkubasi



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										65	101	137	176	214	302	392	
55										33	66	101	137	176	214	302	392
60											33	67	103	141	179	264	353
65												34	69	105	143	227	314
70													34	70	107	190	275
75														35	75	153	237
80															36	115	198
90																77	157