

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel, Hameed E. S.S., Bazaid S.A., Shohayeb M.M., El-Sayed M.M. and El-Walkil E.A., 2012, Phytochemical Studies and Evaluation of Antioxidant , Anticancer and Antimicrobial Properties of *Conocarpus erectus* L . Growing in Taif , Saudi Arabia, *European Journal of Medicinal Plants*, **2** (2), 93–112.
- Ahmad, A., Patta, A. M., and Natsir , H., 2013. Immobilization and Characterization of L-asparaginase from Thermophilic Bacteria *Bacillus licheniformis* Strain HSA3-1a. *International Journal of Pharma and Bio Science*, **4**: 155-162
- Arfah, R. A. 2016. *Isolasi Pemurnian dan Karakterisasi Enzim α -amilase dari Bakteri Termofil Sumber Air Panas Lejja Sulawesi Selatan dan Aplikasi dalam Hidrolisis Pati Sagu menjadi Maltodeskrin*. Desertasi tidak diterbitkan. Makassar: Sekolah Pascasarjana Unhas.
- Arpintasari, Agustina., Wuryanti, W.H. Rahmanto. 2008. Isolasi dan Uji Potensi L-asparaginase dari Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga Vall*) terhadap Leukimia Tipe K562. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, **11** (3): 57–62.
- Astuti, Y.N. 2009. *Uji Aktivitas Penangkap Radikal DPPH Oleh Analog Kurkumin Monoketon Dan N-Heteroalifatik Monoketon*. Skripsi tidak diterbit. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga, Jakarta.
- Chaudhary, S., Chandrashekar, K. S., dan Pai, K. S. R. 2015. Evaluation of antioxidant and anticancer activity of extract and fractions of *Nardostachys jatamansi* DC in breast carcinoma. *BMC Complementary & Alternative Medicine*. **15** (50): 1-13.
- Dai, J. dan Mumper R. J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecular*. **15**: 7313-7350.
- Dalimartha, S., 2004. *Deteksi Dini Kanker Simplesia Antikanker*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- El-Bessoumy, A. A., Sarhan, M. and Mansour, J. 2004. Production, Isolation, and Purification of L-Asparaginase from *Pseudomonas Aeruginosa* 50071 Using Solid state Fermentation. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, **37** (4):387-393.

- El-Naggar, N. E., Deraz, S. F., Soliman, H. M., El-Deeb, N. M., and El-Ewasy, S. M. 2016. Purification, Characterization, Cytotoxicity and Anticancer Activities of L-Asparaginase, Anti-Colon Cancer Protein, from The Newly Isolated Alkaliphilic *Streptomyces fradiae* NEAE-82. *Sci. Rep.* **6** , 32926.
- Fitrah, M. 2016. Identifikasi Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* Linn) Terhadap Sel Antiproliferasi Tikus Leukemia L1210. *Jf Fik Uinam.* **4** (3): 99-105.
- Fadillah, D. 2017. *Insidensi Penyakit Kanker Di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar Periode Januari 2015-Juni 2017*. Skripsi tidak diterbitkan. Makassar: Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin.
- Freshney, R. I. 2010. *Culture Of Animal Cells A Manual Of Basic Technique And Specialized Application* 6th edition. John Wiley & Sons: New Jersey.
- Garfin, D. E. 2003. *Gel Eluctrophoresis of Proteins*. Oxford University, Inggris.
- Grodzki, A. C. and Berenstein E. 2010. Antibody Purification: Ion-Exchange Chromatography. *Immunocytochemical Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology*, **588**: 27-32.
- Hadiroseyani, Y. Hafifuddin. Alifuddin, M. dan Supriyadi, H. 2005. Potential of *Chromolaena Odorata* Leaf as a Cure of *Aeromonas Hydrophilia* on Giant Gouramy (*Osphronemus Gouramy*). *Jurnal Akuakultur Indonesia.* **4** (2): 139-144.
- Hanani, E, A. Mun'im, R. Sekarini, dan Wiryowidaglo, S. 2006. *Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Spons Laut dari Kepulauan Seribu*. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* **6** (1): 1-4.
- Hasanah, U. 2005. Isolasi, Pemurnian Persial, Karakterisasi dan Amobilisasi Enzim L-Asparaginase sari Daun Benalu Alpukat (*Loranthaceae*). *Jurnal Undip*.
- Harti, A. S. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan Peran Mikrobiologi Dalam Bidang Kesehatan*. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Harris, E. L. V., and Angal, S. 1993. *Protein Purification Methods, A Practical Approach*. IRL Prees. Oxford.
- Herawati, A. 2001. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Asparaginase dari Aspergillus niger 6088 IFO 6341*. Skripsi tidak diterbitkan. Semarang:

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro.

- Hermanto, S., Saputra, F. R. dan Zilhada. 2015. Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) untuk Mengidentifikasi Sumber Asal Gelatin Pada Kapsul Keras. *Jurnal Kimia Valensi* **1**: 26-32.
- Husein, I., Sharma, A. Kumar, S dan Malik, F. 2016. Purification and Characterization of Glutaminase Free Asparaginase from *Enterococcus cloacae*: In-vitro Evaluation Cytotoxic Potential against Humas Myeloid Leukimia HL-60 Cells. *Plos One* 1-27.
- Idris, N. A. 2017. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metode DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil)*. Skripsi tidak diterbitkan. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Alauddin Makassar.
- Ikewachi CJ and Ikewachi CC. 2011. Alteration of Plasma Lipid Profiles and Atherogenic Indices by *Staachytarpheta Jamaicensis* L. (Vhal). *Biokemistri*. **21** (2): 71-77.
- Johari, S.A., Kiong, L.S., Mohtar, M., Isa, M.M., Man, S., Mustafa, S., dan Ali, A.B. 2012. Efflux Inhibitory Activity of Flavonoids from *Chromolaena Odorata* Against Selected Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Isolates. *African Journal of Microbiology Research*. **6** (27): 5631-5635.
- Katzung, B. G., dan Trevor, A. J. *Buku Bantu Farmakologi*. Diterjemahkan oleh Staf Pengajar, Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. 1994. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- King, R.J.B. 2000. *Cancer Biology, 2nd edition*. Pearson Education Ltd, London.
- Kopper L dan Timar . 2005. Genomics of lung cancer may change diagnosis, prognosis and therapy. *Pathology Oncology Research*, **11** (1): 5- 10.
- Lehninger, A. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Erlangga, Jakarta.
- Li, B. B., Smith B., and Hossain M. M. 2006. Separation and purification in the food industry extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology* **48**: 189–196.

- Malole, M. B. M. 1990. Kultur Sel dan Jaringan Hewan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Manikandan, R., C.N. Pratheeba, P. Sah & S. Sah. 2010. Optimizing of asparaginase production by *Pseudomonas aeruginosa* using experimental methods. *Nature and Science* **8** (2): 1-6.
- Matthews, H. R., Freedland, R. A., and Miesfeld, R. L. 1999. *Biochemistry A Short Course*. John Wiley & Sons, Inc, USA.
- Melannisa, R. 2004. *Pengaruh PVG-1 Pada Sel Kanker Payudara T47D Yang Diinduksi 17 β -Estradiol: Kajian Antiproliferasi, Pemacuan Apoptosis, dan Antiangiogenesis*. Tesis tidak diterbitkan. Yogyakarta: Program Pasca Sarjana UGM.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., and Mc Laughlin, J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, **45**: 31-34.
- Mishra, G. K., Sharma, A., Deshpande, K., and Bhand, S. 2014. Flow Injection Analysis Biosensor for Urea Analysis in Urine Using Enzyme Thermistor. *Appl Biochem Biotechnol*, **174** (3): 998–1009.
- Moelyono, M.W., Rochjana, A.U.H., Diantini, A., Musfiroh, I., Sumiwi, S.A., Iskandar, Y., Susilawati, Y. 2016. Aktivitas Antioksidan Daun Iler *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. *Jurnal Farmasi Indonesia* **8** (1): 271-276.
- Molyneux, P., 2004, *The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*. UJ. Sci. Technol, New York
- Moharib, S. A. 2018. Anticancer Activity of L-asparaginase Produced from *Vigna Unguiculata*. *World Scientific Research*, **5** (1): 1-12.
- Mutschler, E. *Dinamika Obat: Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Terjemahkan oleh Widiyanto, M.B., dan Ranti, A.S., 1999. Penerbit ITB, Bandung.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*, **26** (2), 211-219.
- Nafrialdi dan Gen, S., 1995. *Antikanker dan Immunosupresan dalam Farmakologi dan Terapi Edisi IV*. Farmakologi UI: Jakarta.

- Natsir, H. 2010. *Kajian Enzim Kitinase Termostabil Dari Bakteri Termofil: Produksi, Pemurnian, Karakterisasi dan Aplikasi Dalam Hidrolisis Kitin*. Disertasi tidak diterbitkan. Makassar: Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
- Natsir, H. 2015. Teknik Isolasi dan Karakterisasi Enzim Fraksinasi dan Pemurnian Protein Teknik Penentuan Berat Molekul Protein Menggunakan metode SDS PAGE. *Pelatihan*. Makassar: UIN Alauddin Makassar.
- Nasution, S. 1986. *Metode Penelitian Naturalistik Kualitatif*. Tarsito, Bandung.
- Ngozi, Igboh M., Jude, Ikewuchi C. and Catherine, Ikewuchi C. 2009. Chemical Profile of *Chromolaena odorata* L. (King and Robinson) Leaves. *Pakistan Journal of Nutrition*, **8** (5): 521-524.
- Nur, M. A, Adijuana H., dan Kosasih. 1992. *Teknik Laboratorium*. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Padmi, A. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus Anticancer Agents. *Medicinal Research Review*, **23** (4): 519-534.
- Parwata A., Ratnayani K., Listya A. 2010. Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephelium Longata* L.). *Jurnal Kimia*, **4** (1): 54-62.
- Paul, N. C., Robert, P. and Ovellette. 1985. *Biotechnology*. Technomic Publishing co. In.: Lancater-Basel.
- Pink, A. 2004 *Gardening for the Million Project*. Literary Achive Foundation, Gutenberg.
- Poedjiadi, A. 2006. *Dasar-dasar Biokimia Edisi Revisi*. UI Press, Jakarta.
- Prawidariputra. 2007. Kirinyu (*Chromolaena odorata* (L) R.M. King dan H Robinson) Gulma Padang Rumput yang Merugikan. *Buletin Ilmu Peternakan Indonesia (WARTOZOA)*, (Online) **17** (1), (<http://medpub.litbang.pertanian.go.id/index.php/wartazoa/article/view/890>, diakses 3 Agustus 2019).
- Purwanto dan Marianti, M. G 2014 Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut dengan berbagai Metode Spektroskopi UV-Visible. *Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, **7** (2). 64-71.
- Puspitasari, O. dan Wuryanti. 2010. Isolasi Enzim L-asparaginase dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Uji Potensi

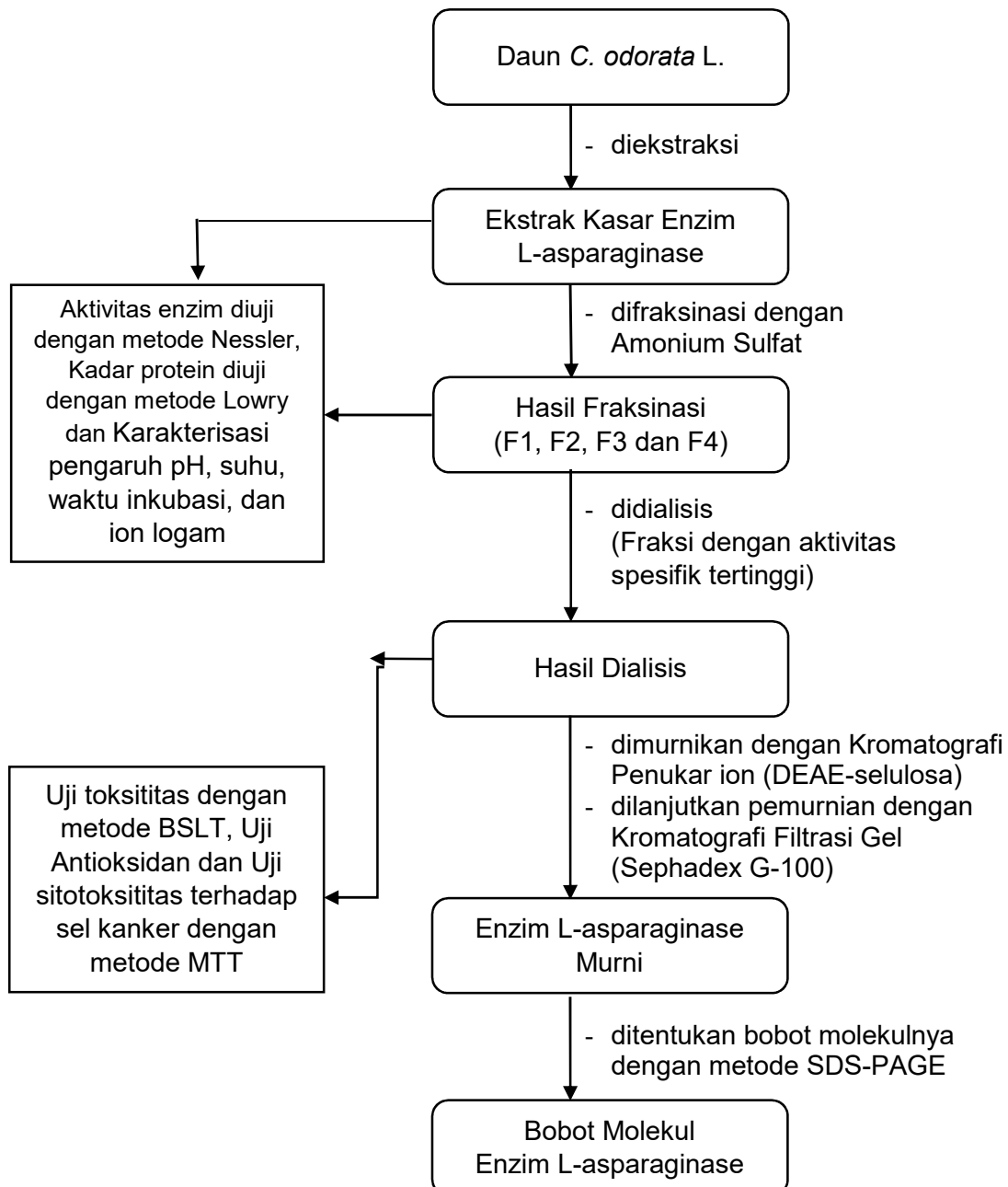
terhadap Kultur Sel Leukemia Tipe K562. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* **13** (2): 61 – 6.

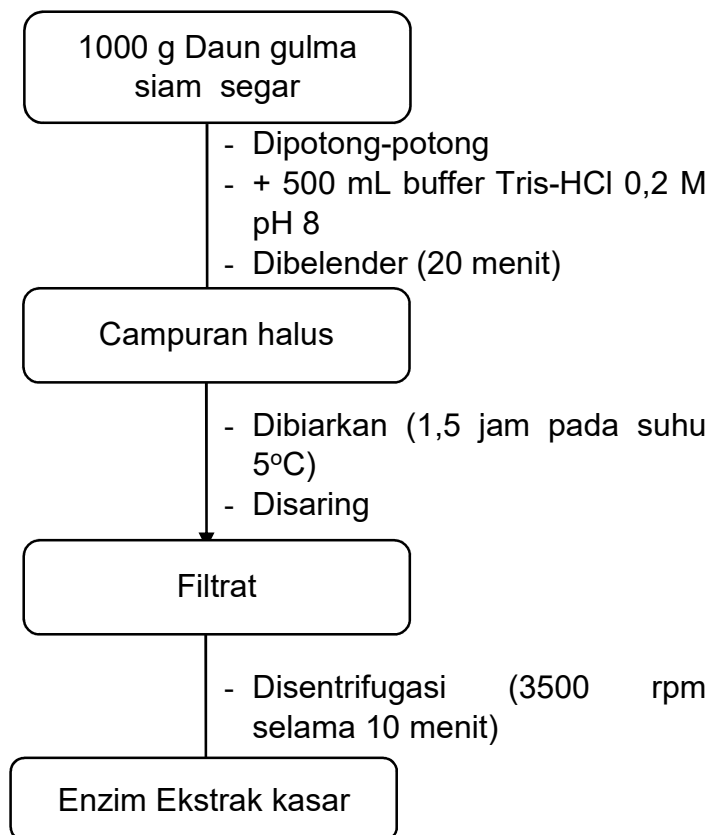
- Rahardhian, Muhammad Ryan Radix. 2018. Uji Sitotoksik Dan Antiproliferasi Ekstrak Eter Daun Binahong (*Androdera Cordifolia* (Tenore) Steen.) Terhadap Sel Hela. *Media Farmasi Indonesia* **13** (1): 1284-1292.
- Risky, T. A., dan Suyatno .2014. Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku *Adiantum philippensis* L. *UNESA Journal of Chemistry*. **3** (1): 89-95.
- Sari, D. P., Wuryanti dan Anam, K. 2013. Isolasi, Purifikasi Dan Karakterisasi α -amilase dari *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3012. *Chem Info* **1** (1): 337 – 344.
- Schumm, D. E., 1992. *Intisari Biokimia*. Binarupa Aksara: Surabaya.
- Scopes, R. K. 1993. *Protein Purification Principle and Practic*. Ed Ke-3. Springer Verlag: New York.
- Sinatari, H.M. 2013. Pemurnian Selulase Dari Isolat KB Komposit Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Ammonium Sulfat. **1** (1): 130-140.
- Sorensen H., Sorensen S., Bjerregaard C., and Michelson S. 1999. *Chromatography and Capillary Electrophoresis in Food Analysis*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Sumarno, D. dan Muryanto T. 2015. Penentuan Kandungan Amoniak ($N-NH_3$) Berdasarkan Hasil Analisa Kandungan Ammonium ($N-NH_4$) di Daerah Aliran Sungai (DAS) Poso Kabupaten Poso Sulawesi Tengah. **13** (2): 113-118.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A. A., Holydaziah, D. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase dan Protease dari Larva *Hermetia illucens* yang Diberi Pakan Jerami Padi. *Biokimia* **9** (2):18-32.
- Suprobo, C. O., Suprihati, Wuryanti. 2011. Uji Antikanker Isolat Bioaktif L-asparaginase dari Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) terhadap Sel Kanker Serviks. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, **14** (2): 58 – 63.
- Tjindarbumi, T., dan Mangunkusumo, R. 2002. Cancer in Indonesia, Present and Future. *Japan Journal Clin Oncol*. **32** (1): S17-S21.
- Verma, N., K. Kumar, G. Kaur & S. Anand. 2007. L-asparaginase: a promising chemotherapeutic agent. Critical review in biotechnology **27**: 45-62.

- Williams, B. and Cuvelier, W. M.E. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioksidant activity. *Food science and technology*, **28** (1): 25 – 30.
- Wilson, K. and Walker, J. M. 2000. *Protein and enzyme techniques*. University Press, Cambridge.
- Winardiana, Ali. 2014. *Fungsi Asam Amino Non Esensial Dan Esensial* (Online). <http://ali-winardiana.blogspot.co.id/2014/02/fungsi-asam-amino-non-esensial-dan.html>. Diakses pada 10 November 2019.
- Yusriadi, 2020. *Isolasi Karakterisasi dan Pemurnian Enzim L-Asparaginase dari Daun Gulma Siam (Chromolaena odorata Linn.) dan Aktivitasnya terhadap Sel Kanker LK-2*. Tesis tidak diterbitkan. Makassar: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam..
- Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga, Jakarta.
- Zuhra CF., Tarigan J., Sihotang H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Marr.) *Jurnal Biologi Sumatera*. **3** (1): 7-10.
- Zuraida. 2018. Analisis Toksisitas Beberapa Tumbuhan Hutan dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, **36** (3): 239-246.

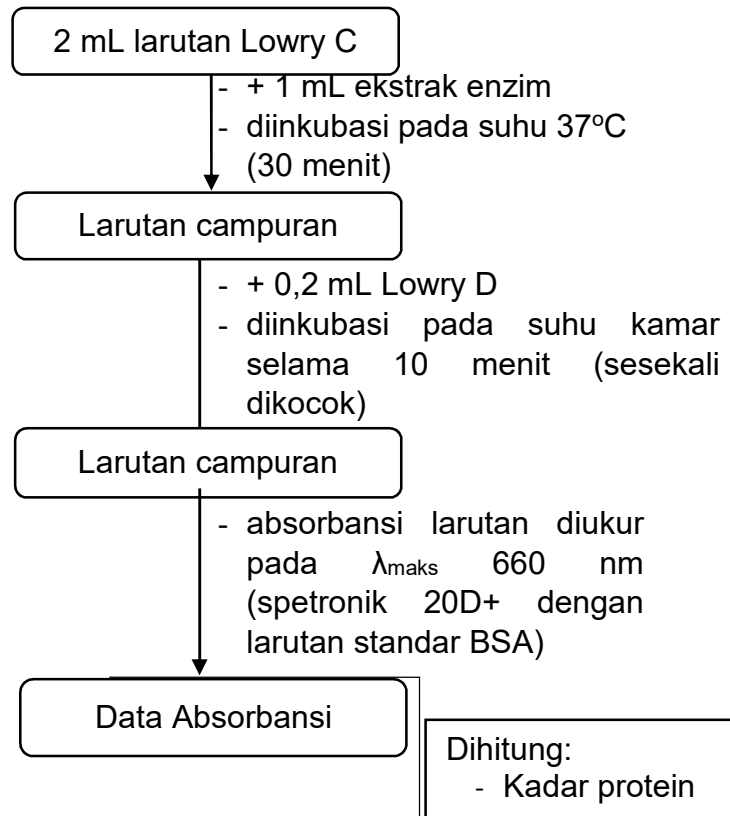
LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian

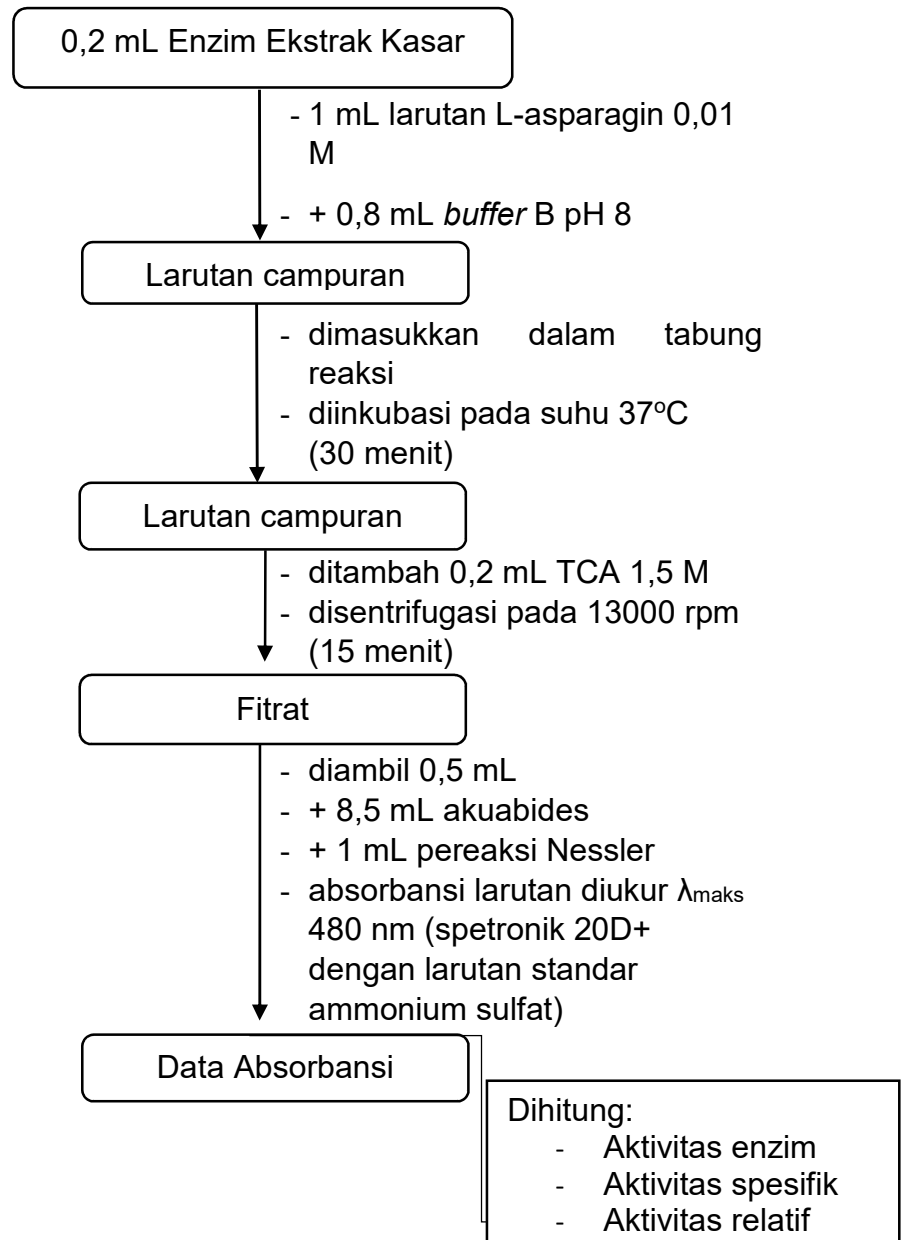


Lampiran 2. Isolasi Enzim L-asparaginase dari daun *C. odorata* L.

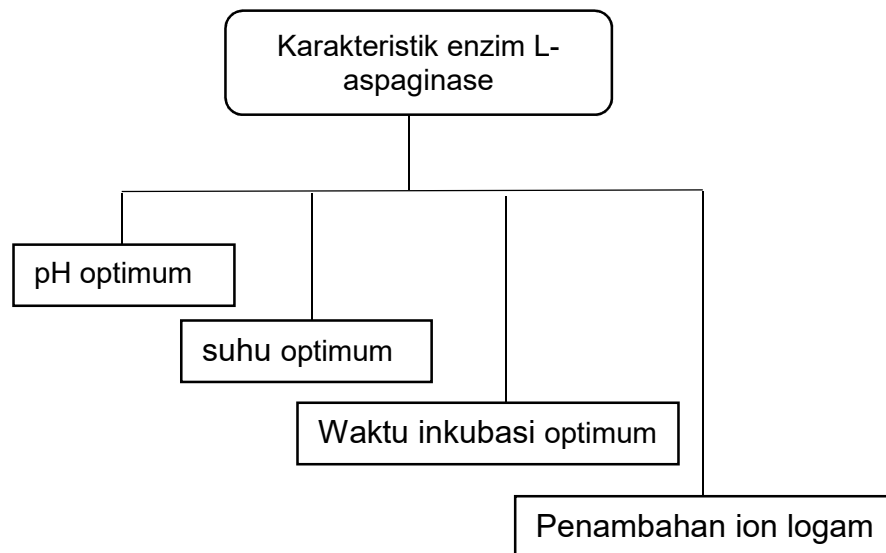
Lampiran 3. Uji Kadar Protein Enzim L-asparaginase dari daun *C. odorata* L



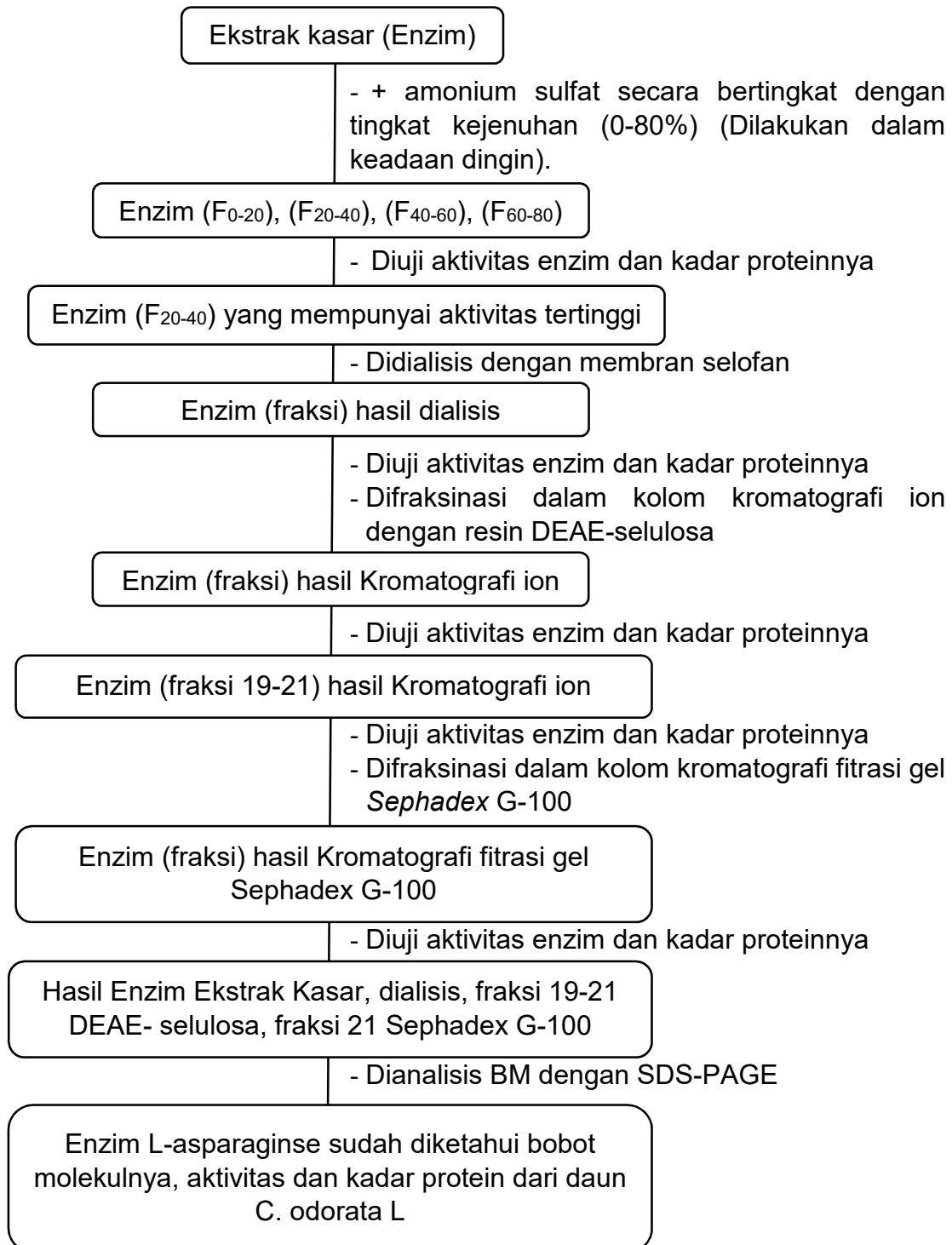
Lampiran 4. Uji Aktivitas Enzim L-asparaginase dari daun *C. odorata* L

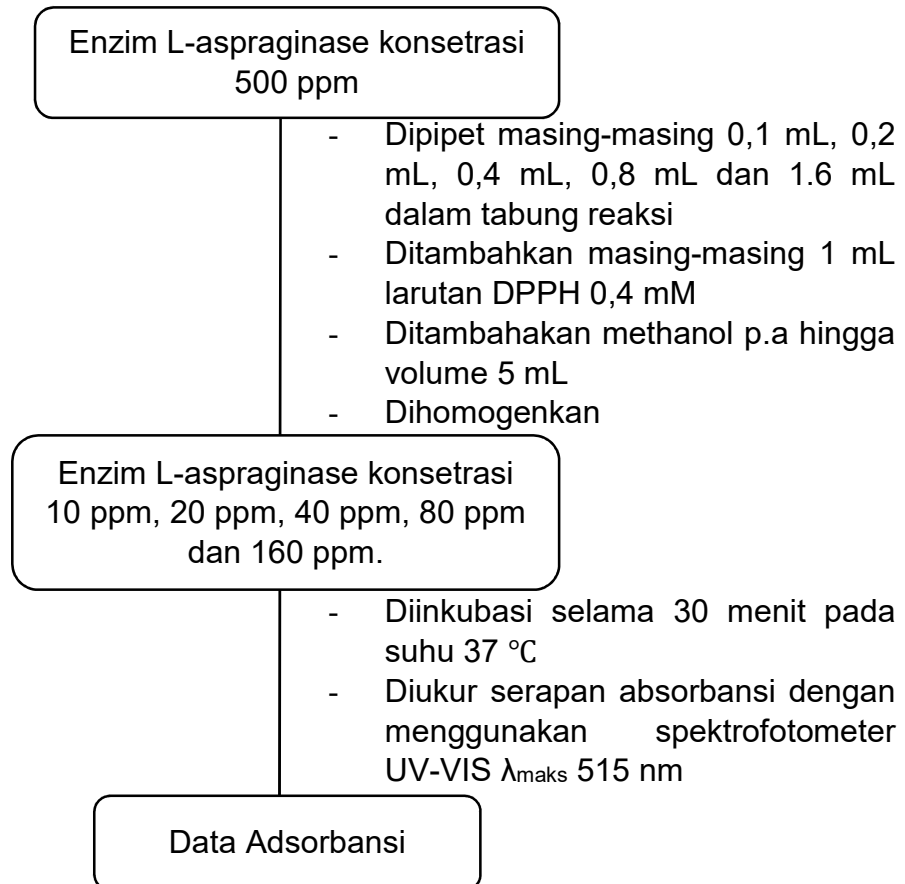


Lampiran 5. Karakterisasi Enzim L-asparaginase dari daun *C. odorata* L



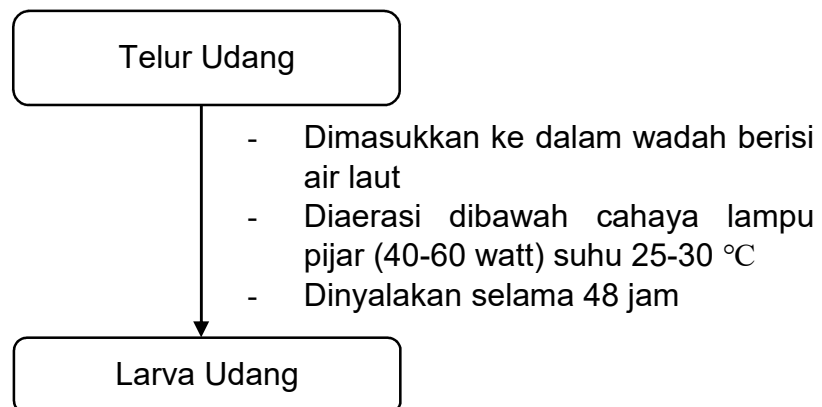
Lampiran 6. Pemurnian Enzim L-asparaginase dari daun *C. odorata* L



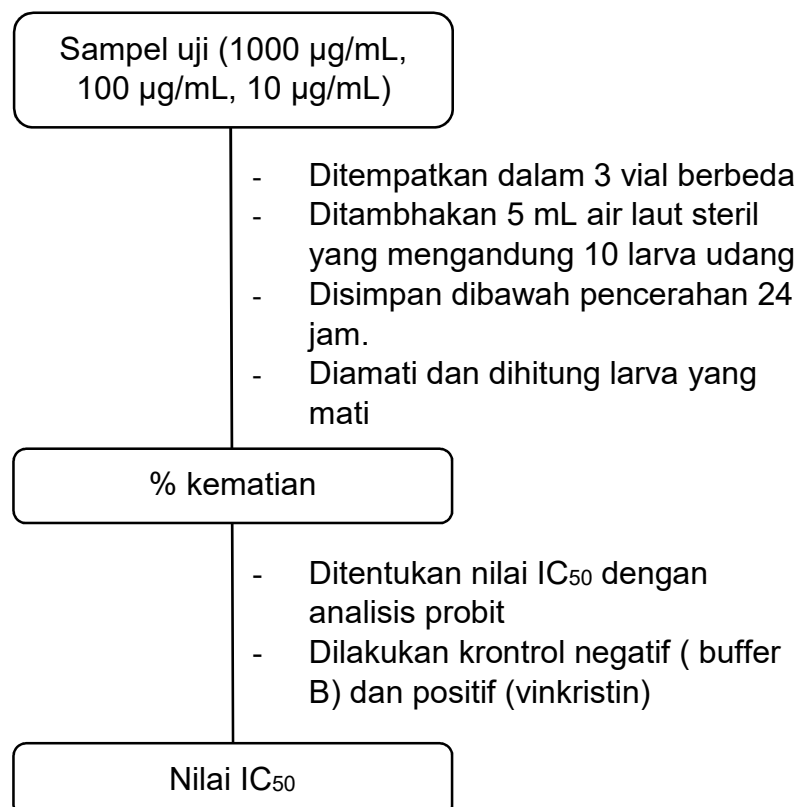
Lampiran 7. Uji Antioksidan Enzim L-asparaginase dari daun *C. odorata* L

Lampiran 8. Toksisitas dengan Menggunakan *Brine Shrimps Lethality Test* (BSLT) enzim L-asparaginase Daun *C. odorata* L

a. Penetasan Larva Udang



b. Pelaksanaan Uji



Lampiran 9. Uji Sitotoksik Enzim L-asparaginase dari daun *C. odorata* L

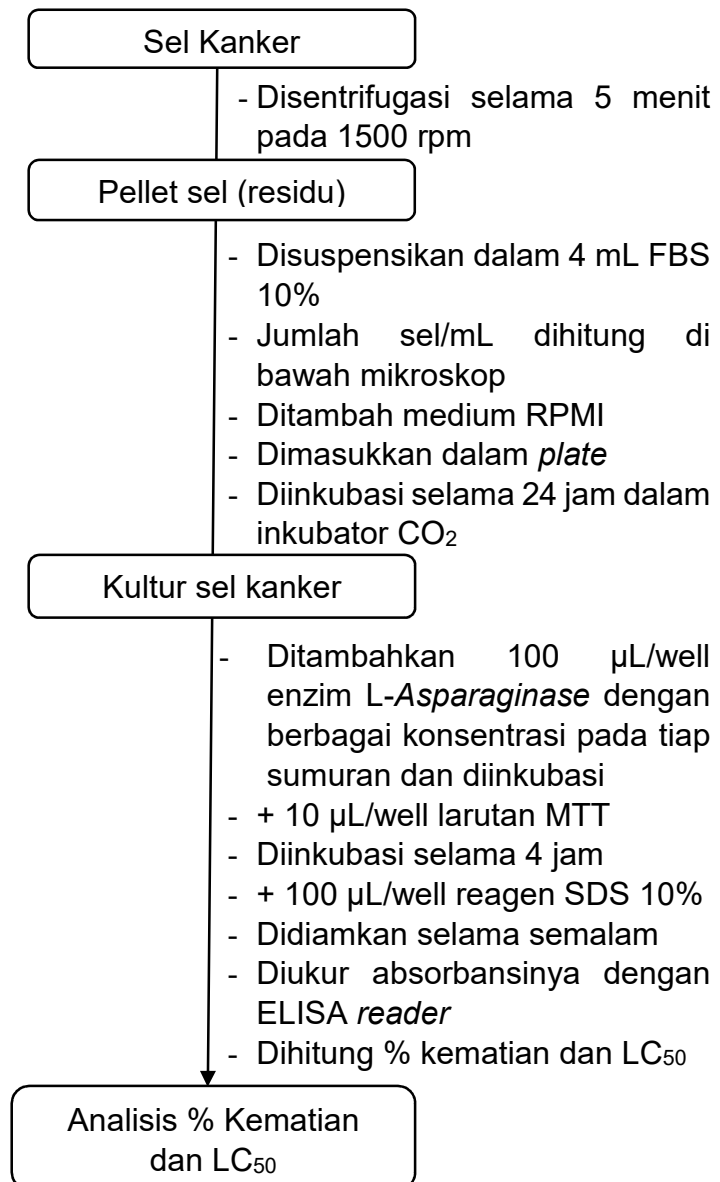
1.

Enzim Hasil Pemurnian L-Asparaginase

Dibuat konsentrasi:

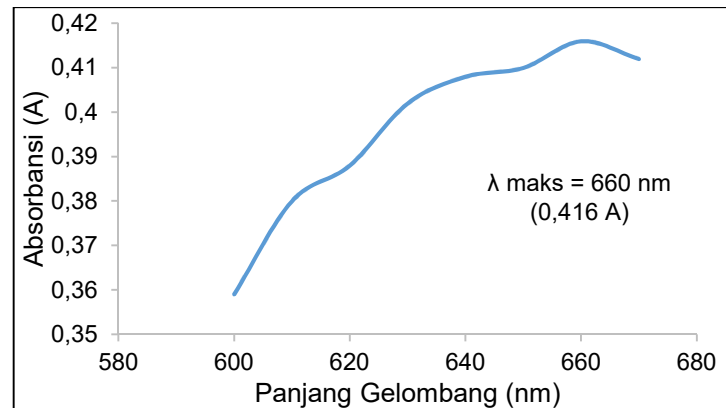
1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,62 µg/mL, 7,81 µg/mL, 3,91 µg/mL, 1,95 µg/mL, 0,98 µg/mL dan 0,49 µg/mL dalam medium RPMI.

Pengujian:

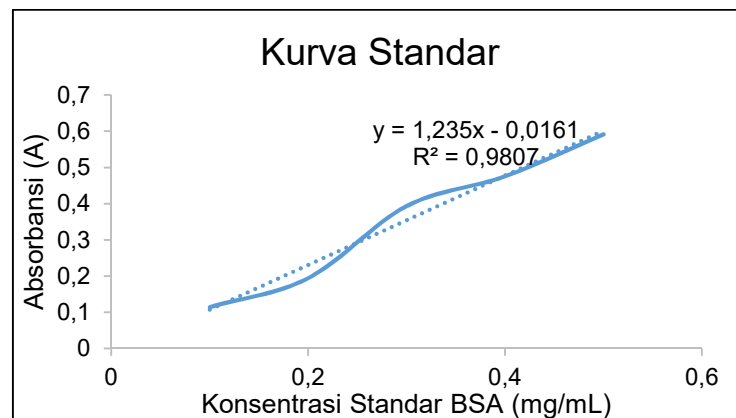


Lampiran 10. Penentuan Kadar Protein Enzim L-asparaginase

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Standar BSA



2. Pembuatan Kurva Standar Standar BSA



Contoh perhitungan kadar protein:

$$y = 1,235x - 0,0161$$

$$x = \frac{y - 0,0161}{1,235} \times \text{Faktor Pengenceran}$$

$$x = \frac{0,334 - 0,0161}{1,235} \times 10$$

$$x = 2,835 \text{ mg/mL}$$

$$x = \text{Nilai kadar protein (mg/mL)}$$

Contoh perhitungan total protein:

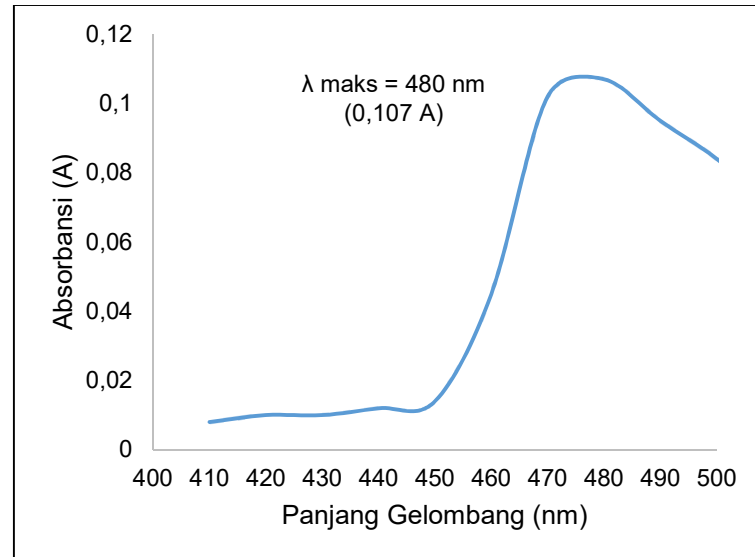
$$\text{Total protein} = \text{Kadar protein} \times \text{Volume}$$

$$= 2,835 \text{ mg/mL} \times 500 \text{ mL}$$

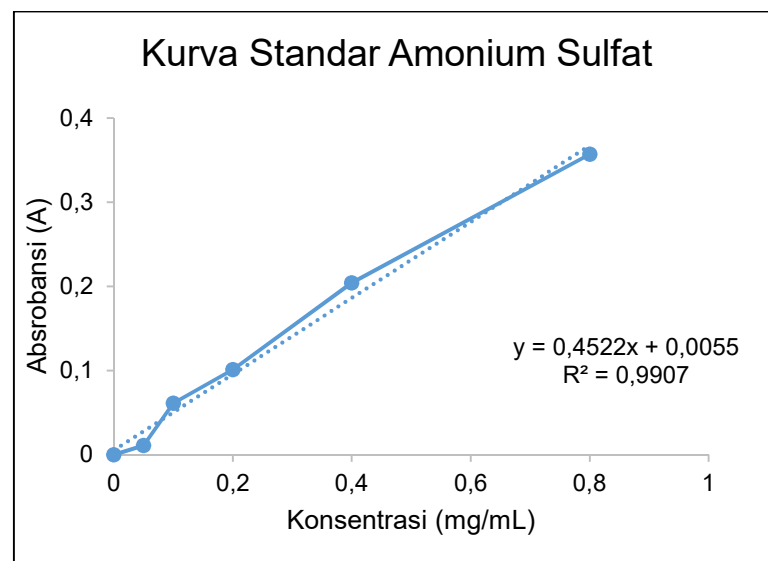
$$= 1417,5 \text{ mg}$$

Lampiran 11: Penentuan Aktivitas Enzim L-asparaginase

1. Maksimum Standar Amonium Sulfat



2. Pembuatan Kurva Standar Amonium Sulfat



Contoh perhitungan aktivitas enzim:

$$y = 0,4522x - 0,0055$$

$$x = \frac{y - 0,0055}{0,4522} \times \frac{3 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times \frac{1}{0,2 \text{ mL}} \times \frac{1}{30 \text{ menit}} \times \text{Faktor Pengenceran}$$

$$x = \frac{0,315 - 0,0055}{0,4522} \times \frac{3 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times \frac{1}{0,2 \text{ mL}} \times \frac{1}{30 \text{ menit}} \times 20$$

$$x = 13,6743 \text{ IU/mL}$$

x = Nilai aktivitas enzim (IU/mL)

Contoh perhitungan aktivitas spesifik enzim L-asparaginase

$$\text{Aktivitas spesifik L-asparaginase} = \frac{\text{Aktivitas enzim L-asparaginase}}{\text{Kadar protein}}$$

$$\text{Aktivitas spesifik L-asparaginase} = \frac{13,6743 \text{ IU/mL}}{2,835 \text{ mg/mL}}$$

$$\text{Aktivitas spesifik L-asparaginase} = 4,823 \text{ IU/mg}$$

Contoh perhitungan total L-asparaginase:

$$\begin{aligned} \text{Total L-asparaginase} &= \text{Aktivitas enzim} \times \text{Volume} \\ &= 13,674 \text{ IU/mL} \times 500 \text{ mL} \\ &= 6837 \text{ IU} \end{aligned}$$

Contoh perhitungan tingkat kemurnian:

$$\begin{aligned} \text{Tingkat kemurnian} &= \frac{\text{Aktivitas spesifik L-asparaginase setelah pemurnian}}{\text{Aktivitas spesifik L-asparaginase ekstrak kasar}} \\ &= \frac{19,948 \text{ IU/mg}}{4,823 \text{ IU/mg}} \\ &= 4,13 \end{aligned}$$

Lampiran 12. Karakterisasi enzim L-asparaginase

1. Karakterisasi Pengaruh pH

pH	Aktivitas Enzim (IU/mL)
5	8,725
6	12,481
7	12,835
8	13,674
9	9,2107
10	5,7642

2. Karakterisasi Pengaruh Suhu

Suhu (°C)	Aktivitas Enzim (IU/mL)
30	5,103
37	13,674
40	9,345
45	7,622

3. Karakterisasi Pengaruh Waktu Inkubasi

Waktu Inkubasi (menit)	Aktivitas Enzim (IU/mL)
0	0
30	13,674
60	7,656
90	3,041
120	1,415

4. Karakterisasi Pengaruh Penambahan Ion Logam

Logam	Aktivitas Enzim (IU/mL)	Aktivitas Spesifik (IU/mg)	Aktivitas Relatif (%)
Control	13,674	4,823	100,00
K ⁺	19,284	6,802	141,03
Na ⁺	16,193	5,712	118,42
Ca ²⁺	11,333	3,997	82,88
Zn ²⁺	7,356	2,595	53,80
Mg ²⁺	12,924	4,559	94,51
Cu ²⁺	4,617	1,628	33,77
Co ²⁺	8,063	2,844	58,97
Mn ²⁺	9,301	3,281	68,02

Contoh perhitungan aktivitas relatif:

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Relatif} &= \frac{\text{Aktivitas Enzim "x" (IU/mL)}}{\text{Aktivitas Enzim awal (IU/mL)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{19,284 \text{ IU/mL}}{13,674 \text{ IU/mL}} \times 100 \% \\
 &= 141,03 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 15. Pengandapan dengan Amonium Sulfat

Tabel Kejenuhan Ammonium Sulfat dan Perhitungan Massa Ammonium Sulfat

S1	S2																
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
	Garam amonium sulfat yang ditambahkan (gram)																
0	106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697
5	79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662
10	53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627
15	26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592
20	0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557
25		0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522
30			0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488
35				0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453
40					0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418
45						0	29	59	90	123	156	190	226	263	302	342	383
50							0	30	60	92	125	159	194	230	268	308	348
55								0	30	61	93	127	161	197	235	273	313
60									0	31	62	95	129	164	210	239	279
65										0	31	63	97	132	168	205	244
70											0	32	65	99	134	171	209
75												0	32	66	101	137	174
80													0	33	67	103	139
85														0	34	68	105
90															0	34	70
95																0	35
100																	0

Rumus massa ammonium sulfat pada masing-masing tingkat kejenuhan

Tingkat kejenuhan = Volume filtrat (mL)/1000 (mL) × massa ammonium sulfat tabel kejenuhan = gram

Contoh perhitungan massa ammonium sulfat yang ditambahkan

$$0-20\% = 500 \text{ mL}/1000 \text{ mL} \times 106 \text{ gram} = 53 \text{ gram}$$

Contoh perhitungan aktivitas enzim hasil fraksinasi

Fraksi 2 (20-40%)

$$y = 0,4522x - 0,0055$$

$$x = \frac{0,678 - 0,0055}{0,4522} \times \frac{3 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times \frac{1}{0,2 \text{ mL}} \times \frac{1}{30 \text{ menit}} \times \text{Faktor Pengenceran}$$

$$x = \frac{0,678 - 0,0055}{0,4522} \times \frac{3 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times \frac{1}{0,2 \text{ mL}} \times \frac{1}{30 \text{ menit}} \times 20$$

$$x = 29,7434 \text{ IU/mL}$$

x = Nilai aktivitas enzim (IU/mL)

Lampiran 14. Kromatografi Penukar Ion

Data hasil pemurnian dengan kromatografi penukar ion

Fraksi	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Enzim (IU/mL)	Aktivitas Spesifik (IU/mg)
1	0,241	0,003	0,013
2	0,240	0,012	0,050
3	2,260	0,045	0,020
4	0,887	0,018	0,021
5	0,549	0,005	0,010
6	0,424	0,016	0,038
7	0,327	0,001	0,003
8	0,562	0	0
9	0,302	0,014	0,047
10	0,333	0,012	0,0362
11	0,482	0,001	0,002
12	0,393	0,001	0,002
13	0,225	0	0
14	0,153	0,005	0,035
15	0,361	0,007	0,021
16	0,262	0,012	0,046
17	0,307	0,003	0,010
18	0,245	0,001	0,004
19	0,333	0,025	0,076
20	0,186	0,023	0,124
21	0,166	0,016	0,099
22	0,341	0,005	0,016
23	0,372	0	0
24	0,268	0	0
25	0,255	0,007	0,030
26	0,267	0,012	0,030
27	0,336	0,012	0,030
28	0,247	0,012	0,030
29	0,201	0,009	0,048
30	0,349	0,007	0,022
31	0,332	0	0
32	0,386	0	0
33	0,306	0	0
34	0,4033	0	0
35	0,398	0	0

Lampiran 17. Kromatografi Filtrasi Gel

Data hasil pemurnian dengan kromatografi filtrasi gel

Fraksi	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Enzim (IU/mL)	Aktivitas Spesifik (IU/mg)
1	0,066	0,014	0,216
2	0,070	0,025	0,360
3	0,107	0,023	0,215
4	0,094	0,027	0,293
5	0,106	0,018	0,177
6	0,176	0,021	0,118
7	0,171	0,016	0,096
8	0,150	0,021	0,1393
9	0,107	0,034	0,320
10	0,134	0,027	0,205
11	0,145	0,023	0,160
12	0,172	0,021	0,121
13	0,161	0,142	0,884
14	0,152	0,151	0,994
15	0,134	0,023	0,172
16	0,128	0,018	0,146
17	0,179	0,010	0,055
18	0,129	0,153	1,186
19	0,128	0,151	1,183
20	0,183	0,153	0,839
21	0,144	0,918	6,371
22	0,153	0,253	1,653
23	0,121	0,235	1,938
24	0,146	0,213	1,447
25	0,187	0,164	0,877
26	0,153	0,167	1,090
27	0,256	0,235	0,919
28	0,251	0,220	0,876
29	0,249	0,153	0,614
30	0,183	0,109	0,595
31	0,175	0,518	2,963
32	0,119	0,299	2,510
33	0,099	0,142	1,430
34	0,099	0,286	2,421
35	0,118	0,443	4,309
36	0,102	0,408	4,303
37	0,114	0,312	2,737
38	0,128	0,363	2,824

Lanjutan Tabel

Fraksi	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Enzim (IU/mL)	Aktivitas Spesifik (IU/mg)
39	0,144	0,675	4,685
40	0,119	0,335	2,812
41	0,162	0,279	1,726
42	0,094	0,211	2,227
43	0,102	0,186	1,830
44	0,103	0,226	2,186
45	0,094	0,200	2,110

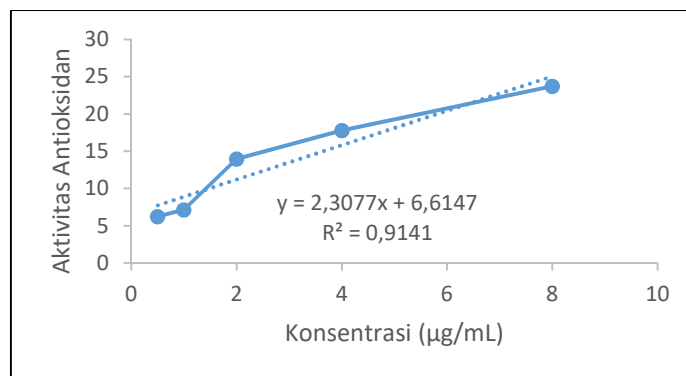
Lampiran 16. Kromatografi SDS-Page

Data hasil Berat Melekul Protein pada Sampel

Sampel/S umur	Panjang Pita (cm)	Jarak Pita (cm)	Rf	Log BM	BM	Jumlah Band
1 (Ekstrak Kasar)	5,25	0,10	0,0190	5,0677	116,88	1
	5,25	0,30	0,0571	5,0030	100,70	2
	5,25	0,60	0,1143	4,9059	80,53	3
	5,25	0,90	0,1714	4,8089	64,40	4
	5,25	1,10	0,2095	4,7441	55,48	5
	5,25	1,35	0,2571	4,6632	46,05	6
	5,25	1,50	0,2857	4,6147	41,18	7
	5,25	1,60	0,3048	4,5823	38,22	8
	5,25	2,10	0,4000	4,4205	26,34	9
	5,25	2,30	0,4381	4,3558	22,69	10
	5,25	3,25	0,6190	4,0484	11,18	11
	5,25	4,35	0,8286	3,6924	4,93	12
	5,25	4,65	0,8857	3,5954	3,94	13
2 (Dialisis)	5,25	0,30	0,0571	5,1001	100,70	1
	5,25	0,55	0,1048	4,9221	83,58	2
	5,25	0,90	0,1714	4,8089	64,40	3
	5,25	1,10	0,2095	4,7441	55,48	4
	5,25	1,20	0,2286	4,7118	51,50	5
	5,25	1,50	0,2857	4,6147	41,18	6
	5,25	1,60	0,3048	4,5823	38,22	7
	5,25	1,90	0,3619	4,4853	30,57	8
	5,25	2,10	0,4000	4,4205	26,34	9
	5,25	3,10	0,5905	4,0969	12,50	10
3 (KI)	5,25	3,25	0,6190	4,0484	11,18	11
4 (KFG)	5,25	3,25	0,6190	4,0484	11,18	1
			Tidak Ditemukan Pita			

Lampiran 17. Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas Antioksidan (%)
1	0,5	32,83
2	1	38,78
3	2	41,75
4	4	58,64
5	8	85,94



Contoh perhitungan aktivitas antioksidan:

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} \times \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

Konsentrasi 0,5 ppm

$$\begin{aligned} \% \text{ Aktivitas antioksidan} &= \frac{0,674 \times 0,632}{0,674} \times 100 \% \\ &= 6,23\% \end{aligned}$$

Untuk IC_{50} (x), maka nilai y adalah 50, dimasukkan ke persamaan regresi:

$$y = 2,3077x + 6,6147$$

$$x = \frac{y - 6,6147}{2,3077}$$

$$x = \frac{50 - 6,6147}{2,3077}$$

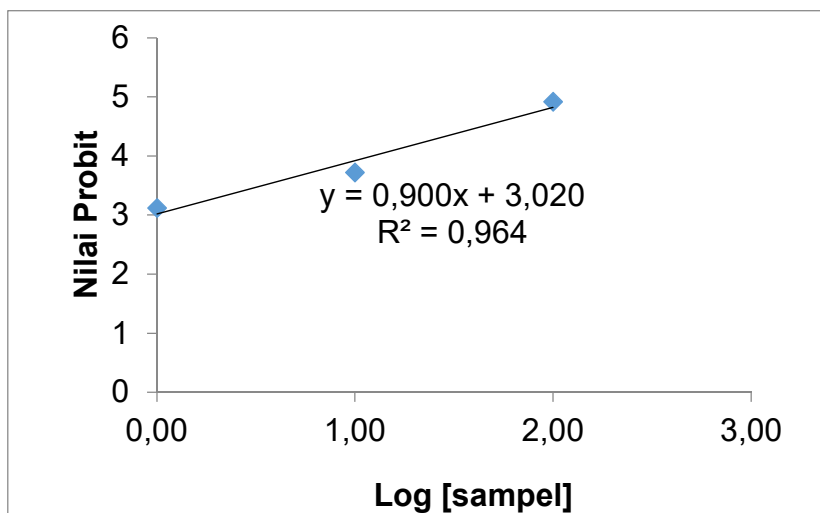
$$x = 2,87$$

$$\text{IC}_{50} = 18,800 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 19. Pengujian Toksitas dengan Metode BSLT

Tabel log[sampel] dan nilai probit

Log[sampel]	Nilai Probit
0,00	3,12
1,00	3,72
2,00	4,92



Grafik hubungan log[sampel] dengan nilai probit

Untuk LC_{50} (x), nilai probit adalah 5 (y), dimasukkan ke persamaan

regresi:

$$y = 0,900x + 3,020$$

$$x = \frac{y - 3,020}{0,900}$$

$$x = \frac{5 - 3,020}{0,900}$$

$$x = 2,2$$

$$\text{Jadi log } x = 2,2$$

$$x = \text{antilog } 2,2$$

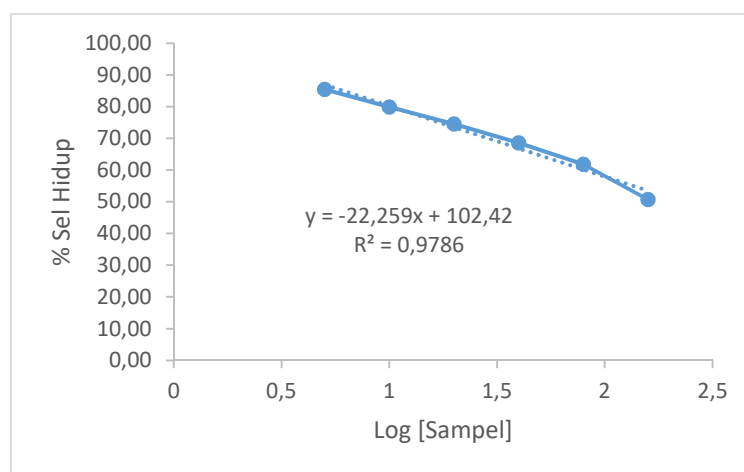
$$x = 158,4893 \text{ ppm}$$

$$LC_{50} = 158,4893 \text{ ppm (Sangat Toksik)}$$

Lampiran 19. Pengujian Sitoksitas dengan Metode MTT

Data pengujian metode MTT

Konsentrasi Sampel	Log [sampel]	Rata-Rata Absorbansi	SD	Sel Hidup (%)
0	-	0,5638	0,03	100,00
5	0,70	0,4875	0,00	85,39
10	1,00	0,4586	0,00	79,87
20	1,30	0,4308	0,00	74,54
40	1,60	0,3998	0,02	68,60
80	1,90	0,3643	0,01	61,81
160	2,20	0,3062	0,00	50,67
Blank	-	0,0396		



Grafik hubungan log[sampel] dengan % sel hidup

Untuk IC_{50} (x), maka nilai y adalah 50, dimasukkan ke persamaan regresi:

$$y = -22,259x + 102,42$$

$$x = \frac{y - 102,42}{-22,259}$$

$$x = \frac{50 - 102,42}{-22,259}$$

$$x = 2,255$$

$$\text{Jadi log } x = 2,355$$

$$x = \text{antilog } 2,355$$

$$x = 226,464 \text{ ppm}$$

$$IC_{50} = 226,464 \text{ ppm}$$

Lampiran 20. Dokumentasi Penelitian



Sampel Daun Gulma Siam (*C. odorata.L.*)



Isolasi Enzim L-Asparaginase dari Daun Gulma Siam (*C. odorata.L.*)



Pengujian Kadar Protein dan Aktivitas Enzim L-asparaginase



Pemurnian (Fraksinasi dan Dialisis) Enzim L-Asparaginase dari Daun Gulma Siam (*C. odorata.L.*)



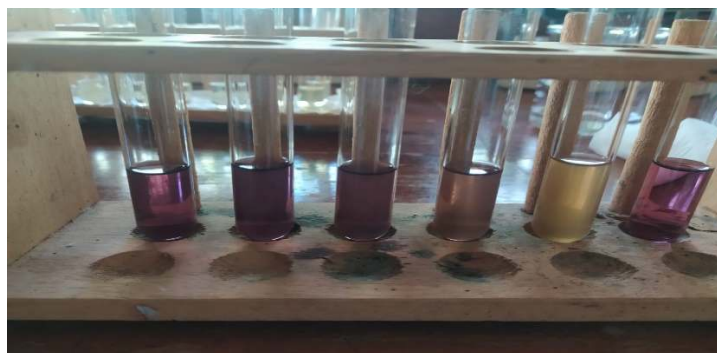
Pemurnian dengan Kromatografi Penukar Ion dan Filtrasi Gel



Pengujian Sitotoksitas Enzim L-asparaginase



Penentuan Berat Molekul Enzim L-asparaginase dengan SDS-PAGE



Pengujian Antioksidan Metode DPPH Enzim L-asparaginase