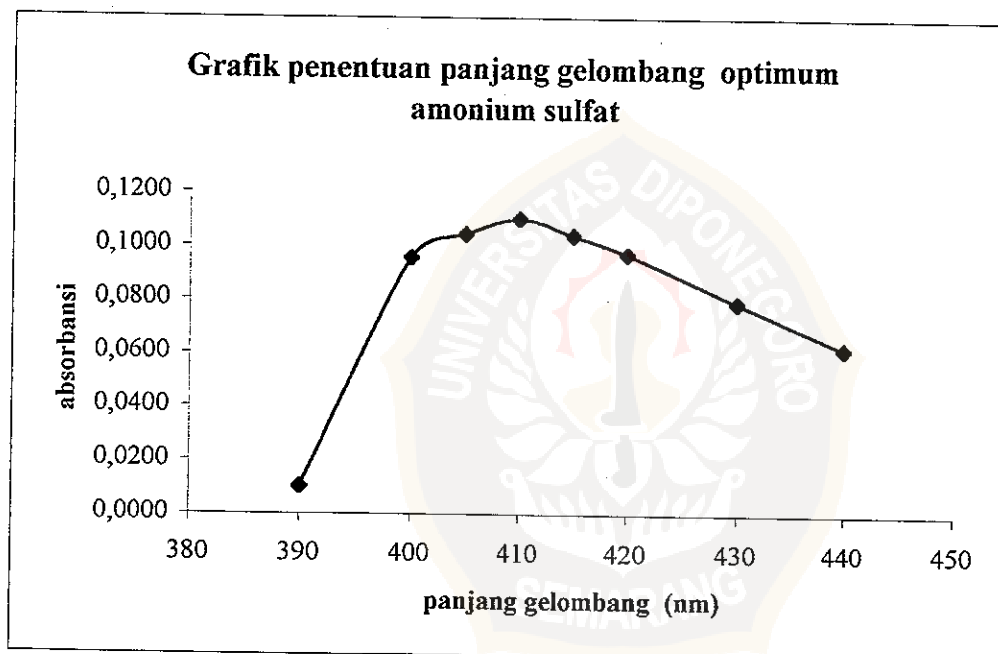


LAMPIRAN

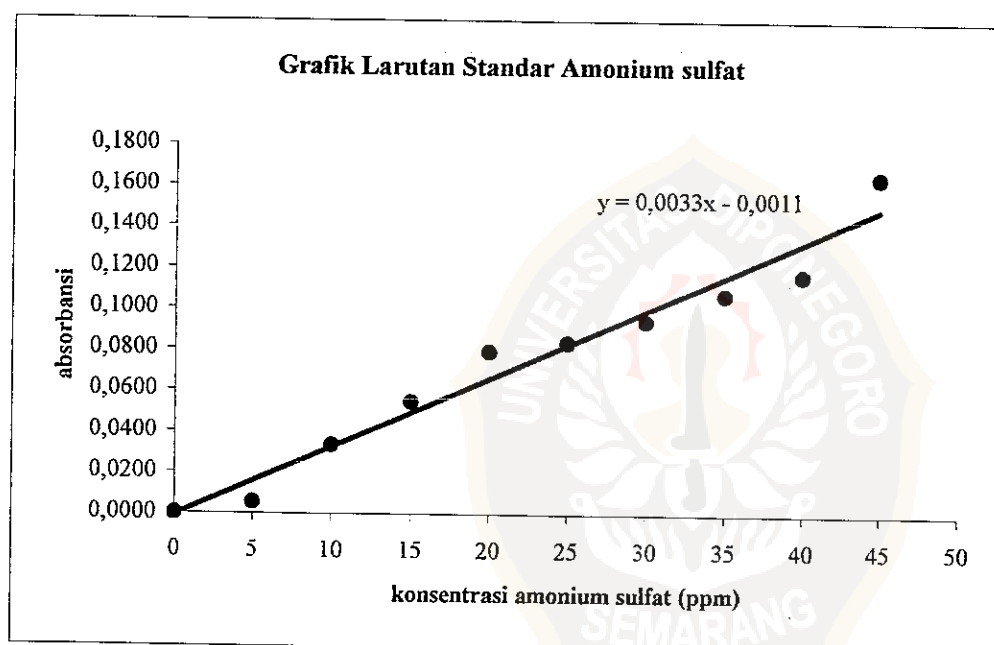
1. Penentuan panjang gelombang optimum standar Amonium sulfat

pj (nm)	A ₁	A ₂	A ₃	A _{rata-rata}
390	0,009	0,011	0,011	0,0103
400	0,095	0,096	0,096	0,0957
405	0,105	0,104	0,104	0,1043
410	0,110	0,110	0,110	0,1100
415	0,104	0,104	0,104	0,1040
420	0,097	0,097	0,097	0,0970
430	0,079	0,079	0,079	0,0790
440	0,063	0,062	0,061	0,0620



2. Penentuan kurva standar Amonium sulfat

konsentrasi (ppm)	A ₁	A ₂	A _{rata-rata}
0	0,000	0,000	0,0000
5	0,006	0,005	0,0055
10	0,033	0,034	0,0335
15	0,054	0,055	0,0545
20	0,079	0,079	0,0790
25	0,083	0,084	0,0835
30	0,094	0,094	0,0940
35	0,107	0,107	0,1070
40	0,115	0,118	0,1165
45	0,165	0,164	0,1645



3. Perhitungan rumus kurva standar Amonium sulfat

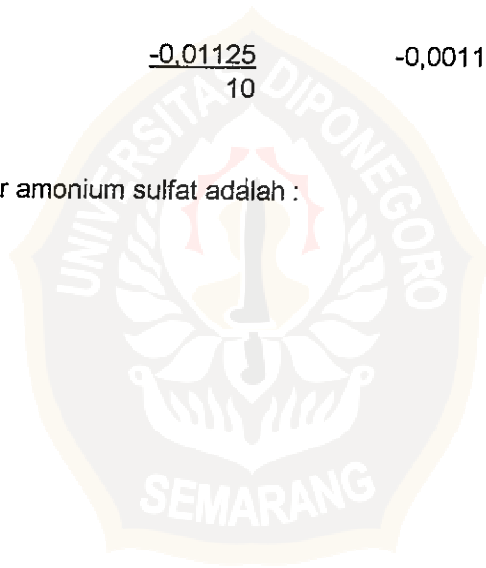
X	Y	XY	X ²
0	0,0000	0,0000	0
5	0,0055	0,0275	25
10	0,0335	0,3350	100
15	0,0545	0,8175	225
20	0,0790	1,5800	400
25	0,0835	2,0875	625
30	0,0940	2,8200	900
35	0,1070	3,7450	1225
40	0,1165	4,6600	1600
45	0,1645	7,4025	2025
225	0,7380	23,4750	7125

$$\text{slope} = \frac{10 \cdot 23,4750 - (225 \cdot 0,7380)}{10 \cdot 7125 - (225 \cdot 225)} = \frac{68,7}{20625} = 0,003331$$

$$\text{intersep} = \frac{0,7380 - (0,003331 \cdot 225)}{10} = \frac{-0,01125}{10} = -0,001125$$

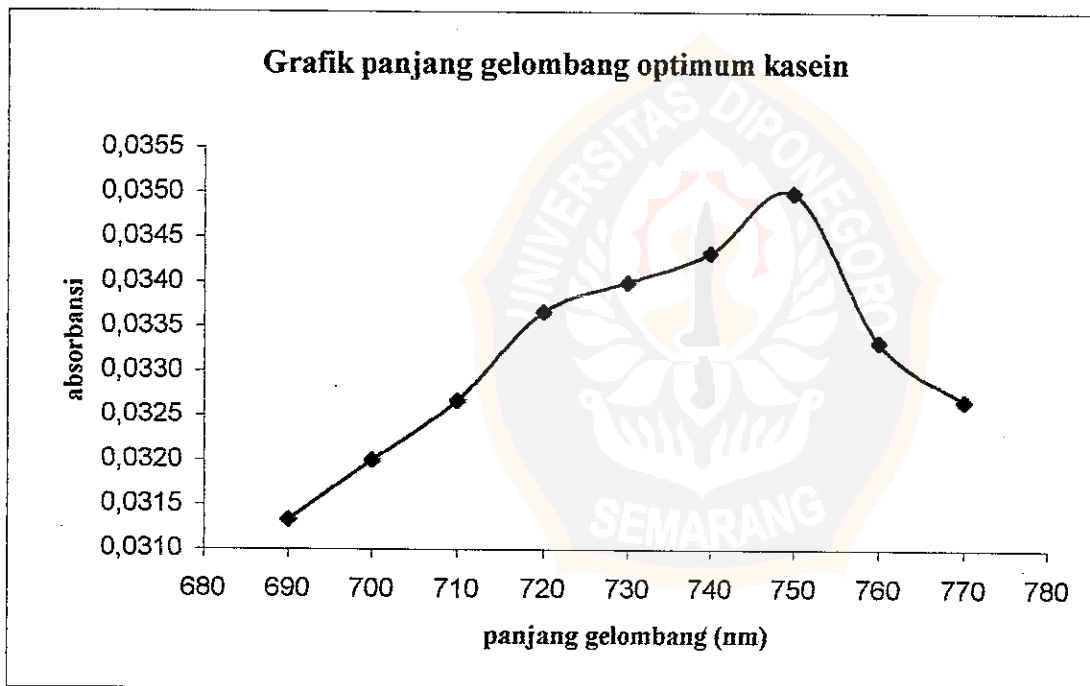
Jadi persamaan garis kurva standar amonium sulfat adalah :

$$Y = 0,003331 X - 0,001125$$



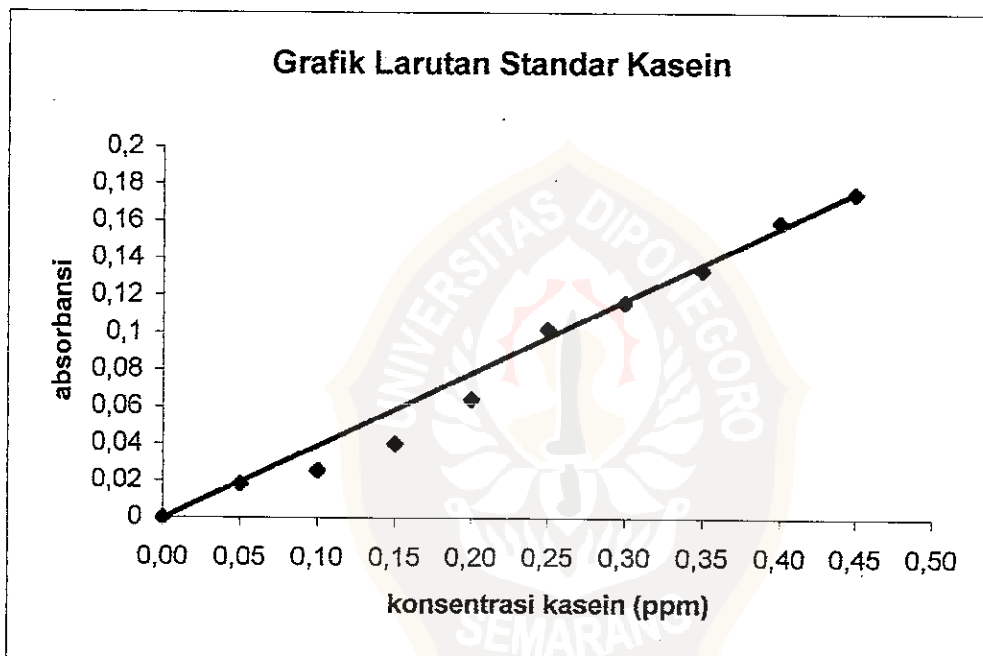
4. Penentuan panjang gelombang optimum standar kasein

λ (nm)	A_1	A_2	A_3	$A_{rata-rata}$
690	0,031	0,031	0,032	0,0313
700	0,032	0,032	0,032	0,0320
710	0,033	0,032	0,033	0,0327
720	0,033	0,034	0,034	0,0337
730	0,034	0,034	0,034	0,0340
740	0,034	0,034	0,035	0,0343
750	0,035	0,035	0,035	0,0350
760	0,034	0,033	0,033	0,0333
770	0,033	0,033	0,032	0,0327



5. Penentuan kurva standar Kasein

[] ppm	A ₁	A ₂	A ₃	A _{rata-rata}
0,00	0,000	0,000	0,000	0,0000
0,05	0,017	0,019	0,019	0,0183
0,10	0,026	0,025	0,026	0,0257
0,15	0,040	0,041	0,040	0,0403
0,20	0,065	0,063	0,064	0,0641
0,25	0,110	0,099	0,098	0,1022
0,30	0,115	0,117	0,117	0,1163
0,35	0,135	0,133	0,134	0,1340
0,40	0,160	0,159	0,160	0,1597
0,45	0,176	0,175	0,175	0,1753



6. Perhitungan rumus kurva standar Kasein

X	Y	XY	X ²
0,00	0,0000	0,0000	0,0000
0,05	0,0183	0,0009	0,0025
0,10	0,0257	0,0026	0,0100
0,15	0,0403	0,0060	0,0225
0,20	0,0641	0,0128	0,0400
0,25	0,1022	0,0256	0,0625
0,30	0,1163	0,0349	0,0900
0,35	0,1340	0,0469	0,1225
0,40	0,1597	0,0639	0,1600
0,45	0,1753	0,0789	0,2025
2,25	0,8359	0,2725	0,7125

$$\text{slope} = \frac{(10 \cdot 0,2725) - (2,25 \cdot 0,8359)}{(10 \cdot 0,7125) - (2,25 \cdot 2,25)} = \frac{0,8442}{2,0625} = 0,4093$$

$$\text{intersept} = \frac{0,8359 - (0,4093 \cdot 2,25)}{10} = \frac{-0,0850}{10} = -0,0085$$

Untuk mengetahui nilai kadar protein digunakan rumus :

$$X = \frac{Y - (-0,0085)}{0,4094}$$

dimana : X = kadar protein (mg)
Y = absorbansi

Pengukuran Kadar Protein

Fraksi	A ₁	A ₂	A ₃	A _{rata-rata}	Kadar Protein (mg/ml)
Ek	1,875	1,884	1,884	1,8810	4,6164
F1	0,174	0,173	0,172	0,1730	0,4434
F2	0,112	0,113	0,112	0,1123	0,2951
F3	0,121	0,121	0,122	0,1213	0,3171
F4	0,113	0,112	0,113	0,1127	0,2961
F5	0,130	0,130	0,130	0,1300	0,3384

7. Rumus Penentuan Aktivitas Enzim

Untuk mendapatkan nilai aktivitas enzim asparaginase digunakan rumus :

$$\text{Aktivitas Enzim (unit)} = \frac{Y - (-0,0011)}{0,0033} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{enzim}}} \times \frac{V_{\text{sampel}}}{V_{\text{analisa}}} \times \frac{1}{\text{BM amonia}}$$

dimana :

Y = absorbansi

V_{total} = volume enzim + substrat + buffer + TCA (2 mL)

V_{enzim} = volume enzim yang dianalisa (0,1 mL)

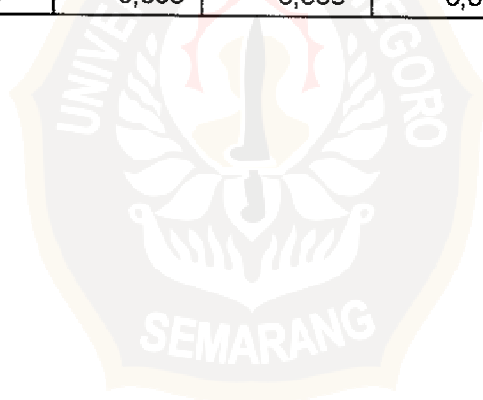
V_{sampel} = volume supernatan + akuades + Nessler (5 mL).

V_{analisa} = volume supernatan yang diukur absorbansinya (0,25 mL)

BM amonia = berat molekul amonia (17 gr/mol)

Pengukuran Aktivitas Enzim

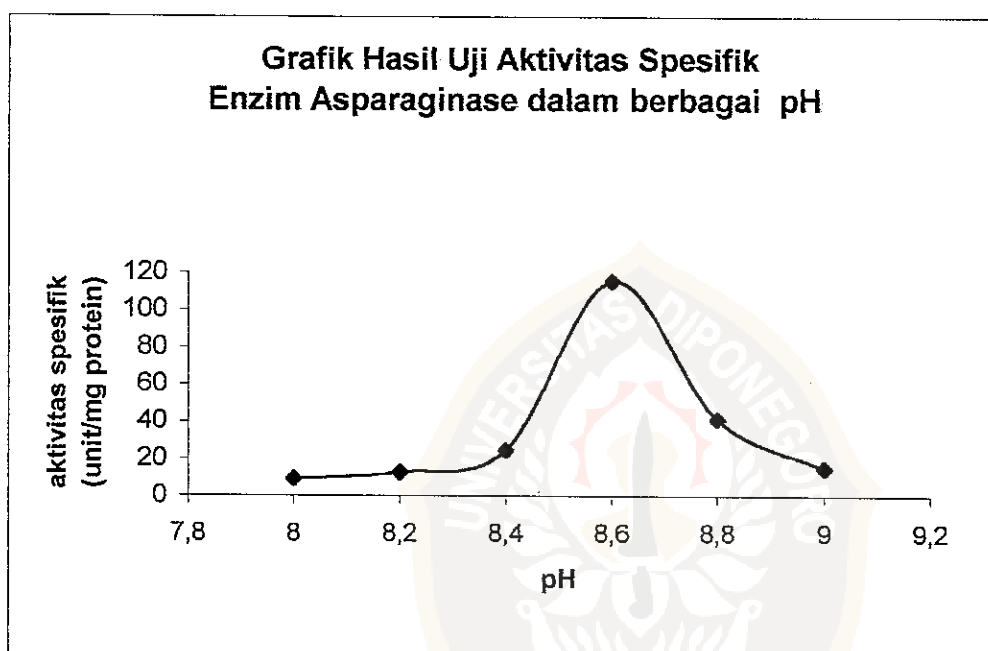
Fraksi	A ₁	A ₂	A ₃	A _{rata-rata}	Aktivitas Enzim (unit)
EK	0,110	0,109	0,109	0,1093	787,152
F ₁	0,006	0,005	0,006	0,0057	48,484
F ₂	0,151	0,153	0,152	0,1520	1091,603
F ₃	0,078	0,078	0,079	0,0783	566,122
F ₄	0,028	0,027	0,028	0,0277	205,344
F ₅	0,009	0,008	0,009	0,0087	69,874



8. Penentuan pH Optimum

pH	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Aktivitas Enzim (unit)	Aktivitas Spesifik Enzim (unit/mg protein)
	A ₁	A ₂	A ₃			
8,0	0,010	0,009	0,010	0,0097	82,731	9,345
8,2	0,013	0,014	0,014	0,0137	113,091	12,774
8,4	0,027	0,028	0,028	0,0277	219,351	24,777
8,6	0,133	0,134	0,134	0,1337	1023,891	115,655
8,8	0,047	0,048	0,047	0,0473	368,115	41,581
9,0	0,016	0,017	0,016	0,0163	132,825	15,003

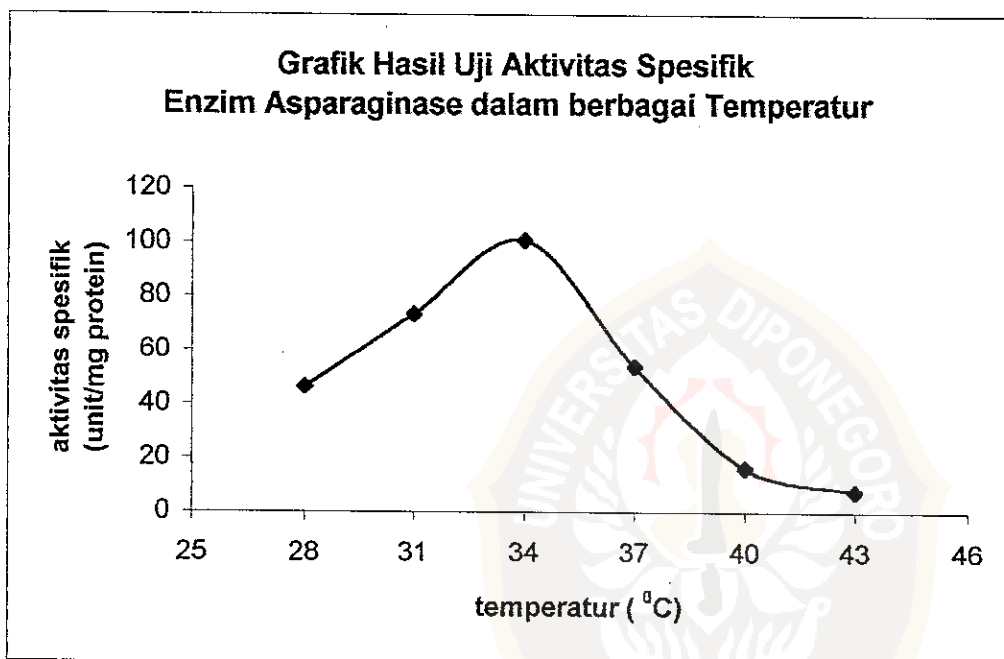
kadar protein = 0.2951



9. Penentuan Temperatur Optimum

temperatur (°C)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Aktivitas Enzim (unit)	Aktivitas Spesifik Enzim (unit/mg protein)
	A ₁	A ₂	A ₃			
28	0,052	0,054	0,053	0,0530	411,3852	46,4685
31	0,085	0,078	0,090	0,0843	648,9564	73,3036
34	0,120	0,116	0,113	0,1163	891,8406	100,7388
37	0,063	0,061	0,061	0,0617	477,4194	53,9274
40	0,016	0,021	0,016	0,0177	143,4535	16,2039
43	0,009	0,007	0,007	0,0077	67,5522	7,6304

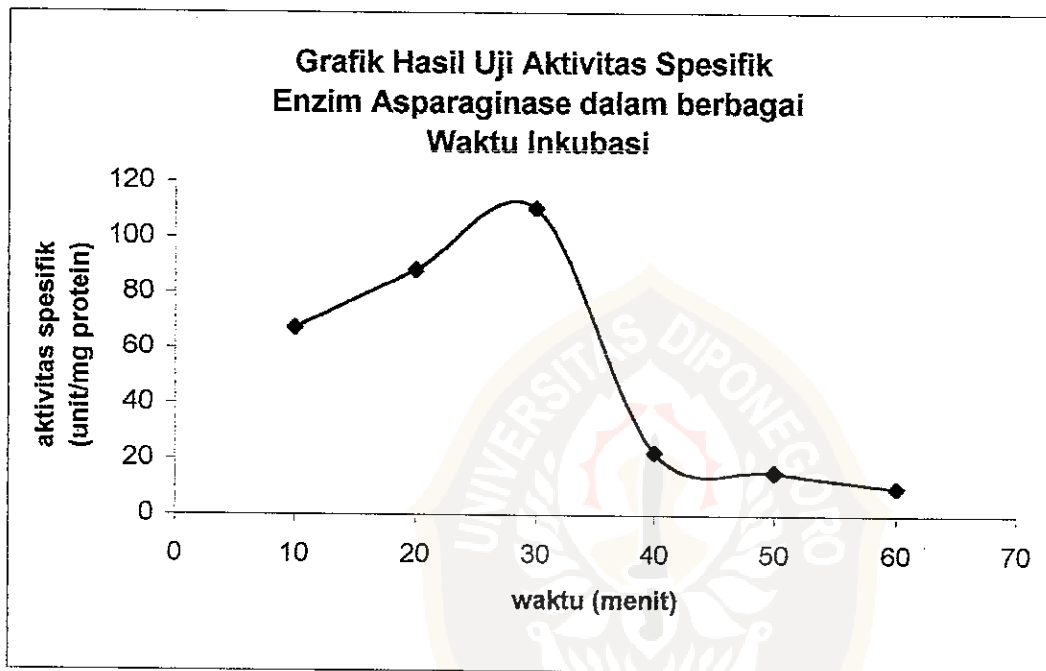
kadar protein =0.2951



10. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

t (menit)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Aktivitas Enzim (unit)	Aktivitas Spesifik Enzim (unit/mg protein)
	A ₁	A ₂	A ₃			
10	0,078	0,077	0,077	0,0773	595,8254	67,3021
20	0,102	0,101	0,102	0,1017	781,0247	88,2215
30	0,128	0,128	0,127	0,1277	978,3681	110,5126
40	0,025	0,025	0,025	0,0250	198,8615	22,4626
50	0,016	0,017	0,017	0,0167	135,8634	15,3466
60	0,010	0,010	0,011	0,0103	87,2865	9,8595

kadar protein = 0.2951



Lampiran 11. Daftar Kebutuhan Amonium Sulfat untuk Fraksinasi Bertingkat

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