

Lampiran 1

Kurva Kalibrasi Larutan Standar *Bovine Serum Albumine* (BSA)

Kurva standar BSA digunakan untuk menentukan kadar protein (metode Lowry).

Untuk mendapatkan gambar kurva standar BSA digunakan persamaan regresi

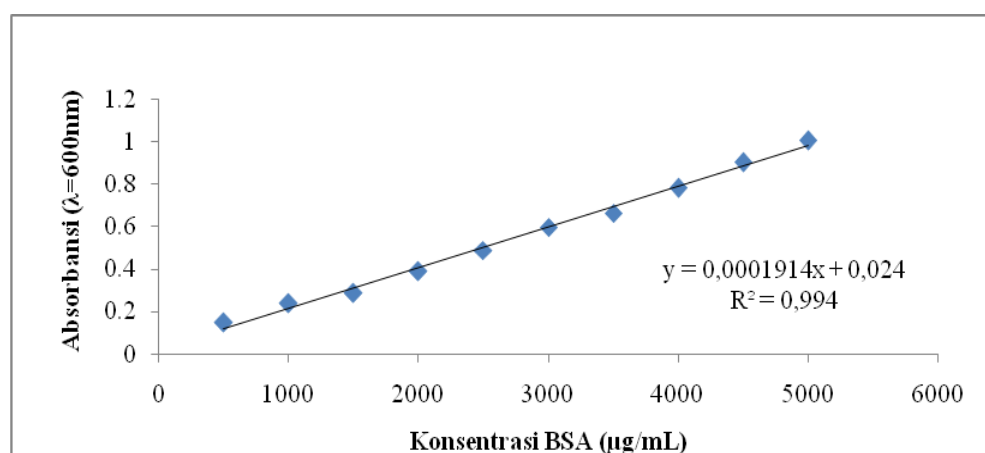
linier $Y = a + bx$, dengan :

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

Tabel 5. Absorbansi BSA pada berbagai konsentrasi untuk menentukan kurva standar protein

Konsentrasi BSA ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi ($\lambda=600\text{ nm}$)
500	0,149
1000	0,238
1500	0,285
2000	0,389
2500	0,488
3000	0,598
3500	0,665
4000	0,782
4500	0,904
5000	1,005

Data yang diperoleh didapatkan nilai $a = 0,024$ dan $b = 0,0001914$ sehingga persamaan garis menjadi $y = 0,0001914x + 0,024$.



Gambar 13. Kurva standar BSA

Lampiran 2

Kurva Standar β -Siklodekstrin

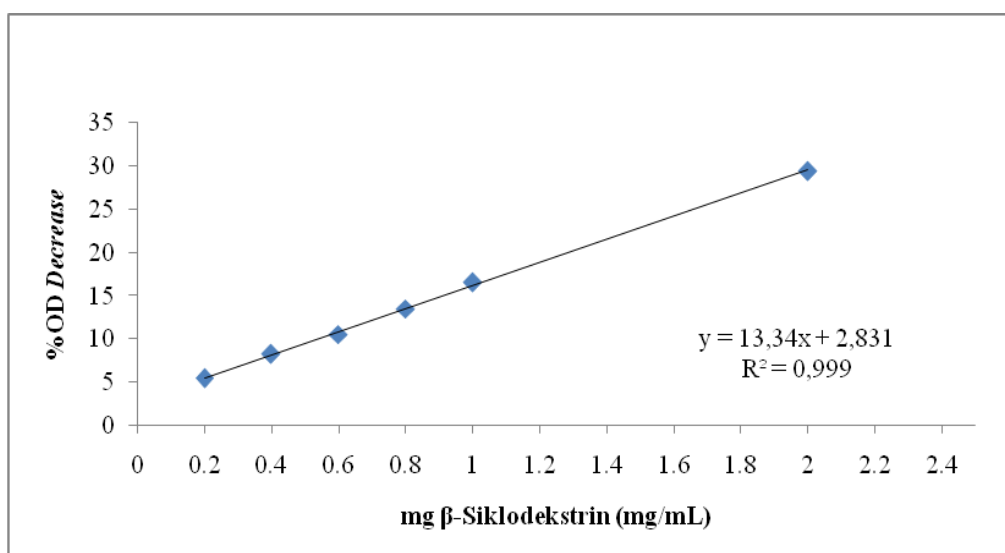
Untuk mendapatkan nilai % OD *Decrease* digunakan persamaan:

$$\% \text{ OD decrease} = \frac{[(\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel})]}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

Tabel 6. %OD *Decrease* β -Siklodekstrin pada berbagai konsentrasi untuk menentukan kurva standar β -Siklodekstrin (Abs.Kontrol = 0,5456)

Konsentrasi β -Siklodekstrin (mg/mL)	Absorbansi β -Siklodekstrin	% OD <i>Decrease</i>
0,2	0,5160	5,43
0,4	0,5007	8,22
0,6	0,4879	10,58
0,8	0,4719	13,51
1,0	0,4552	16,57
2,0	0,3852	29,39

Data yang diperoleh didapatkan nilai $a = 2,831$ dan $b = 13,34$ sehingga persamaan garis menjadi $y = 13,34x + 2,831$.



Gambar 14. Kurva Standar β -Siklodekstrin

Lampiran 3

Perhitungan Aktivitas Unit

$$A = \frac{(\%OD\ decrease \times Y_p \times D_f \times 10^3)}{(MW \times t_i)}$$

A = Aktivitas enzim untuk sampel yang tidak diketahui (U/mL
atau $\mu\text{mol/mL}$)

$$\% OD\ decrease = \frac{[(Abs.kontrol - Abs.sampel)]}{Abs.kontrol} \times 100\%$$

Y_p = mg β -Siklodekstrin yang setara dengan 100% OD *decrease*
standar

D_f = *Dilution factor* (faktor pengenceran)

t_i = waktu inkubasi

MW = Mr. β -Siklodekstrin (1135×10^3 mg/mol)

Lampiran 4**Tabel 7.** Pertumbuhan koloni dan *halozone* isolat LTi-21-3

Hari ke-	Diameter Koloni (cm)	Diameter Halozone (cm)
1	0,4	0,9
2	0,5	1,3
3	0,6	2,0
4	0,6	2,4
5	0,7	2,8
6	0,7	3,0
7	0,8	3,8

Lampiran 5

Tabel 8. Pertumbuhan isolat LTi-21-3 sumber nitrogen pepton-*yeast extract*

Waktu Kultur (jam)	Pertumbuhan Sel (600nm)	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
12	2,310	74,54	1,07	69,94
24	7,140	169,62	1,08	156,83
36	7,960	386,31	1,65	234,73
48	5,910	308,62	1,55	198,89
60	4,570	86,29	1,19	72,76
72	3,810	82,37	1,24	66,52

Tabel 9. Pertumbuhan isolat LTi-21-3 sumber nitrogen urea-*yeast extract*

Waktu Kultur (jam)	Pertumbuhan Sel (600nm)	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
12	1,271	67,87	0,50	136,74
24	5,530	71,91	0,87	82,42
36	6,273	128,09	1,30	98,46
48	5,723	58,08	0,72	81,15
60	4,372	31,46	0,64	49,36
72	3,224	35,12	0,56	62,82

Lampiran 6**Tabel 10.** Kestabilan ekstrak kasar enzim CGT-ase isolat LTi-21-3

Hari ke-	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Aktivitas Relatif (%)
1	491,09	3,25	151,28	100,00
2	313,96	2,91	107,83	71,27
3	191,00	2,36	80,67	53,32
4	79,92	2,64	28,30	18,70
5	57,35	5,03	11,40	7,53

Lampiran 7**Tabel 11.** Pemurnian enzim CGT-ase dari isolat LTi-21-3 dengan fraksinasi ammonium sulfat

Fraksi	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
0-20%	97,43	2,70	36,09
20-40%	8,15	1,92	4,24
40-60%	13,00	1,98	6,55
60-80%	73,17	1,72	42,61
80-100%	8,71	1,67	5,22

Aktivitas ekstrak enzim sebelum fraksinasi adalah 434,83 U/mL dengan kadar protein 3,26 mg/mL

Lampiran 8

Tabel 12. Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim CGT-ase

Temperatur ($^{\circ}\text{C}$)	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Aktivitas Relatif (%)
45	193,39	1,55	125,14	28
50	523,15	1,55	338,51	77
55	627,95	1,55	406,32	92
60	682,67	1,55	441,73	100
65	250,61	1,55	162,16	37

Tabel 13. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim CGT-ase

Ph	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Aktivitas Relatif (%)
4,5	144,13	1,55	93,26	26
5	206,67	1,55	133,73	38
5,5	544,41	1,55	352,27	100
6	337,31	1,55	218,26	62
6,5	302,89	1,55	195,99	56
7	158,06	1,55	102,27	29
7,5	381,37	1,55	246,77	70

Lampiran 9

Tabel 14. Data untuk penentuan konstanta kinetik enzim CGT-ase dari isolat LTi-21-3 berdasarkan persamaan *Lineweaver-Burk*

Soluble Starch (mg/mL)	Aktivitas Unit (U/mL)	1/S (mL/mg)	1/V (ml/U)
2.5	111,29	0,40	0,008985
5	154,83	0,20	0,006459
7.5	202,10	0,13	0,004948
10	265,57	0,10	0,003766
12.5	297,77	0,08	0,003358
15	327,66	0,07	0,003052
17.5	341,65	0,06	0,002927
20	356,24	0,05	0,002807

Tabel 15. Spesifitas substrat enzim CGT-ase dari isolat LTi-21-3

Jenis Pati	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Aktivitas Relatif (%)
Pati Jagung	263,45	1,55	170,47	48
Pati Singkong	205,75	1,55	133,14	38
Pati Ubi Jalar	108,89	1,55	70,46	20
Soluble Starch	544,41	1,55	352,27	100