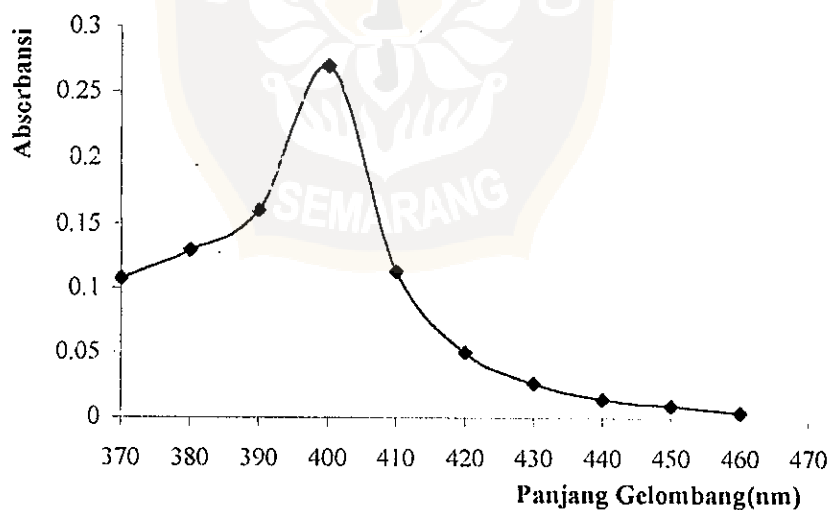


LAMPIRAN 1. Tabel dan Grafik Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar Amonium Sulfat

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

Panjang gelombang (nm)	A ₁	A ₂	A _{rata-rata}
370	0,107	0,107	0,107
380	0,130	0,128	0,129
390	0,160	0,160	0,160
400	0,270	0,270	0,270
410	0,112	0,114	0,113
420	0,050	0,050	0,050
430	0,025	0,027	0,026
440	0,014	0,014	0,014
450	0,009	0,009	0,009
460	0,004	0,004	0,004

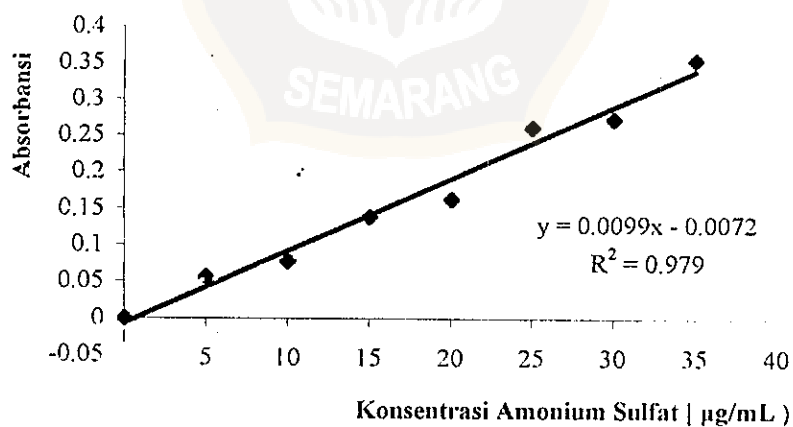


Grafik I. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Amonium Sulfat

LAMPIRAN 2. Tabel dan Grafik Penentuan Kurva Standar Amonium Sulfat pada $\lambda = 400$ nm

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

Konsentrasi [$\mu\text{g/mL}$]	A_1	A_2	$A_{\text{rata-rata}}$
0	0	0	0
5	0,056	0,056	0,056
10	0,077	0,077	0,077
15	0,138	0,140	0,139
20	0,163	0,163	0,163
25	0,261	0,261	0,261
30	0,273	0,273	0,273
35	0,354	0,356	0,355



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

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

X	Y	XY	X ²
0	0	0	0
5	0,056	0,280	25
10	0,077	0,770	100
15	0,139	2,085	225
20	0,163	3,260	400
25	0,261	6,525	625
30	0,273	8,190	900
35	0,355	12,425	1225
140	1,324	33,535	3500

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

$$a = \frac{8(33,535) - (1400)(1,324)}{8(3500) - (19600)} = \frac{82,92}{8400} = 0,0099$$

$$\text{intersept} = b = \frac{\sum Y_i - (a \sum X_i)}{n}$$

$$= \frac{1,324 - (0,0099)(140)}{8} = \frac{-0,0578}{8} = -0,0072$$

Jadi persamaan garis kurva standar amonium sulfat adalah :

$$Y = 0,0099X - 0,0072$$

LAMPIRAN 4. Rumus Penentuan Aktivitas Enzim

Untuk mendapatkan nilai aktivitas asparaginase digunakan rumus :

$$\text{Aktivitas Enzim (Unit)} = \frac{Y - (-0,0072)}{0,0099} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{enzim}}} \times \frac{V_{\text{sampel}}}{V_{\text{analisa}}} \times \frac{1}{BM_{\text{amonia}}} \times \frac{1}{t_{\text{inkubasi}}}$$

dengan :

Y = absorbansi

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

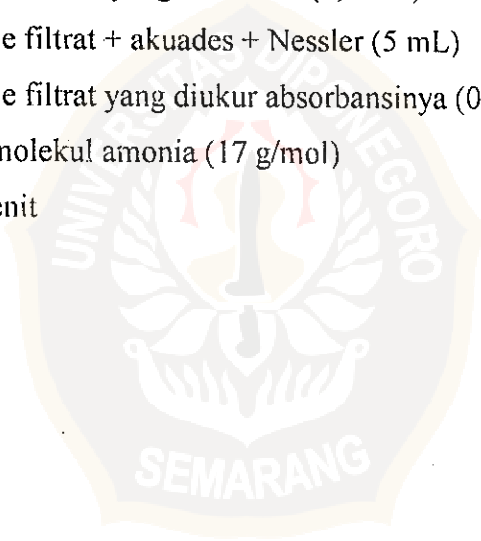
V_{enzim} = volume enzim yang dianalisis (0,1 mL)

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

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

BM_{amonia} = berat molekul amonia (17 g/mol)

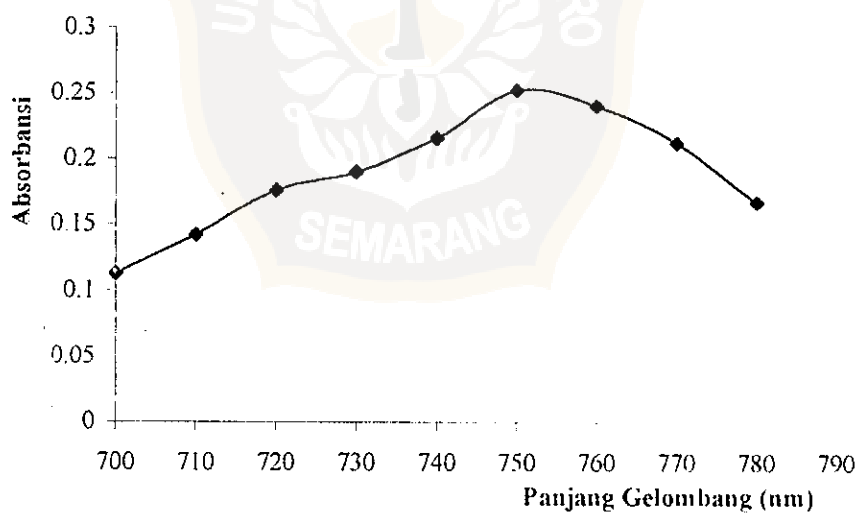
t_{inkubasi} = 30 menit



LAMPIRAN 5. Tabel dan Grafik Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar BSA

Tabel 5. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar BSA

Panjang gelombang (nm)	A ₁	A ₂	A _{rata-rata}
700	0,113	0,113	0,113
710	0,142	0,142	0,142
720	0,176	0,176	0,176
730	0,190	0,190	0,190
740	0,215	0,215	0,215
750	0,251	0,253	0,252
760	0,246	0,246	0,246
770	0,212	0,212	0,212
780	0,167	0,167	0,167

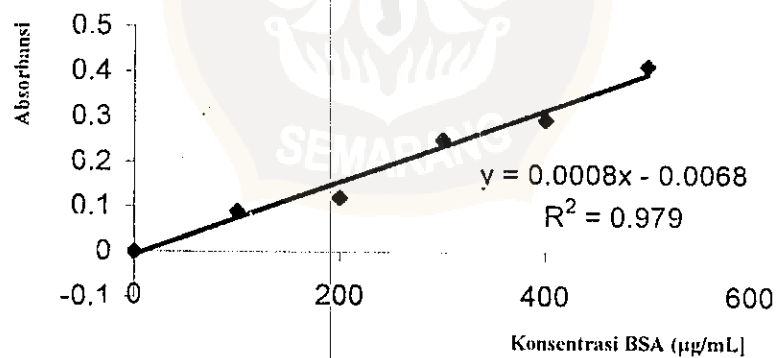


Grafik 5. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar BSA

LAMPIRAN 6. Tabel dan Grafik Penentuan Kurva Standar BSA
pada $\lambda = 750 \text{ nm}$

Tabel 6. Hasil Penentuan Kurva Standar BSA pada $\lambda = 750 \text{ nm}$

Konsentrasi [$\mu\text{g/mL}$]	A_1	A_2	$A_{\text{rata-rata}}$
0	0	0	0
100	0,088	0,090	0,089
200	0,120	0,120	0,120
300	0,251	0,251	0,251
400	0,296	0,296	0,296
500	0,414	0,416	0,415



Grafik 6. Penentuan Kurva Standar BSA pada $\lambda = 750 \text{ nm}$

**LAMPIRAN 7. Tabel Penentuan Kurva Standar BSA pada $\lambda = 750$ nm
dan Rumus Penentuan Kadar Protein**

Tabel 7. Penentuan Kurva Standar BSA pada $\lambda = 750$ nm

X	Y	XY	X ²
0	0	0	0
100	0,089	8,9	10000
200	0,120	24,0	40000
300	0,251	75,0	90000
400	0,296	118,4	160000
500	0,415	207,5	250000
1500	1,171	434,1	550000

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

$$a = \frac{6(434,1) - (1500)(1,171)}{6(550000) - (2250000)} = \frac{848,1}{1050000} = 0,0008$$

$$\text{intersept} = b = \frac{1,171 - (0,0008)(1500)}{6} = \frac{-0,029}{6} = -0,0068$$

Rumus Penentuan Kadar Protein

Untuk mengetahui nilai kadar protein digunakan rumus :

$$\text{Kadar protein} = \frac{Y - (-0,0068)}{0,0008} \times \text{fp}$$

dengan :

Y = absorbansi

fp = faktor pengenceran (10x)

LAMPIRAN 8. Tabel Hasil Penentuan Unit Aktivitas, Kadar Protein, dan Aktivitas Spesifik Asparaginase pada Benalu Segar

Fraksi	A ₁	A ₂	A _{rata-rata}	Aktivitas Enzim (Unit)
EK	0,206	0,206	0,206	16,89
F1	0,326	0,324	0,325	263,18
F2	0,220	0,220	0,220	179,99
F3	0,230	0,230	0,230	187,92
F4	0,256	0,256	0,256	208,52
F5	0,281	0,281	0,281	228,33

Fraksi	A ₁	A ₂	A _{rata-rata}	Kadar Protein (mg/mL)
EK	0,347	0,345	0,346	4410,0
F1	0,442	0,442	0,442	5610,0
F2	0,282	0,282	0,282	3610,0
F3	0,185	0,185	0,185	2397,5
F4	0,147	0,147	0,147	1922,5
F5	0,179	0,181	0,180	2335,0

Fraksi	Aktivitas Enzim (Unit)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)
EK	16,890	4410,0	0,0038
F1	263,181	5610,0	0,0469
F2	179,996	3610,0	0,0499
F3	187,918	2397,5	0,0784
F4	208,517	1922,5	0,1085
F5	228,332	2335,0	0,0978

**LAMPIRAN 9. Tabel Hasil Penentuan Unit Aktivitas, Kadar Protein,
dan Aktivitas Spesifik Asparaginase pada Benalu Kering**

Fraksi	A ₁	A ₂	A _{rata-rata}	Aktivitas Enzim (Unit)
EK	0,273	0,273	0,273	22,20
F1	0,232	0,232	0,232	189,50
F2	0,226	0,226	0,226	184,75
F3	0,215	0,215	0,215	178,03
F4	0,193	0,193	0,193	158,61
F5	0,219	0,219	0,219	179,20

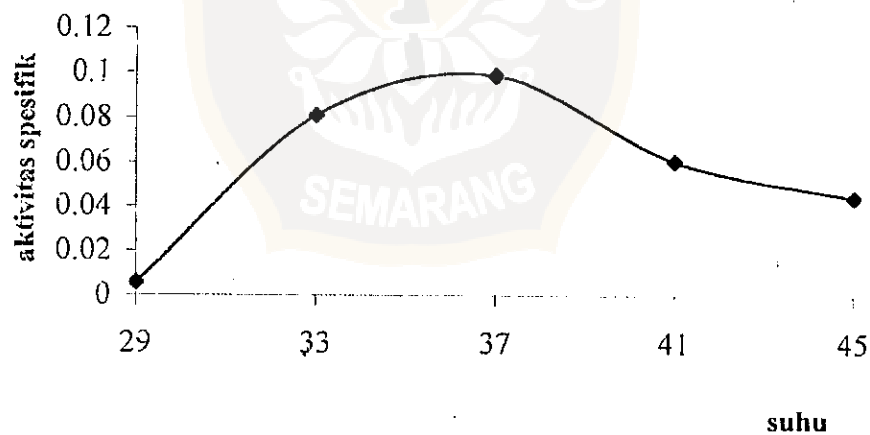
Fraksi	A ₁	A ₂	A _{rata-rata}	Kadar Protein (mg/mL)
EK	0,095	0,095	0,095	1272,5
F1	0,452	0,452	0,452	5735,0
F2	0,287	0,287	0,287	3672,5
F3	0,120	0,120	0,120	1585,0
F4	0,059	0,059	0,059	822,5
F5	0,106	0,106	0,106	1410,0

Fraksi	Aktivitas Enzim (Unit)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)
EK	22,198	1272,5	0,0174
F1	189,500	5735,0	0,0330
F2	184,750	3672,5	0,0503
F3	178,030	1585,0	0,1123
F4	158,610	822,5	0,1928
F5	179,200	1410,0	0,1271

LAMPIRAN 10. Tabel dan Grafik Karakterisasi dengan Variasi Suhu pada Benalu Segar

Tabel 10. Hasil Penentuan Suhu Optimum pada Benalu Segar
t = 30 menit; pH = 8,6

T (°C)	A	Aktivitas Enzim (Unit)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)
29	0,128	107,11	1922,5	0,0557
33	0,190	156,23	1922,5	0,0813
37	0,232	189,50	1922,5	0,0986
41	0,140	116,62	1922,5	0,0607
45	0,100	84,93	1922,5	0,0442

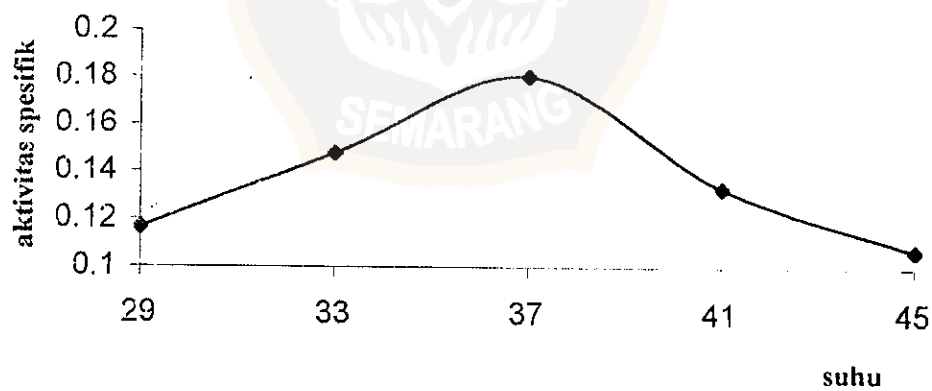


Grafik 10. Penentuan Suhu Optimum pada Benalu Segar

LAMPIRAN 11. Tabel dan Grafik Karakterisasi dengan Variasi Suhu pada Benalu Kering

Tabel 11. Hasil Penentuan Suhu Optimum pada Benalu Kering
t = 30 menit; pH = 8,6

T (°C)	A	Aktivitas Enzim (Unit)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)
29	0,114	96,019	822,5	0,1167
33	0,146	121,371	822,5	0,1476
37	0,180	148,307	822,5	0,1803
41	0,131	109,487	822,5	0,1331
45	0,104	88,097	822,5	0,1071

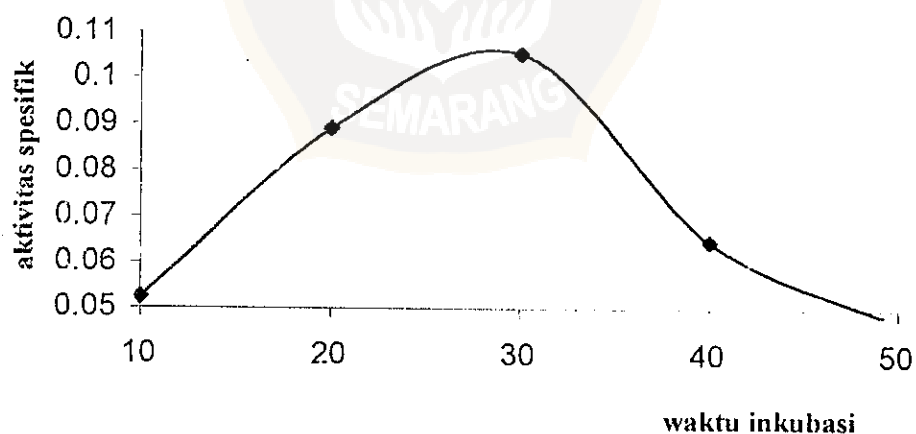


Grafik 11. Penentuan Suhu Optimum pada Benalu Kering

LAMPIRAN 12. Tabel dan Grafik Karakterisasi dengan Variasi Waktu Inkubasi pada Benalu Segar

Tabel 12. Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum pada Benalu Segar
T = 37 °C; pH = 8,6

T(menit)	A	Aktivitas Enzim (Unit)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)
10	0,120	100,77	1922,5	0,0524
20	0,209	171,28	1922,5	0,0891
30	0,248	102,18	1922,5	0,1052
40	0,150	124,54	1922,5	0,0648
50	0,107	90,47	1922,5	0,0471

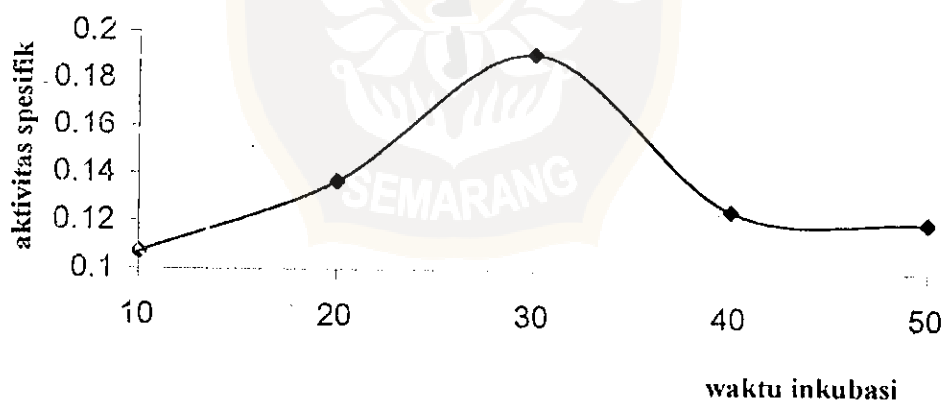


Grafik 12. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum pada Benalu Segar

LAMPIRAN 13. Tabel dan Grafik Karakterisasi dengan Variasi Waktu Inkubasi pada Benalu Kering

Tabel 13. Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum pada Benalu Kering
T = 37 °C; pH = 8,6

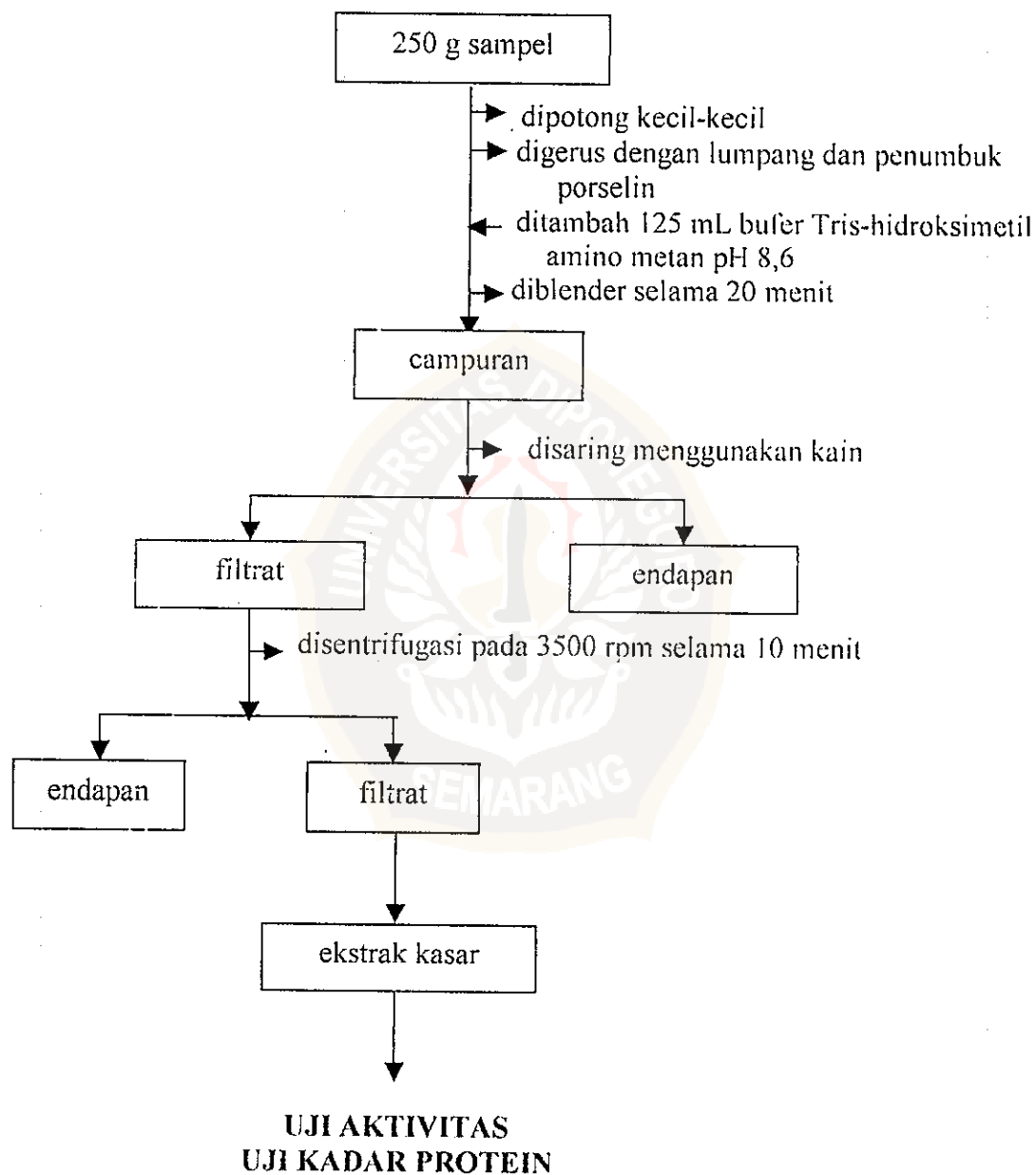
t(menit)	A	Aktivitas Enzim (Unit)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)
10	0,104	88,097	822,5	0,1071
20	0,135	112,656	822,5	0,1369
30	0,191	157,021	822,5	0,1909
40	0,123	103,149	822,5	0,1254
50	0,118	99,188	822,5	0,1206



Grafik 13. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum pada Benalu Kering

LAMPIRAN 14. Skema Kerja Isolasi Enzim, Fraksinasi, Dialisis, Uji Aktivitas, dan Uji Kadar Protein

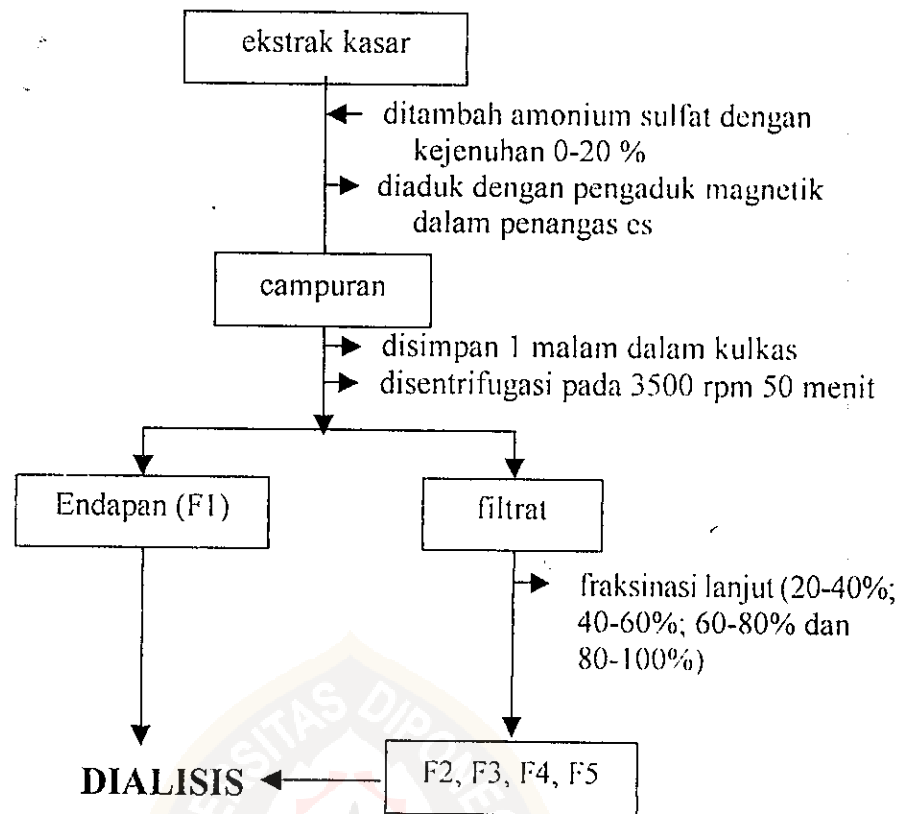
14. 1. Isolasi Enzim



Keterangan:

Sampel: daun benalu segar dan kering

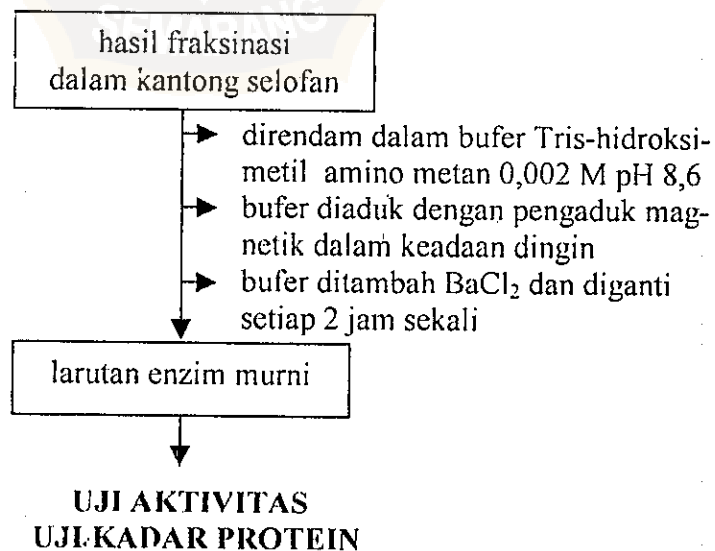
14.2. Fraksinasi Enzim



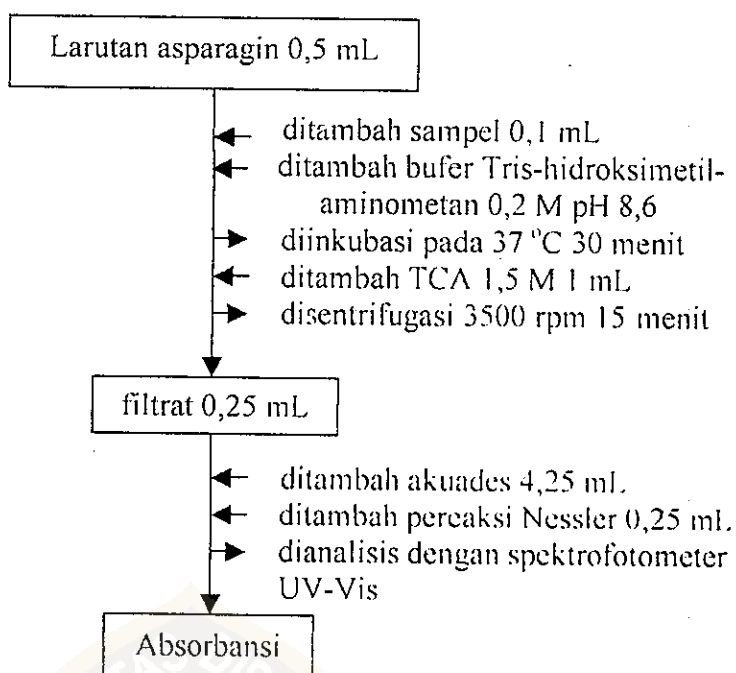
Keterangan:

- F1: fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 0-20% sesuai tabel 15
- F2: fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 20-40% sesuai tabel 15
- F3: fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 40-60% sesuai tabel 15
- F4: fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 60-80% sesuai tabel 15
- F5: fraksi dengan kejenuhan amonium sulfat 80-100% sesuai tabel 15

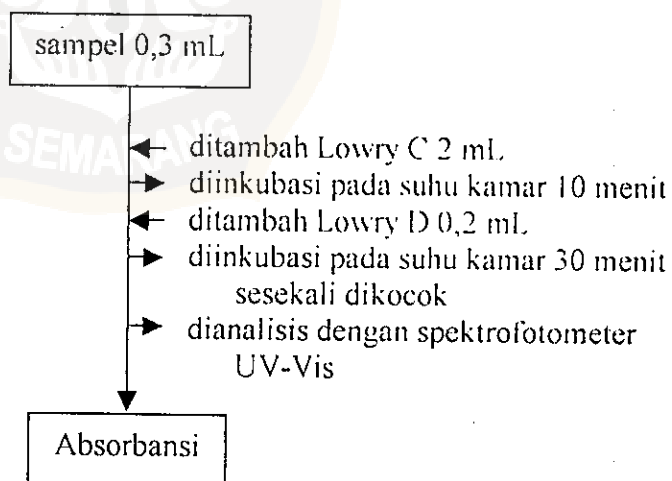
14.3. Dialisis



14.4. Uji Aktivitas



14.5. Uji Kadar Protein



Keterangan:

- Sampel: - ekstrak kasar
- F1,F2,F3,F4, dan F5 hasil dialisis

LAMPIRAN 15. Daftar Kebutuhan Amonium Sulfat

Tabel 15. Jumlah Penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dalam g/L 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	63	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