

DAFTAR PUSTAKA

- Alfaifi, M.Y., Alrumman, S.A., Al-Irzan, K.A., Elbehairi, S.E., Mostafa, Y.S. and Taha, T.H., 2019. Production and Anticancer Activity of an L-asparaginase from *Bacillus licheniformis* Isolate from The Red Sea, Saudi Arabia. *Scientific Reports*. 9(1), 1–14.
- Aminin, A.L.N., Milarsih, Y. dan Mulyani, N.C., 2022. Isolasi dan Karakterisasi Amilase Termotabil dari *Geobacillus dYtae-14*. *Greensphere: J. Environ. Chem.* 2(2), 1–6.
- Angkuna, S.A., Apridamayanti, P. dan Sari, R., 2019. Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dan *Lactobacillus casei* terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1), 1–18.
- Arfah, R.A., Dali, S., Djide, N. and Ahmad, A., 2018. Production and Characterization Of L-asparaginase Enzyme from Symbiont Bacteria of Macroalga *Sargassum Sp.* In: *Conference of the 5th International Seminar and Workshop of Indonesian Protein Society*. Hasanuddin University, Makassar, pp. 2–14.
- Asmi, N., 2021. Isolasi Peptida Bioaktif dari Bakteri Epifit yang Bersimbion dengan Alga Cokelat *Sargassum sp.* sebagai Agen Antibakteri dan Antikanker. Disertasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Batool, T., Ali, M.J., Makky, E. and Yusoff, M., 2016. A Comprehensive Review on L-asparaginase and Its Applications. *Springer, Applied Biochemistry and Biotechnology*. 178(5), 900–923.
- Brooks, L., 2021. Upgrading the South Sulawesi Seaweed Industry. The Australia Indonesia Centre, Australia. <https://pair.australiaindonesiacentre.org/news/upgrading-the-south-sulawesi-seaweed-industry/> [Accessed 2023. 12. 19].
- Dairawan, M. and Shett, P.J., 2020. The Evolution DNA Extraction Methods. *American Journal of Biomedical Science and Research*. 8(1), 39–45.
- Dirga, Khairunnisa, S.M., Akhmad, A.D., Setyawan, I.A. dan Pratama, A., 2021. Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Rawat Inap di Bangsal Penyakit dalam RSUD. Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 11(1), 65–75.
- Fauziah, A., 2012. Subkloning dan Ekspresi Gen L-asparaginase dari *Bacillus circulans* ke *Escherichia coli* DH5 α di Bawah Kontrol Promotor xyn AQ1. Skripsi. Universitas Indonesia, Depok.
- Hanapi, A., Fasya, A.G., Mardiyah, U. dan Miftahurrahmah, 2013. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Alga Merah *Euclima spinosum* dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *Alchemy*. 2(2), 126–137.

- Hanum, S.H., Poernomo, A.T., Sudjarwo dan Rosyidah, S., 2022. Pengaruh pH, Suhu, Dan Aktivator Logam Terhadap Aktivitas Enzim Fibrinolitik Yang Dihasilkan Pseudomonas Aeruginosa Ts 6.4. Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, 9(1), 9–12.
- Hassan, S.W.M., Farag, A.M. and Beltagy. E.A., 2018, Purification, Characterization and Anticancer Activity of L-Asparaginase Produced by Marine *Aspergillus terreus*. Journal of Pure and Applied Microbiology. 12(4), 1845–1854.
- Hernandez, E., Hernandez, C.A. and Lobato-Benitez, C., 2017. Algal Enzymes, Biotechnological Potential Uses: A Review. Cymbella. 3(1), 1–15.
- Imada, A., Igarasi, S., Nakahama, K. and Isono, M., 1973. Asparaginase and Glutaminase Activities of Micro-organisms. Journal of General Microbiology. 76(1), 85–99.
- Jannah, S.N., Hanifa, Y.R., Utomo, A.B., Prambodo, A.K.D. dan Lunggani, A.T., 2021. Isolasi dan Potensi Enzim Hidrolase Bakteri Simbion *Padina* sp. Dari Pantai Lengkuas Belitung. Bioma. 23(1), 11–17.
- Karim, H., Ahmad, A., Asmi, N., Natzir, R., Massi, M.N., Hatta, M. et al., 2020. Optimization of Enzyme Activity of L-asparaginase Derived from *Enterobacter Agglomerans* Sb 221 Bacterial Symbiont of Brown Algae *Sargassum* Sp. Rayasan J. Chem. 13(3), 1571–1579.
- Lehninger, A.L., 1997. Dasar-dasar Biokimia, Jilid 1 (Edisi Revisi). Erlangga, Jakarta.
- Leliaert, F., De Clerck, O. and Coppejans, E., 2011. Marine Macroalgae Seaweeds. A Field Guide to The Seashores of Eastern Africa. Ghent University, Belgium.
- Mardiana, D., 2019. Studi In Vitro Enzim L-asparaginase dari Bakteri Simbion Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) sebagai Antibakteri dan Antibakteri. Skripsi. Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. and McLaughlin, J.L., 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. Journal of Medicinal Plant Research. 45(1), 31–34.
- Natsir, H., Dali, S. dan Astin, T., 2009. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Kitinase dari Bakteri Termofil Isolat ST-3.2b. Jurnal Ilmiah Biologi. 4(1), 51–58.
- Nisar, 2017. Daya Hambat Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare. Skripsi. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N. dan Hidayatulloh, A., 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. Jurnal teknologi Hasil Peternakan, 1(2), 41–46.

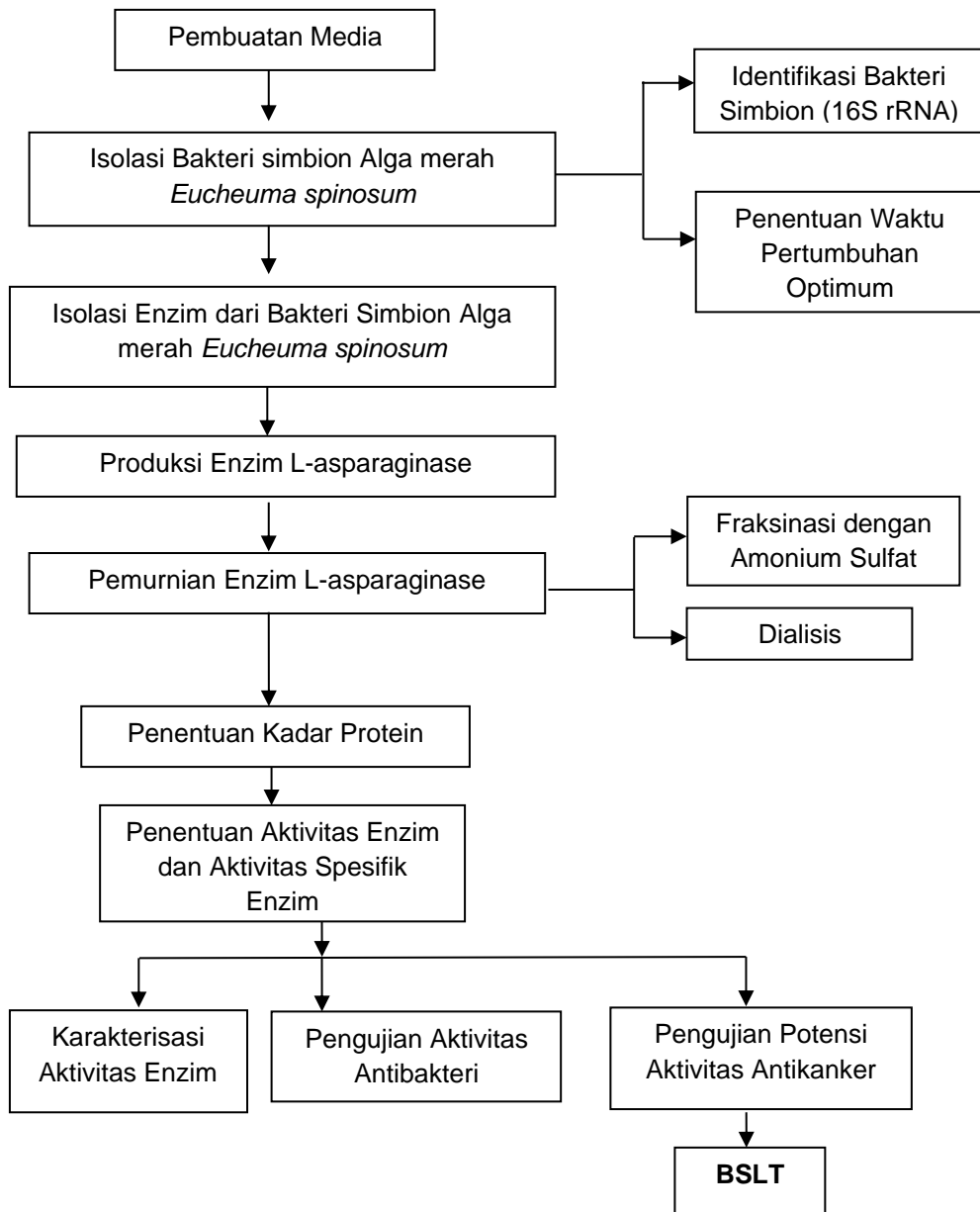
- Nurkhotimah, Yulianti, E. dan Rakhmawati, A., 2017. Pengaruh Suhu dan Ph terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi*. 6(8), 465–471.
- Pahriyani, A. dan Wardani, E., 2020. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Simbion dari Spons Laut yang Berpotensi sebagai Antimikroba. Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka, Jakarta.
- Pakidi, C.S. dan Suwono, H.S., 2016. Potensi dan Pemanfaatan Bahan Aktif Alga Cokelat *Sargassum sp.* *Octopus Jurnal Perikanan*. 5(2), 488–498.
- Pangribowo, S., 2019. Beban Kanker di Indonesia. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Papich, M.G., 2016. *Saunders Handbook of Veterinary Drugs (Fourth Edition)*. Elsevier, St. Louis.
- Parte, S., Sirisha, V.L. and D'souza, J.S., 2017. Biotechnological Applications of Marine Enzymes from Algae, Bacteria, Fungi, and Sponges. Elsevier Inc., *Advance in Food and Nutrition Research*. 80, 75–106.
- Permatasari, N.U., 2019. Eksplorasi dan Karakterisasi Biokimia Levansukrase Bakteri Halofilik melalui Kloning dan Ekspresi Heterolog Gen Levansukrase Rekombinan. Disertasi. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Poernomo, A.T., Sudjarwo dan Parasati, R.A., 2014. Purifikasi Parsial Enzim Fibrinolitik Tempe Kacang Koro (*Canavalia Ensiformis*) Produk Fermentasi *Rhizopus Oryzae* Fnc 6078. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*. 3(2), 23–30.
- Prabhu, R.H., Bhise, K.S. and Patravale, V.B., 2017. Marine Enzymes in Cancer: A New Paradigm, *Advance in Food and Nutrition Research*. 80, 1–14.
- Pratama, O., 2020. Konversi Perairan sebagai Upaya Menjaga Potensi Kelautan dan Perikanan Indonesia, Direktorat Jenderal Pengelolaan Ruang Laut, Jakarta.
- Putra, M.I.A., 2023. Isolasi Protein dan Hidrolisat Peptida Bioaktif dari Bakteri Simbion Teripang Hitam *Holothuria Atra* sebagai Agen Antikanker dan Antioksidan. Skripsi. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Putri, N.A., 2019. Studi Bioaktivitas (Antioksidan, Antibakteri, dan Antikanker) Ekstrak Fukoidan dari *Sargassum Filipendula* dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). Skripsi. Universitas Brawijaya, Malang.
- Ramadan, R., Ahmad, A., Marinda, Natsir, H., Karim, A. and Karim, H., 2019. Symbiont Bacteria Cultures from The Red Algae *Eucheuma spinosum*, Isolation of Bioactive Proteins and Their Anticancer Potential Test. *Journal of Physics: Conference Series*, IOP Publishing. 1341, 1–5.

- Ramadan, R., 2021. Isolasi Protein dan Peptida Bioaktif dari Bakteri Simbion Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) dan Potensinya sebagai Agen Antikanker. Tesis. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Sartika, 2014. Potensi Antimikroba Protein Bioaktif dari Bakteri Simbion Alga Coklat *Sargassum* sp. asal Perairan Pulau Lae-Lae. Skripsi. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Satrina, 2018. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Doc Broiler Umur Satu Hari berdasarkan Gen 16S rRNA. Skripsi. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Selvia, R.I., Wuryanti dan Sriatun, 2013. Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 16(3), 97–101.
- Septiani, Dewi, E.N. dan Wijayanti, I., 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea Rotundata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 13(1), 1–6.
- Sogandi, 2018. Biologi Molekuler: Identifikasi Bakteri Secara Molekuler. Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta.
- Sosialine, E., Fadia, Z., Ardiyani, Chusun, Umar, F. dan Mas'ud, H., 2013. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Kementrian RI, Jakarta.
- Sugrani, A., Ahmad, A., Djide, M.N. and Natsir, H., 2019. Toxicological Evaluation and Antibacterial Activity of Crude Protein Extract from Endophytic Bacteria Associated with Algae *Eucheuma spinosum*. *Journal of Physics: Conference Series IOP Publishing*. 1341, 1–11.
- Suprobo, C.O., Suprihati dan 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.
- Tukan, O.B., Salosso dan Y., Djonu, A., 2023. Pencegahan Infeksi Bakteri *Vibrio Alginolyticus* pada Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus* Sp.) menggunakan Rebusan Daun Kersen (*Muntingia Calabura*). *Journal Perikanan*. 13(3), 634–646. <http://doi.org/10.29303/jp.v13i3.553>.
- Van Den Berg, 2011. Asparaginase Revisited. *Informa Healthcare: Leukemia & Lymphoma*. 52(2), 168–178.
- Verma, N., Kumar, K., Kaur, G. and Anand, S., 2007. L-asparaginase: A Promising Chemotherapeutic Agent. *Informa Healthcare, Critical Reviews in Biotechnology*. 27, 45–62.
- WHO, 2022. *Cancer*. Swiss. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> [Accessed 2023. 12. 19].

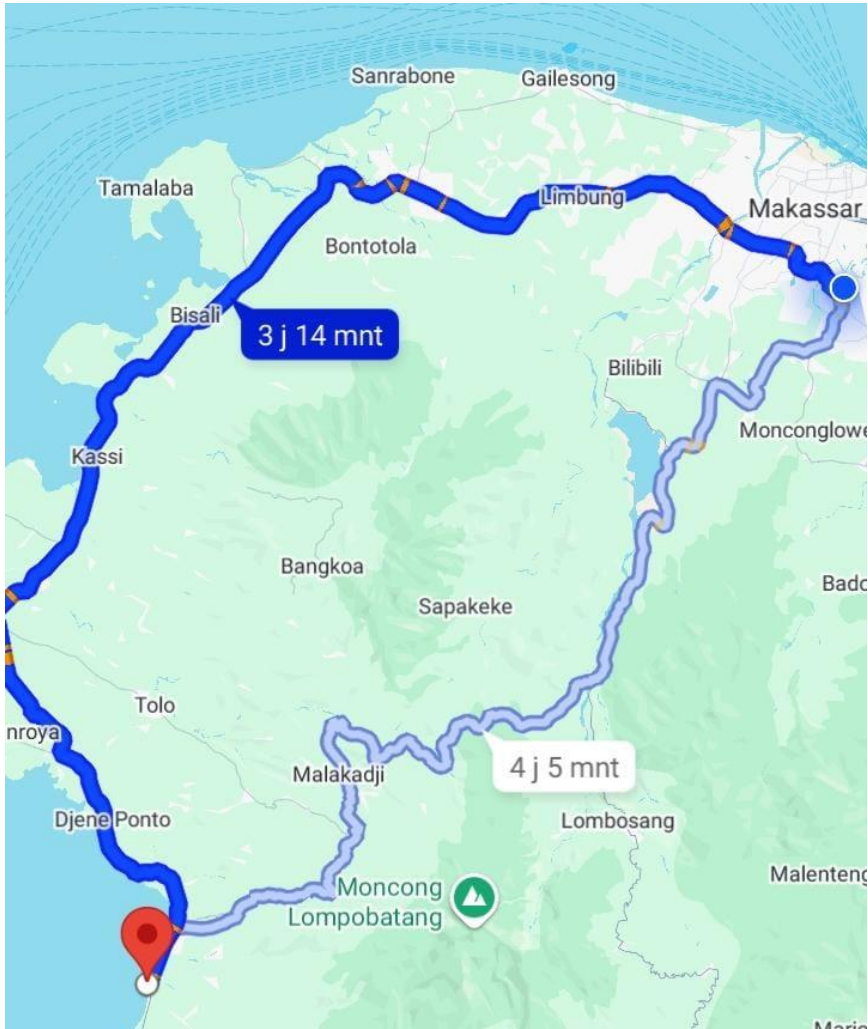
- Yuliana, 2013. Pengaruh Perendaman *Eucheuma spinosum* J. Agardh dalam Larutan Pupuk Provasoli's Enrich Seawater terhadap Laju Pertumbuhan secara In Vitro. Skripsi. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Yusriadi, Ahmad, A., Khaerah, N., Arfah, R., Karim, A. and Karim, H., 2019. Isolation, Characterization and Anticancer Potential Test of Crude Extract of L-asparaginase Enzyme from Siam Weed Leaf (*Chromolaena Odorata* Linn): A Novel Source. *Journal of Physics: Conference Series*. 1341, 1–10.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Alir Penelitian



Lampiran 2. Lokasi Pengambilan Sampel Alga Merah *Eucheuma spinosum*



Lampiran 3. Hasil Uji Identifikasi Spesies Alga Merah *Eucheuma spinosum*



LABORATORIUM PRODUKTIVITAS & KUALITAS PERAIRAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN

Jl. Perintis Kemerdekaan, KM 10 Tamalanrea, Makassar, Indonesia 90245
 Telp./Fas. +62-0411-586025, email: fikel@unhas.ac.id, website: http://fkip.unhas.ac.id


No : 02.UM/Lab.Air/I/2024
 Pemilik sampel : Farida Nurilmi (MIPA UNHAS)
 Tanggal terima sampel : 3 Januari 2024
 Jumlah sampel : 1
 Jenis sampel : Alga
 Asal sampel : Kab. Bantaeng
 Jenis Kegiatan : Penelitian S1

DATA HASIL IDENTIFIKASI

NO.	Kode Sampel	Klasifikasi Organisme	Gambar
1	Alga	Kingdom : Plantae Divisio : Rhodophyta Classis : Florideophyceae Ordo : Gigartinales Familia : Solieriaceae Genus : <i>Eucheuma</i> Species : <i>Eucheuma spinosum</i> J.Agardh, 1847 (Worms, 2024)	 <p>Keterangan : <i>Eucheuma spinosum</i> memiliki ciri fisik bentuk thallus bulat tegak, dengan ukuran panjang 5-30 cm, transparan, warna coklat kekuningan sampel merah kekuningan. Permukaan thallus tertutup oleh tonjolan yang berbentuk seperti duri-duri runcing yang tidak beraturan, dari terasbut ada yang memegang seolah berbentuk seperti cabang. Tanaman tegak karena percabangannya yang rimbun dapat membentuk rumpun. Percabangan thallus tumbuh pada bagian yang tua ataupun muda tidak beraturan (Sari et al. 2021)</p>

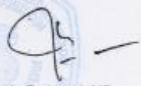
Sumber pustaka :
 Gavino C. Trono. 1988. *Philippine Seaweeds*. Penerbit National book store. ISBN 9710839365. Hal.330p.
<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=381368> diakses pada tanggal 7 Januari 2024
 Sari, I.D.A.A.D, Subrata, I.M., Sumaryani, N.P., dan Rai, I.G.A. 2021. Identifikasi Jenis Rumpun Laut Yang Terdapat Pada Ekosistem Alam Perairan Nusa Penida. *Jurnal Emasains: Jurnal Edukasi Matematika dan Sains* Vol X(1). P-ISSN 2302-2124 E-ISSN 2622 8658

Pranata Lab. Pendidikan (PLP)



Fitriyani, S Si., M.K.M
 NIP. 19771012 200112 2 001

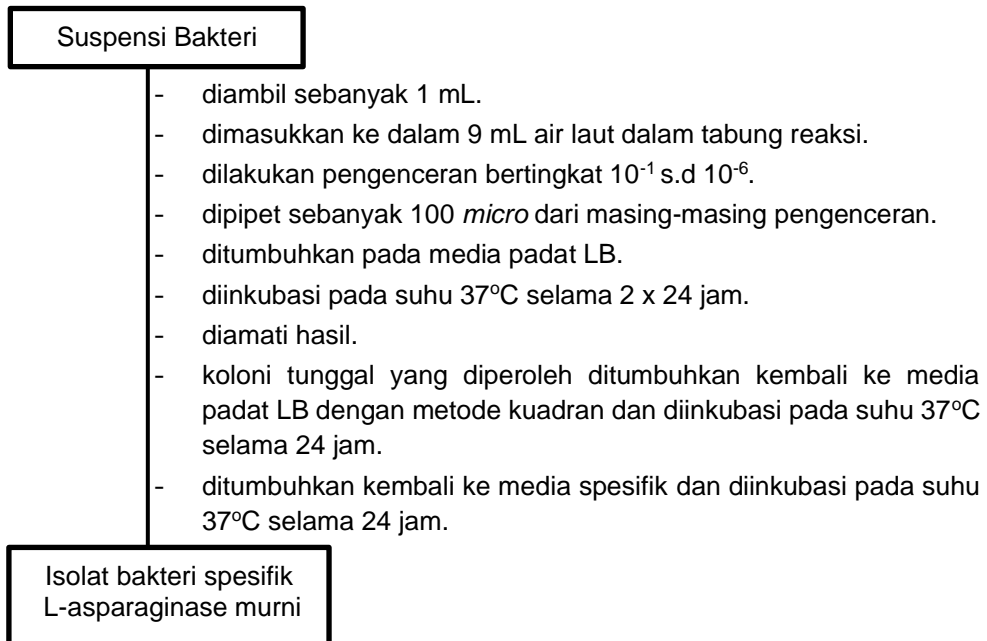
Makassar, 7 Januari 2024
 Kepala Lab.



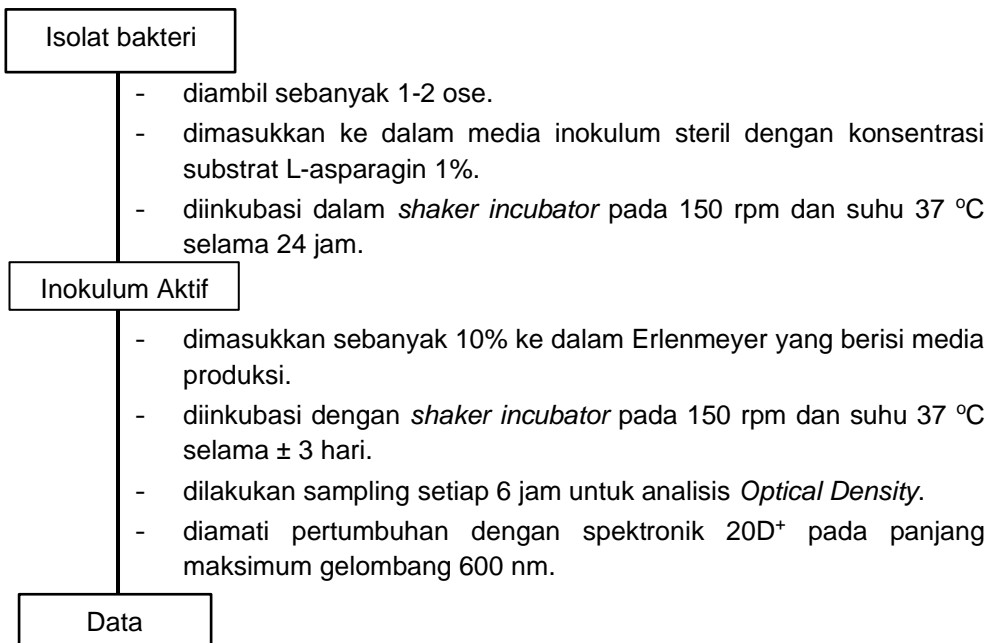
Dr. Ir. Badraeni, MP
 NIP. 19651023 199103 2 001

Lampiran 4. Bagan Kerja Penelitian

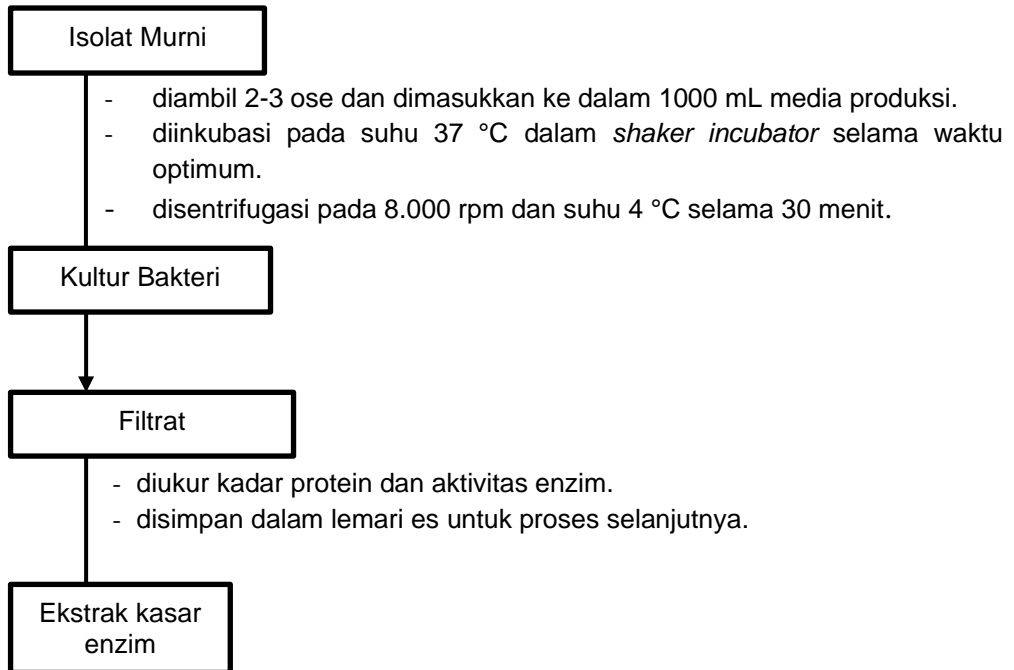
1. Isolasi Bakteri Simbion Alga Merah *Eucheuma spinosum*



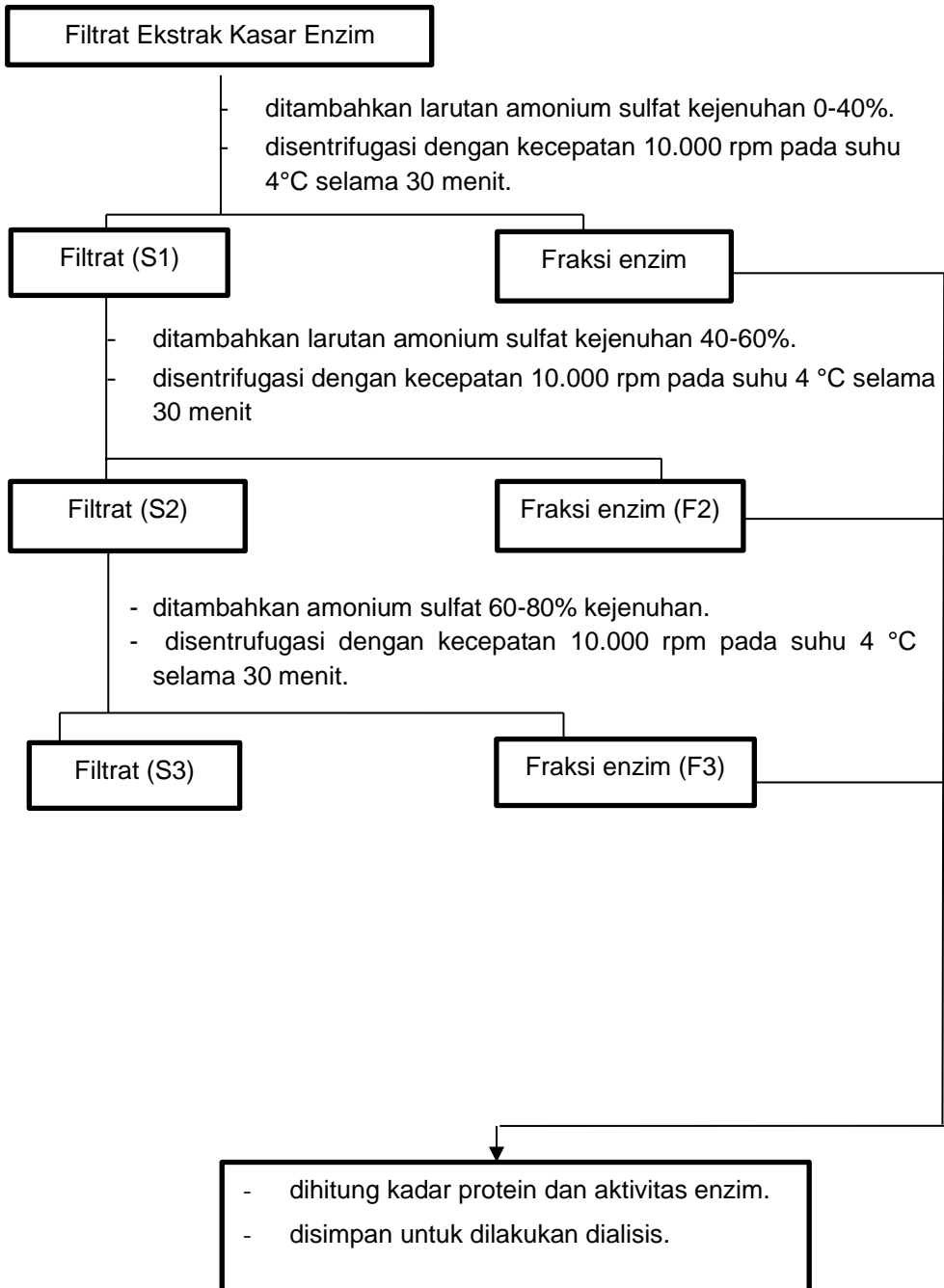
2. Penentuan Waktu Pertumbuhan Optimum Bakteri Simbion Alga Merah *Eucheuma spinosum* kode FP51A



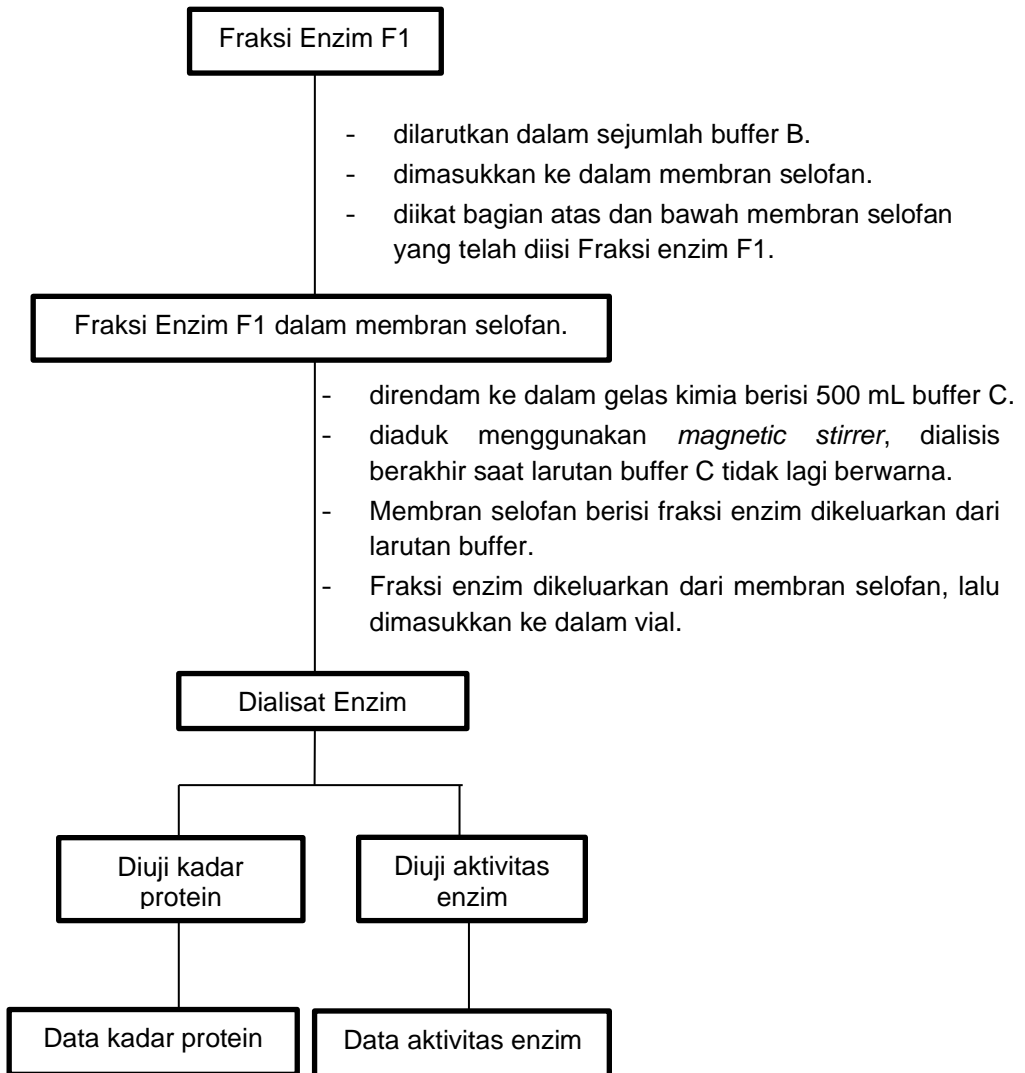
3. Produksi Enzim L-asparaginase.



4. Fraksinasi Enzim L-asparaginase dengan Amonium Sulfat.

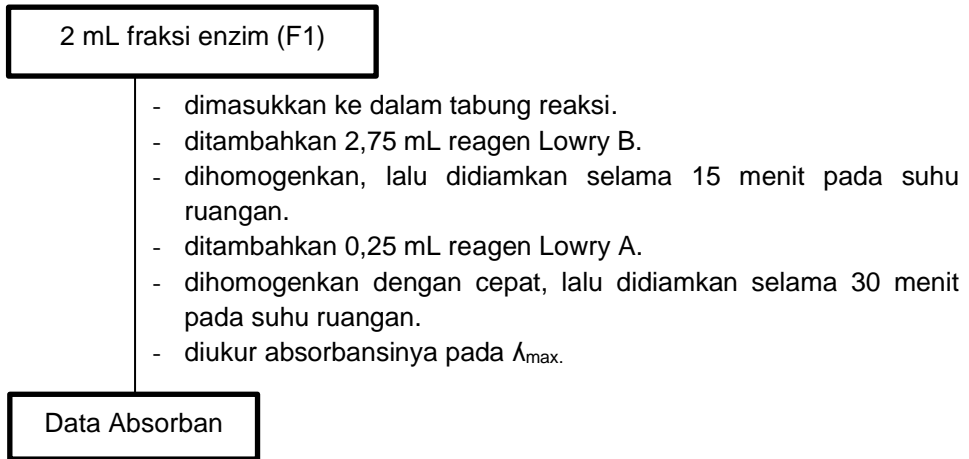


5. Bagan Kerja Dialisis



Catatan: dilakukan prosedur yang sama untuk fraksi enzim F2 dan F3.

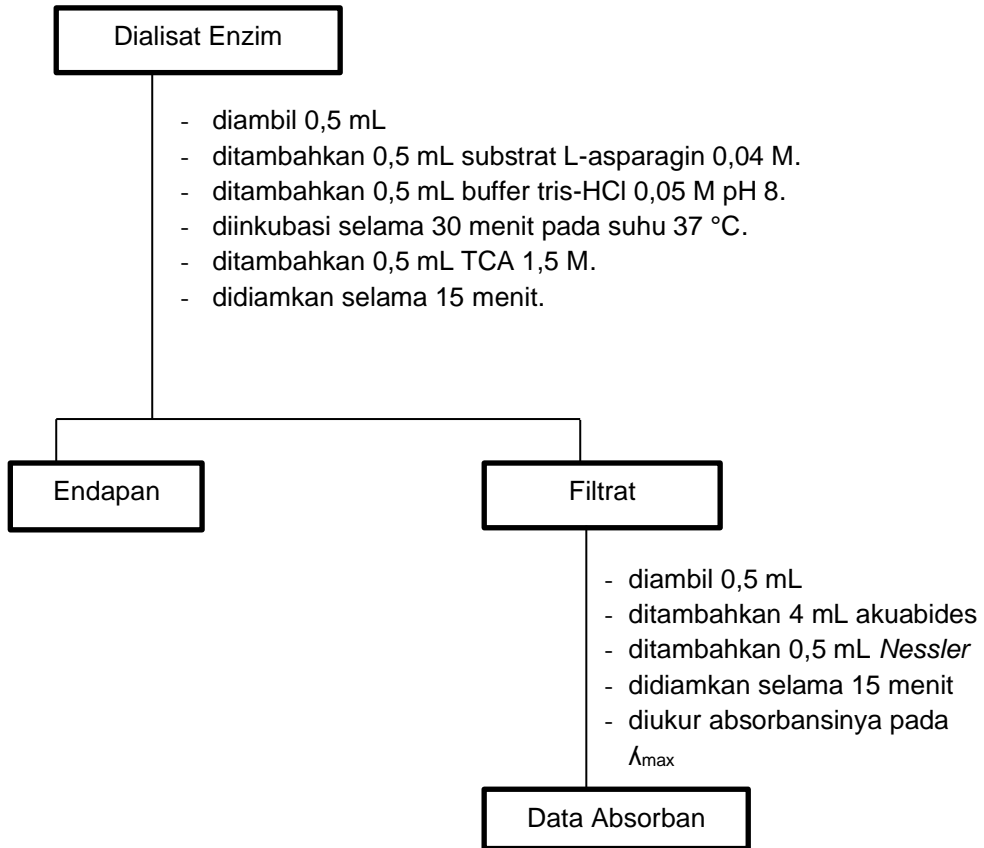
6. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry



Catatan:

- dilakukan prosedur yang sama untuk fraksi enzim F2 dan F3 serta larutan blanko dan standar BSA.
- ditentukan kadar protein dari data absorbansi yang diperoleh.

7. Penentuan Aktivitas Enzim L-asparaginase dengan Metode *Nessler*

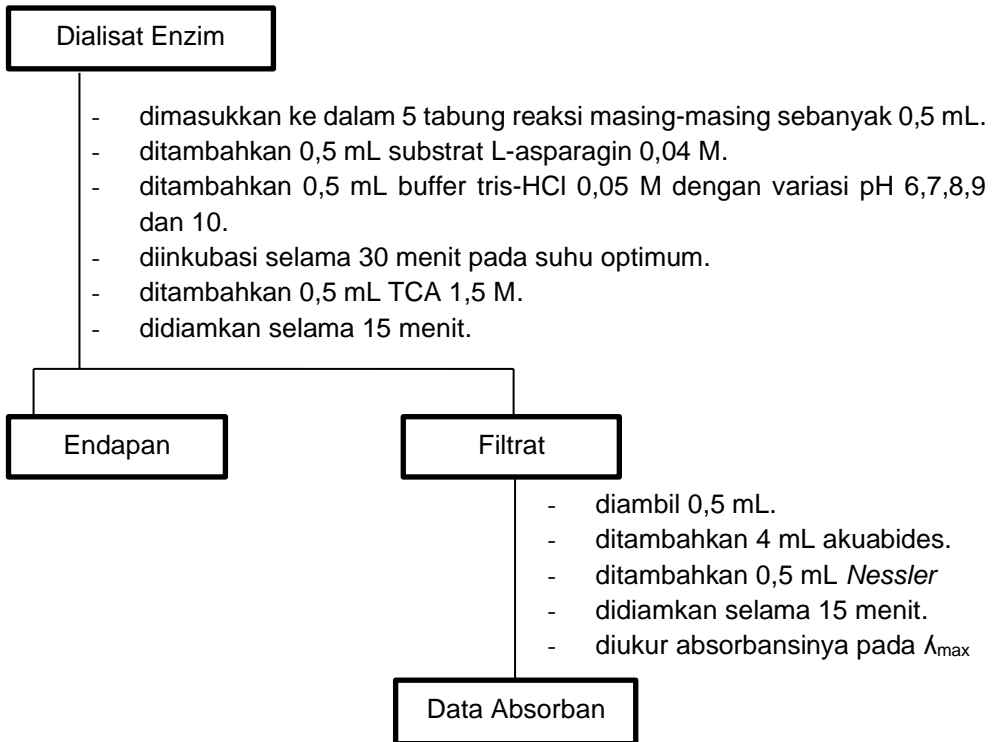


Catatan:

- Dilakukan prosedur yang sama menggunakan standar NH_4Cl 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 dan 0,16 mg/L dimulai dari tahap perlakuan pada filtrat.
- Dihitung aktivitas enzim L-asparaginase dari data absorbansi yang diperoleh.

8. Karakterisasi Aktivitas Enzim L-asparaginase

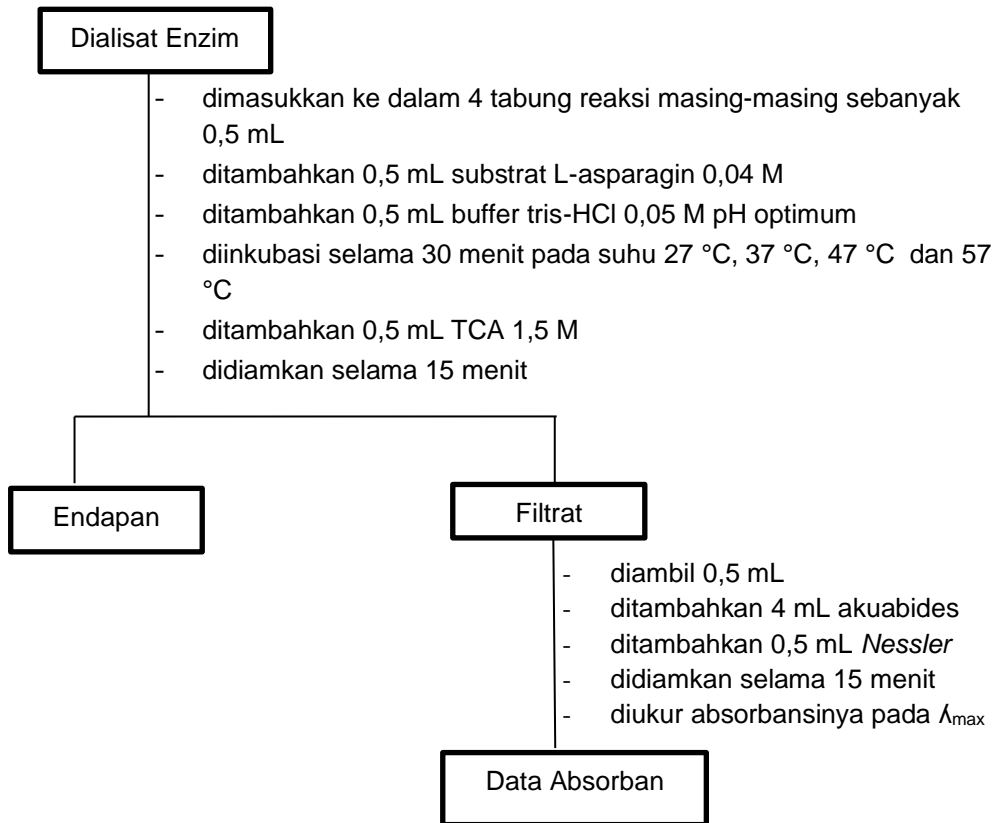
a. Karakterisasi Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim L-asparaginase



Catatan:

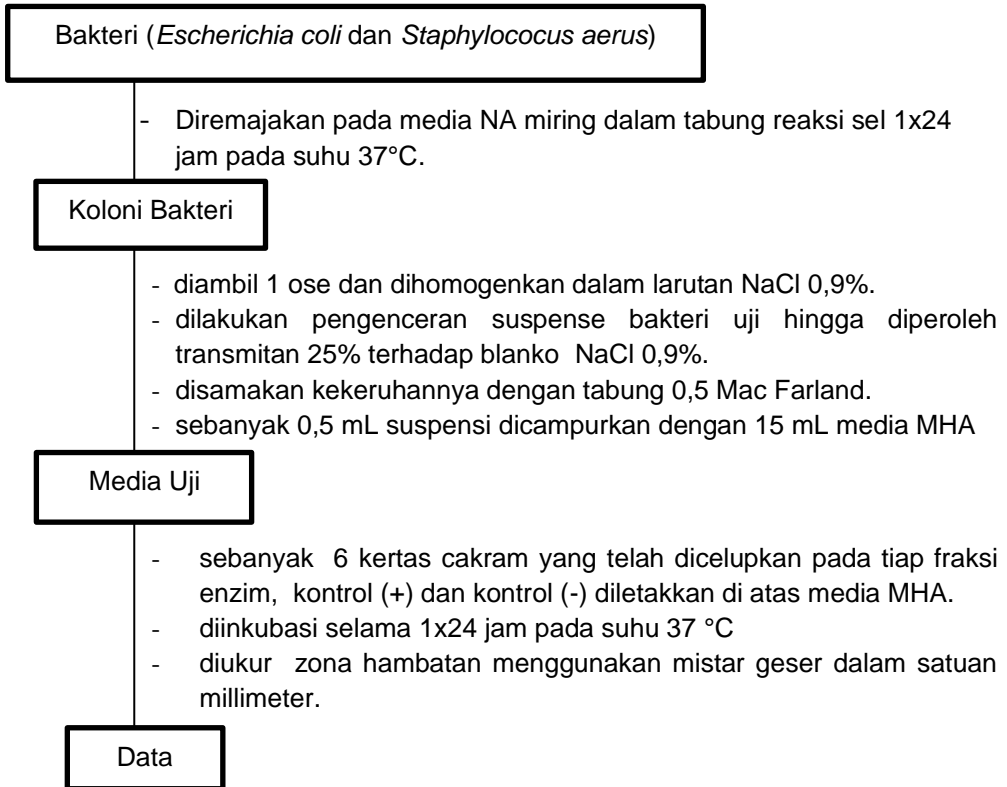
- Dihitung aktivitas enzim dari data absorbansi yang diperoleh.

b. Karakterisasi Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim L-asparaginase



Ket: Dihitung aktivitas enzim dari data absorbansi yang didapatkan.

9. Uji Aktivitas Antibakteri Enzim L-asparaginase



Lampiran 5. Pembuatan Reagen Lowry

Pereaksi:

a. Pereaksi Lowry A

Pada pembuatan Lowry A dilakukan dengan cara pencampuran antara *Folin-Ciocalteu* dan akuades dengan perbandingan 1:1 dan dibuat sebanyak 100 mL.

b. Pereaksi Lowry B

Pada pembuatan Lowry B dibuat dengan cara pencampuran antara Na_2CO_3 2% dalam NaOH 0,1 N, Na-K-Tartat 2%, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% dengan perbandingan 100:1:1, yaitu diambil larutan Na_2CO_3 2% dalam NaOH 0,1 N sebanyak 100 mL, Na-K-Tartat 2% sebanyak 1 mL, dan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% lalu dihomogenkan.

Larutan Contoh:

- Dipipet 2 mL larutan sampel dan ditambahkan 2,75 mL Lowry B, dihomogenkan dan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruangan.
- Ditambahkan 0,25 mL Lowry A dan segera dihomogenkan.
- Disimpan selama 30 menit pada suhu ruangan, lalu diukur absorbannya pada panjang gelombang maksimum.

Larutan Baku:

- Ditimbang dengan teliti BSA untuk membuat reagen 1 mg/mL, lalu diencerkan dengan variasi konsentrasi 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 dan 0,16 mg/mL.
- Perlakuan larutan standar tersebut seperti pada larutan contoh.

Lampiran 6. Pembuatan Reagen Uji

1. Larutan Buffer Tris-HCl

- a. Prosedur Pembuatan Larutan Buffer B (Tris-HCl 0,1 M pH 8,3; NaCl 0,2 M dan CaCl_2 0,01 M)
 1. Ditimbang 6,05 g Tris (Hidroksimetil) aminometana ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$), lalu dilarutkan dengan akuades sampai 125 mL.
 2. Ditambahkan HCl 0,2 M sedikit demi sedikit sambil diatur pHnya sampai mencapai 8,3.
 3. Selanjutnya ditambahkan NaCl sebanyak 5,85 g dan 0,555 g CaCl_2 dan dicukupkan volumenya sampai 500 mL dengan akuades.
- b. Prosedur Pembuatan Larutan Buffer C (Tris-HCl 0,01 M pH 8,3; NaCl 0,2 M dan CaCl_2 0,01 M)
 1. Ditimbang 0,605 g Tris (Hidroksimetil) aminometana ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$), lalu dilarutkan dengan akuades sampai 125 mL.
 2. Ditambahkan HCl 2 M sedikit demi sedikit sambil diatur pHnya sampai mencapai 8,3.
 3. Selanjutnya ditambahkan NaCl sebanyak 5,85 g dan 0,555 g CaCl_2 dan dicukupkan volumenya sampai 500 mL dengan akuades.

2. Pembuatan Reagen *Nessler*

Prosedur pembuatan larutan *Nessler* dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. ditimbang NaOH sebanyak 16 gram, lalu dilarutkan dengan akuades hingga larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
2. dilarutkan 7 g KI dalam akuades.
3. dilarutkan 10 g HgCl_2 dalam akuades.
4. dimasukkan campuran KI dan HgCl_2 ke dalam larutan NaOH dalam labu ukur 100 mL.
5. ditambahkan akuades hingga garis batas kalibrasi.
6. dihomogenkan dan disimpan dalam botol reagen berwarna gelap.

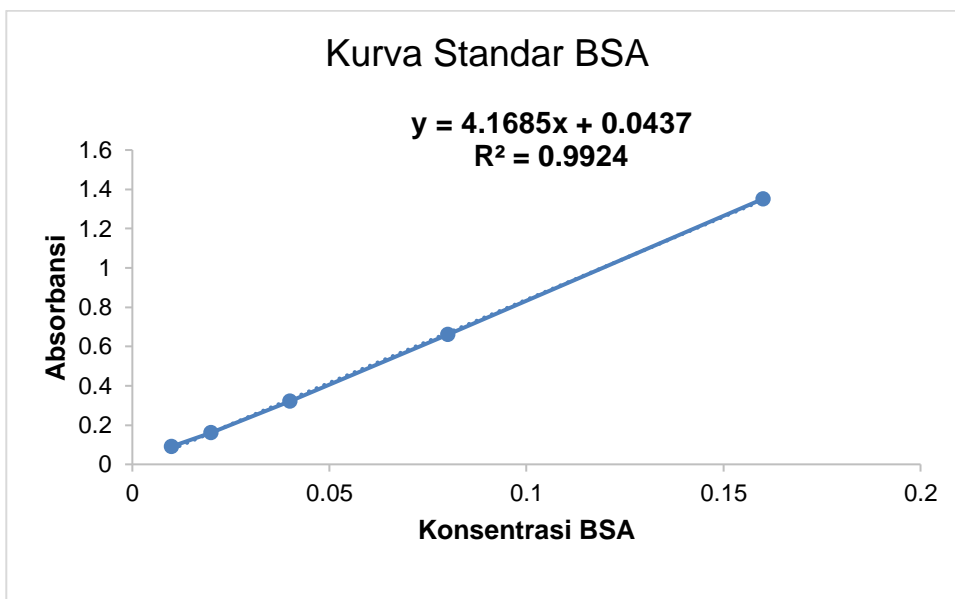
Lampiran 7. Data Hasil Penentuan Waktu Pertumbuhan Optimum Isolat Bakteri Symbion FP51A

Waktu Fermentasi (jam)	Absorbansi	Kadar Protein (mg/mL)	Absorbansi	Aktivitas Spesifik (U/mg)	OD
0	0,403	0,086	0,051	46,588	0,055
3	0,423	0,091	0,058	51,261	0,153
6	0,379	0,080	0,066	67,220	0,153
9	0,373	0,079	0,063	64,334	0,155
12	0,368	0,078	0,059	60,562	0,162
18	0,359	0,076	0,075	81,915	0,254
24	0,341	0,071	0,202	252,074	0,612
30	0,365	0,077	0,307	360,177	0,875
42	0,346	0,072	0,322	401,403	1,025
54	0,331	0,069	0,152	193,564	0,149

Lampiran 8. Penentuan Kurva Standar.

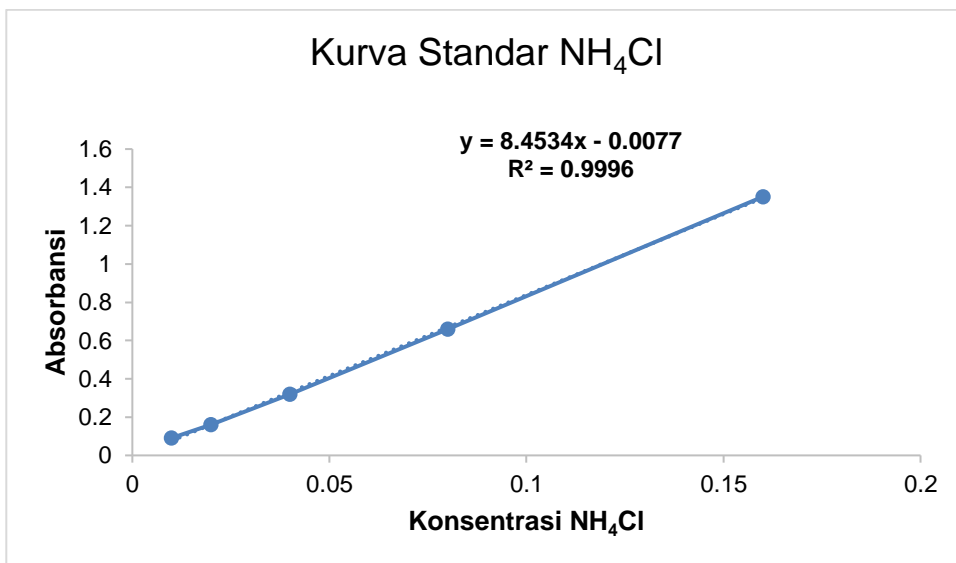
1. Larutan Standar BSA pada panjang gelombang (λ) 733 nm

Nomor	Konsentrasi BSA (mg/mL)	Absorbansi
1.	0,01	0,065
2.	0,02	0,117
3.	0,04	0,228
4.	0,08	0,407
5.	0,16	0,694



2. Larutan Standar NH₄Cl pada panjang gelombang (λ) 401 nm

Nomor	Konsentrasi NH ₄ Cl (mg/mL)	Absorbansi
1.	0,01	0,091
2.	0,02	0,160
3.	0,04	0,320
4.	0,08	0,660
5.	0,16	1,351



Lampiran 9. Perhitungan Jumlah Penambahan Amonium Sulfat pada Fraksinasi Bertingkat

Fraksi Enzim	Volume Filtrat (mL)	Bobot Amonium Sulfat (gram)
Ekstrak Kasar	800	0
(F1) 0-40%	800	180,8
(F2) 40-60%	800	96
(F3) 60-80%	800	103,2

Perhitungan penambahan garam amonium sulfat sebagai berikut:

- a. (F1) 0-40% = 226 gram x 800 mL/1000 mL= 180,8 gram
- b. (F2) 40-60% = 120 gram x 800 mL/1000 mL= 96 gram
- c. (F3) 60-80% = 129 gram x 770 mL/1000 mL= 99,33 gram

Lampiran 11. Data Hasil Perhitungan Pengukuran Kadar Protein Dialisat Enzim L-asparaginase

Sampel Enzim	Absorbansi	FP	Kadar Protein (mg/mL)
Ekstrak Kasar	0,563	50	6,229
Dialisat 0-40%	0,478	50	5,209
Dialisat 40-60%	0,533	50	5,863
Dialisat 60-80%	0,448	100	9,687

Data pada tabel di atas di peroleh dengan cara:

Persamaan regresi kurva larutan standar BSA adalah $y = 4,1685x + 0,0437$

$$X_{EK} = \frac{y - 0,0437}{4,1685} = \frac{0,563 - 0,0437}{4,1685} = 0,1246 \text{ mg/mL} \times 50 = 6,229 \text{ mg/mL}$$

$$X_{D1} = \frac{y - 0,0437}{4,1685} = \frac{0,478 - 0,0437}{4,1685} = 0,1042 \text{ mg/mL} \times 50 = 5,209 \text{ mg/mL}$$

$$X_{D2} = \frac{y - 0,0437}{4,1685} = \frac{0,533 - 0,0437}{4,1685} = 0,1173 \text{ mg/mL} \times 50 = 5,863 \text{ mg/mL}$$

$$X_{D3} = \frac{y - 0,0437}{4,1685} = \frac{0,448 - 0,0437}{4,1685} = 0,0969 \text{ mg/mL} \times 100 = 9,687 \text{ mg/mL}$$

Keterangan: masing-masing dikalikan dengan faktor pengenceran (fp = 50).

Lampiran 12. Perhitungan Pengukuran Aktivitas Dialisat Enzim L-asparaginase

Sampel Enzim	Absorbansi	FP	Aktivitas Enzim (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
Ekstrak Kasar	0,785	4	73,414	11,786
Dialisat 0-40%	0,560	4	4,206	0,807
Dialisat 40-60%	0,875	4	6,540	1,1154
Dialisat 60-80%	0,663	4	4,965	0,5126

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{y-b}{a} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{hidrolisis}}} \times \frac{1}{V_{\text{enzim}} \times t_{\text{inkubasi}}} \times \frac{1}{\text{BM}} \times 1000 \times \text{FP}$$

Persamaan regresi kurva larutan standar NH_4Cl , $y = 8.4534x - 0.0077$ dimana y adalah absorbansi aktivitas enzim

$$X_{\text{EK}} = \frac{0,785 + 0,0077}{8,4534} \times \frac{2}{0,5} \times \frac{1}{0,5 \times 30} \times \frac{1}{17,031} \times 1000 \times 4 = 73,414 \text{ U/mL}$$

$$X_1 = \frac{0,560 + 0,0077}{8,4534} \times \frac{2}{0,5} \times \frac{1}{0,5 \times 30} \times \frac{1}{17,031} \times 1000 \times 4 = 4,206 \text{ U/mL}$$

$$X_2 = \frac{0,875 + 0,0077}{8,4534} \times \frac{2}{0,5} \times \frac{1}{0,5 \times 30} \times \frac{1}{17,031} \times 1000 \times 4 = 6,540 \text{ U/mL}$$

$$X_3 = \frac{0,663 + 0,0077}{8,4534} \times \frac{2}{0,5} \times \frac{1}{0,5 \times 30} \times \frac{1}{17,031} \times 1000 \times 4 = 4,965 \text{ U/mL}$$

$$\text{Aktivitas spesifik (U/mg protein)} = \frac{\text{aktivitas enzim L-asparaginase (U/mL)}}{\text{kadar protein dalam sampel (mg/mL)}}$$

$$= \frac{73,414}{6,229} \text{ U/mg}$$

$$= \mathbf{11,786 \text{ U/mg}}$$

Lampiran 13. Karakterisasi Aktivitas Enzim L-asparaginase dari Bakteri Simbion Alga Merah *Eucheuma spinosum* kode FP51A

1. Aktivitas Enzim L-asparaginase terhadap Pengaruh Variasi Suhu

No	pH	Absorbansi	Aktivitas Enzim (U/mL)
1.	6	1,203	8,97
2.	7	0,212	9,04
3.	8	1,250	9,32
4.	9	1,239	9,24
5.	10	1,224	9,13

2. Aktivitas Enzim L-asparaginase terhadap Pengaruh Variasi

No	Suhu (°C)	Absorbansi	Aktivitas Enzim (U/mL)
1.	27	1,223	9,12
2.	37	1,276	9,51
3.	47	1,211	9,03
4.	57	1,148	8,56

Lampiran 14. Tabel Harga Probit

%	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,93	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,55	7,66	7,75	7,88	8,09

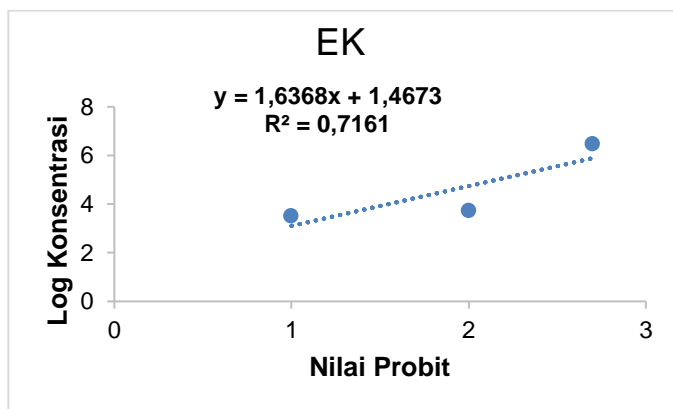
Lampiran 15. Data Hasil Uji Toksisitas Dialisat Enzim L-asparaginase dengan Metode BSLT

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)		
	10	100	500
	0	0	9
EK	1	1	9
	1	2	10
Rata-Rata yang mati	0,67	1	9,33
% Kematian	7	10	93
	0	0	3
Dialisat 0-40%	0	1	7
	0	1	7
Rata-Rata yang mati	0	0,67	5,67
% Kematian	0	7	57
	0	1	5
Dialisat 40-60%	0	2	6
	1	2	7
Rata-Rata yang mati	0,33	1,67	6
% Kematian	3	17	60
	0	0	7
Dialisat 60-80%	0	0	8
	0	0	9
Rata-Rata yang mati	0	0	8
% Kematian	0	0	80
	0	0	0
Kontrol	0	0	0
	0	0	0
Rata-Rata yang mati	0	0	0
Jumlah Larva Awal	10	10	10

Lampiran 16. Perhitungan LC_{50} Hasil Uji Toksisitas Enzim L-asparaginase dengan Metode BSLT

Ekstrak Kasar Enzim (EK)

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
1	7	3,52
2	10	3,73
2,699	93	6,48



$$y = 1,6368x + 1,4673$$

$$X = \frac{Y + 1,4673}{1,6368} \text{ (untuk mendapatkan 50\% maka nilai probitnya, } Y = 5)$$

$$X = 2,158$$

$$LC_{50} = \text{Antilog}(2,158) = 144,0 \text{ ppm (Sedang)}$$

Lampiran 17. Dokumentasi Penelitian



(Proses Sampling)



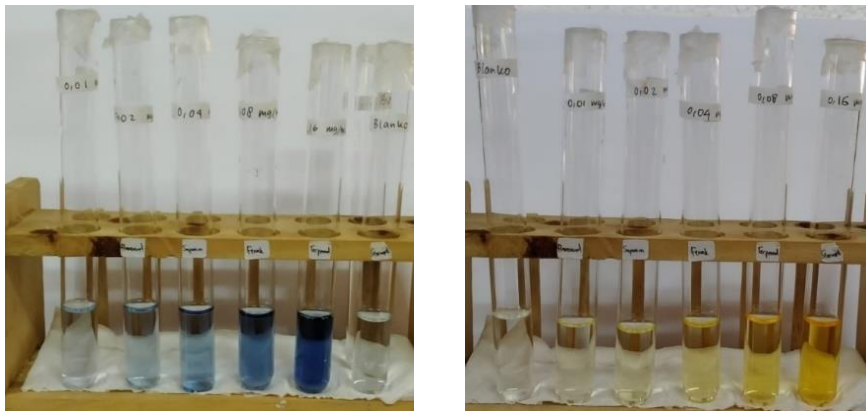
(Proses Penimbangan)



(Proses Isolasi Bakteri dalam Media cair LB)



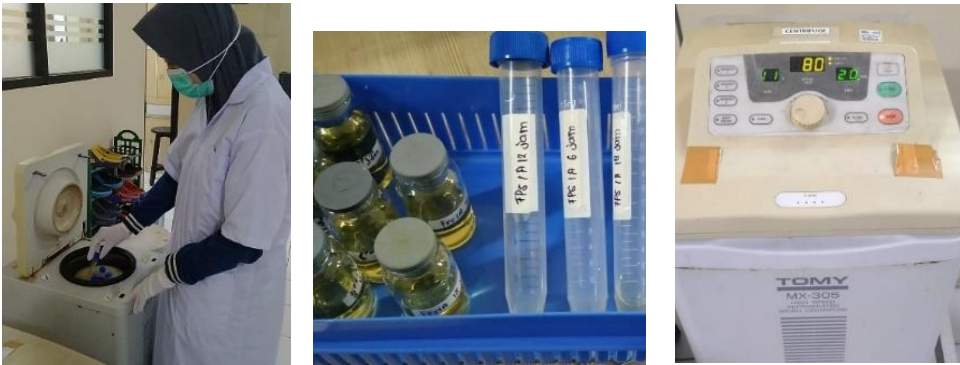
(Pembuatan Media padat Spesifik Enzim L-asparaginase)



(Pengukuran Larutan Standar BSA & NH_4Cl pada λ Maksimum)



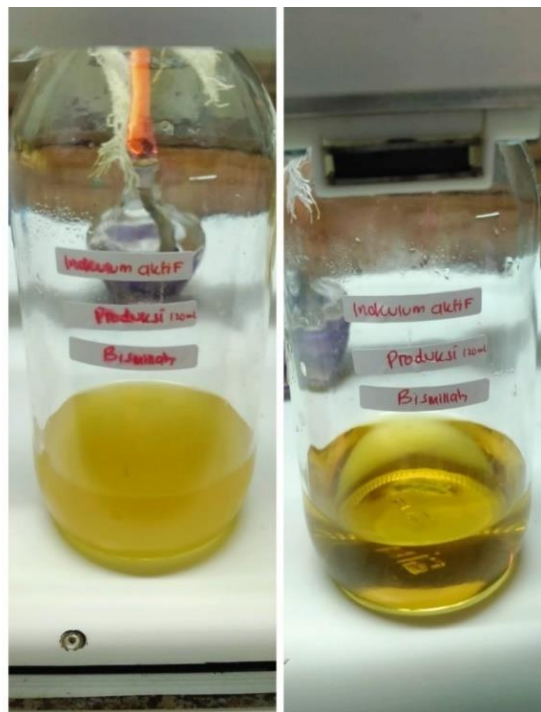
Pengukuran OD (*Optical Density*) untuk Menentukan Waktu Optimum Pertumbuhan Bakteri



(Sentrifugasi Sampel Hasil OD)



(Pengujian Kadar Protein dan Aktivitas Enzim Sampel OD)



(Persiapan Produksi Enzim)



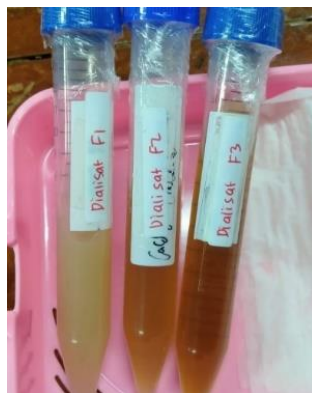
(Proses Fraksinasi Amonium Sulfat Bertingkat)



(Proses Sentrifugasi Hasil Fraksinasi)



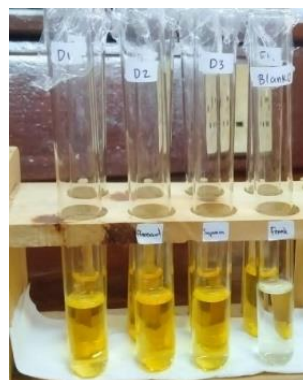
(Pembuatan Larutan Buffer B dan C)



(Proses Dialisis Enzim)



(Pembuatan Reagen Uji)



(Pengukuran Aktivitas Dialisat Enzim L-asparaginase)



(Pengujian BSLT sebagai Uji Toksisitas Enzim L asparaginase)



(Pengujian Aktivitas Antibakteri Enzim L-asparaginase)



(Dokumentasi bersama teman-teman peneliti dan Analis Laboratorium)