

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

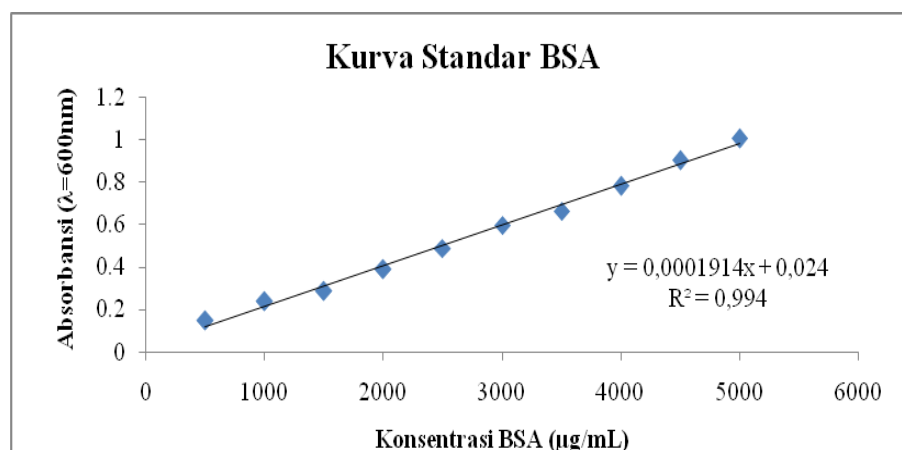
linier $Y = a + bx$, dengan :

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

Absorbansi BSA pada berbagai konsentrasi untuk menentukan kurva standar protein yaitu:

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 $y = 0,0001914x + 0,024$.



Lampiran 2

Perhitungan Aktivitas Unit Enzim CGT-ase

Perhitungan aktivitas unit enzim CGT-ase berdasarkan metode Kaneko *et al.* (1987) dan dimodifikasi oleh Alves-Prado *et al.* (2008) dapat dilihat pada perhitungan dibawah ini :

$$A = \frac{Abs.kontrol - Abs.sampel}{Abs.kontrol} \times 10$$

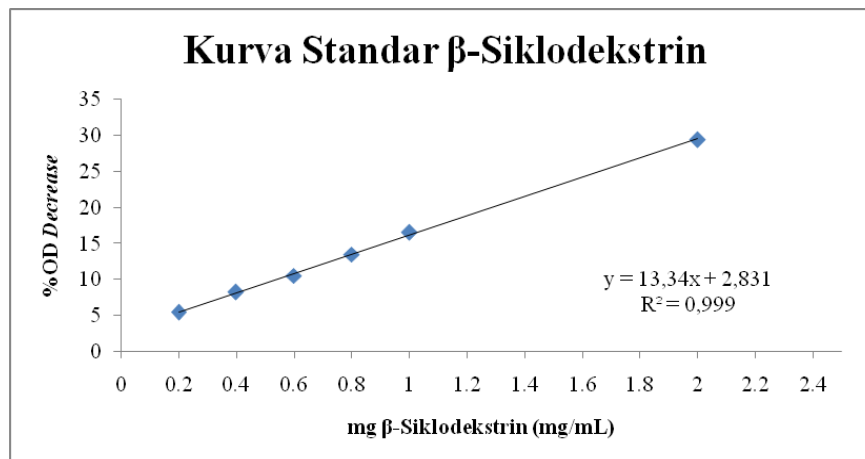
Lampiran 3

Kurva Standar β -Siklodekstrin

% OD *Decrease* β -Siklodekstrin pada berbagai konsentrasi untuk menentukan kurva standar β -Siklodekstrin

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

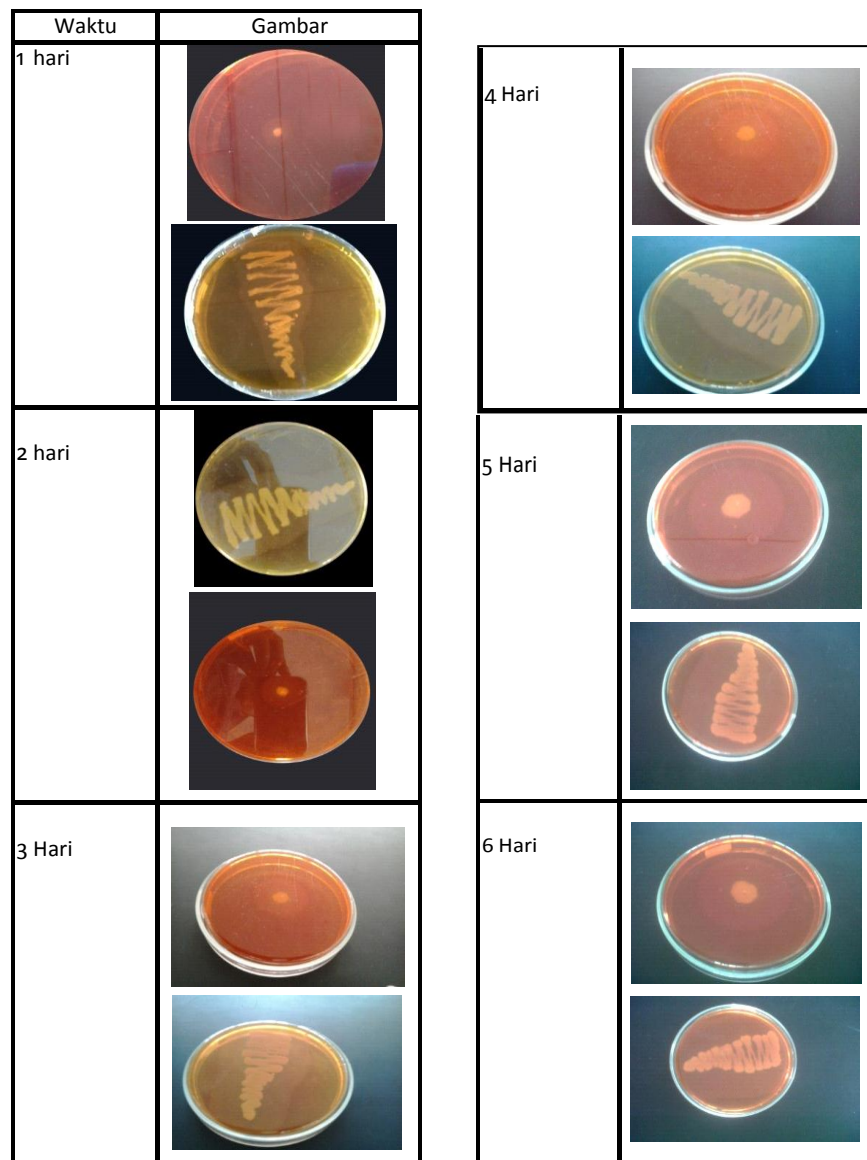
Data yang diperoleh didapatkan nilai $a = 2,831$ dan $b = 13,34$ sehingga persamaan garis menjadi $y = 13,34x + 2,831$.

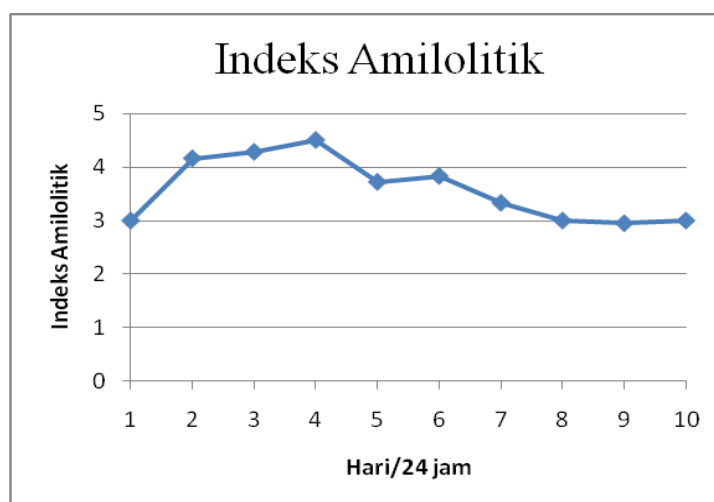
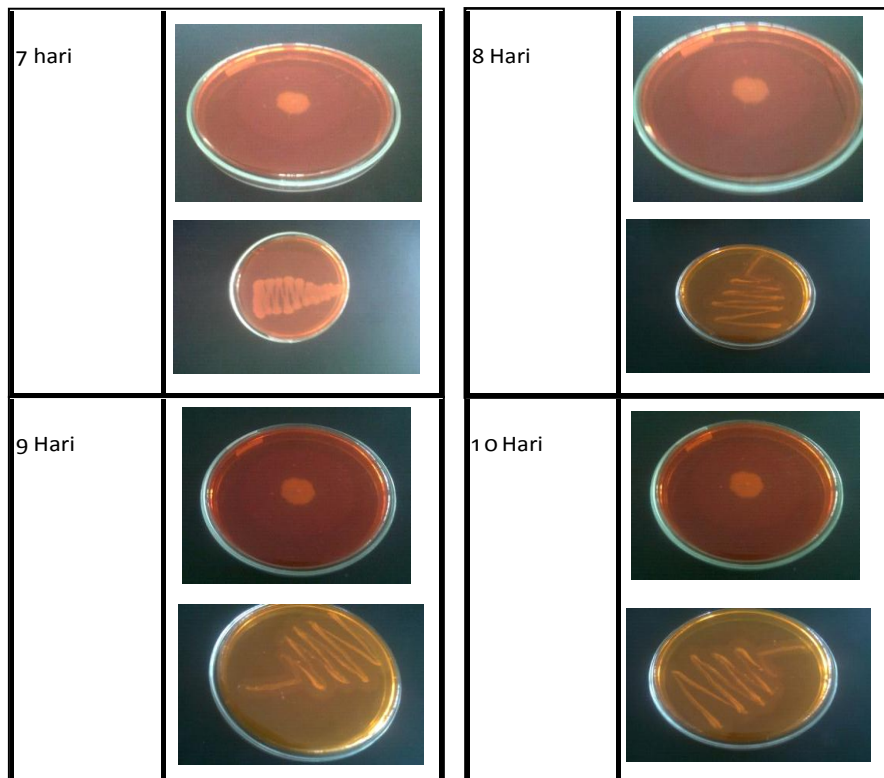


Lampiran 4

Tabel 2. Indeks Amilolitik isolat LTi-A.24

Waktu	Panjang bakteri	Panjang <i>Halozone</i>	Indeks Amilolitik (IA)
1 hari	0,5 cm	1,5 cm	3,00
2 hari	0,6 cm	2,5cm	4,16
3 hari	0,7 cm	3,0 cm	4,28
4 hari	0,8 cm	3,6 cm	4,50
5 Hari	1,1 cm	4,1 cm	3,72
6 hari	1,2 cm	4,6 cm	3,83
7 hari	1,5 cm	5,0 cm	3,33
8 hari	1,8 cm	5,4 cm	3,00
9 Hari	1,9 cm	5,6 cm	2,95
10 Hari	2,0 cm	6,0 cm	3,00





Lampiran 5

Tabel 3. Pertumbuhan sel, aktivitas unit, kadar protein dan aktivitas spesifik isolat LTi-A.24 pada variasi komposisi medium sumber nitrogen.

Kontro= 0.019

Waktu	Perlakuan	Pertumbuhan Sel OD ₆₀₀	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
24 jam	ye-urea	5,840	39,38	0,550	71,04
	ye-ye	3,040	10,76	0,747	14,40
	ye-pep	4,080	214,74	1,421	151,10
	pep-pep	2,300	5,45	1,740	3,13
48 jam	ye-urea	5,330	28,17	0,640	43,97
	ye-ye	4,710	524,32	2,017	259,99
	ye-pep	3,300	518,50	1,447	358,27
	pep-pep	4,810	381,44	3,297	115,70
72 jam	ye-urea	5,400	61,47	1,930	31,78
	ye-ye	3,510	49,30	3,218	15,32
	ye-pep	4,010	88,03	2,079	42,34
	pep-pep	4,040	36,52	5,507	6,63

Keterangan: Ye: *Yeast Extract*, Pep: Pepton

Lampiran 6

Tabel 4. Pertumbuhan sel, aktivitas unit, kadar protein dan aktivitas spesifik isolat LTi-A.24 pada variasi waktu produksi enzim menggunakan medium Horikoshi's II dengan sumber nitrogen *Yeast extract*-Pepton.

Kontrol = 0,019

Waktu/Jam	Pertumbuhan Sel OD ₆₀₀	Aktivitas Unit (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
0	0,946	6,01	1,11	0,04
12	1,785	71,01	1,70	41,86
24	4,338	135,04	2,04	66,34
36	7,532	279,61	2,34	119,32
48	5,279	201,95	1,87	107,82

Lampiran 7

Tabel 5. Pertumbuhan sel, aktivitas unit, kadar protein dan aktivitas spesifik dari isolat LTi-A.24 pada waktu inkubasi optimum 36 jam dengan jangka waktu penyimpanan enzim di suhu 4° selama 5 hari.

Hari ke-	Pertumbuhan Sel OD ₆₀₀	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Unit (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
1	7,386	1,70	370,40	217,67
	7,426	1,70	370,97	218,54
	7,502	1,70	370,24	217,97
rata-rata	7,438	1,70	370,54	218,06
2		1,97	358,61	181,82
		1,97	358,55	181,84
		1,97	360,24	182,74
rata-rata		1,97	359,13	182,14
3		2,50	324,28	129,88
		2,50	324,31	129,94
		2,49	323,76	129,77
rata-rata		2,50	324,12	129,86
4		3,47	261,21	75,28
		3,47	267,35	77,05
		3,14	267,32	85,06
rata-rata		3,36	265,27	78,94
5		3,51	21,89	6,24
		3,51	24,04	6,85
		3,51	17,68	5,04
rata-rata		3,51	21,20	6,04

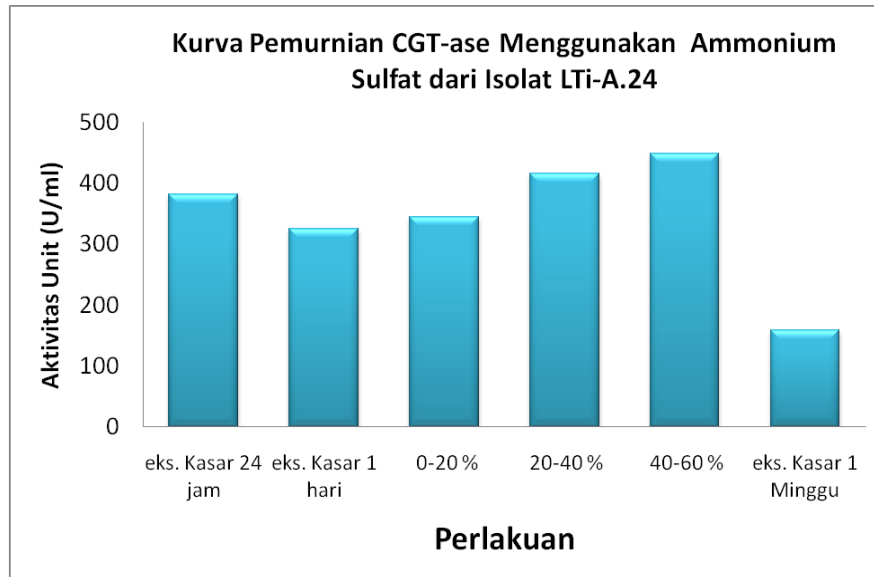
Kontrol Lowry: 0,2298; 0,2356; 0,2444; 0,1960; 0,1970

Uji Aktivitas : 550nm ; Lowry dan OD: 600nm

Blanko Uji Aktivitas: 1,0982; 1,1945; 0,9932; 0,8051; 2,1137

Lampiran 8

Kurva pemurnian CGT-ase dari penelitian sebelumnya menggunakan metode fraksinasi garam ammonium sulfat dari isolat L*Ti*-A.24.



Lampiran 9

Tabel 6. Pertumbuhan sel, aktivitas unit, kadar protein dan aktivitas spesifik dari isolat L*Ti*-A.24 pada waktu inkubasi optimum 36 jam setelah dan sebelum ultrafiltrasi

Absorbansi Sampel Lowry	Absorbansi Kontrol UA	Absorbansi Sampel UA	Absorbansi Sel OD ₆₀₀	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Unit (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
0,4046	0,5086	0.4482	6,005	1,42	179,34	126,38
0,4394	0,5283	0.3358		1,60	550,26	343,73

Volume enzim (ml)	Total Aktivitas Unit (U/mL)	Total Kadar Protein (mg/mL)	Total Aktivitas Spesifik (U/mg)	Kemurnian	Recovery
40	7174	57	126	1	100%
6	3302	9,6	344	3	46%

Lampiran 10

Tabel 7. Aktivitas unit (U/mL) dari isolat LTi-A.24 pada variasi komposisi pH substrat saat uji aktivitas enzim setelah ultrafiltrasi dengan waktu inkubasi optimum 36 jam.

Variasi pH Sebelum Ultrafiltrasi (Ekstrak Kasar)

pH (Keterangan)	Absorbansi Kontrol UA	Absorbansi Sampel UA	Aktivitas Unit (U/mL)
4,5	0,5245	0,4902	98,76
5	0,5086	0,4682	119,96
5,5	0,4841	0,4261	180,93
6	0,5137	0,4500	187,26
6,5	0,5211	0,4632	167,79
7	0,4989	0,4551	132,58
7,5	0,4977	0,4845	40,05

Variasi pH Setelah Ultrafiltrasi (Fraksi Ultrafiltrasi)

pH (Keterangan)	Absorbansi Kontrol UA	Absorbansi Sampel UA	Aktivitas Unit (U/mL)
4,5	0,4982	0,4517	140,95
5	0,5151	0,4263	260,34
5,5	0,5283	0,3358	550,26
6	0,4981	0,4498	146,44
6,5	0,4799	0,4415	120,84
7	0,4978	0,3497	449,28
7,5	0,5096	0,4888	61,64

Lampiran 11

Tabel 8. Aktivitas unit dari isolat LTi-A.24 pada variasi temperatur dengan waktu kultur optimum 36 jam serta pH substrat 5,5 dan pH 7.

Keterangan	Suhu	Absorbansi Kontrol UA	Absorbansi Sampel UA	Aktivitas Unit (U/mL)
pH 7	45	0,4593	0,3510	356,08
	50	0,5306	0,3930	391,62
	55	0,5601	0,3887	462,13
	60	0,4952	0,3882	326,30
	65	0,4583	0,4124	151,24
pH 5,5	45	0,5979	0,4551	360,67
	50	0,4991	0,3382	486,84
	55	0,5120	0,3232	556,86
	60	0,6169	0,3783	584,08
	65	0,6048	0,3245	699,88

Lampiran 12**Tabel 9.** Aktivitas Unit CGT-ase (U/mL) dari isolat LTi-A.24 pada penentuan konstanta kinetik CGT-ase uji aktivitas enzim setelah ultrafiltrasi dengan pH 5,5 dan suhu 65°C.

Konsentrasi Substrat	Absorbansi Kontrol UA	Absorbansi Sampel UA	Aktivitas Unit (U/mL)
0,25	0,5149	0,5001	43,41
0,5	0,5389	0,5229	44,84
0,75	0,5464	0,5169	81,53
1,25	0,5788	0,5044	194,12
1,50	0,548	0,5127	97,28

Lampiran 13

Tabel *Lineweaver-Burk* untuk penentuan konstanta Kinetik enzim CGT-ase.

Enzim 1/[S]	Pemurnian 1/V	a	b	vmaks	km	1/km	r ²
0,40	0,023	0,0381	0,0075	131,69	5,0304	-0,20	0,989
0,20	0,015						
0,13	0,012						
0,08	0,011						
0,07	0,010						
-0,2							

Lampiran 14

Tabel 10. Aktivitas unit (U/mL) dari isolat LTi-A.24 pada penentuan substrat spesifitas CGT-ase saat uji aktivitas enzim setelah ultrafiltrasi dengan pH 5,5 dan suhu 65°C.

Substrat	Absorbansi Kontrol UA	Absorbansi Sampel UA	Aktivitas Unit (U/mL)
Pati Singkong	0,5953	0,3742	560,88
Pati Jagung	1,1481	0,6286	683,31
Pati Ubi Jalar	0,5449	0,4364	300,70
<i>Soluble Starch</i>	0,5086	0,4482	179,34