

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini meliputi bahan penelitian dan alat penelitian. Bahan penelitian dan alat penelitian akan dijelaskan lebih lanjut dibawah ini.

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 setelah dimutasi dengan sinar ultraviolet (UV) adalah tabung reaksi (*pyrex*), *erlenmeyer* 250 mL (*duran*), *erlenmeyer* 500 mL (*duran*), *beaker glass* 500 mL (*pyrex*), *beaker glass* 100 mL (*pyrex*), gelas ukur 100 mL (*pyrex*), gelas ukur 500 mL (*pyrex*), bola hisap, gunting, autoklaf, *Laminar Air Flow* (*BIOBASE*), jarum ose, sendok bahan, spatula, timbangan digital, tali, alat tulis, inkubator (*Redline*), pH meter, *magnetic stirrer*, kompor gas, botol vial 10 mL, cawan petri, *washing bottle*, jerigen, *sprayer*, nampan, *cool box*, kain hitam, rak tabung reaksi, pipet volume 10 mL, mikro pipet 1 mL (*Nichipet*), mikro pipet 0.1 mL dan lampu Ultraviolet (UV).

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 setelah dimutasi dengan sinar ultraviolet (UV) adalah *Yeast Extract* 0.5%, *Agar No.1 Bacteriological* 1.5%, *Bacteriological Peptone* 1%, *Sodium Chloride* 1%, *Bromotymol Blue* 0.007 gram/L, *D-glucose* 2 gram/L, L-Asparagin 5 gram/L, Na_2HPO_4 6 gram/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02 gram/L, CaCl_2 0.02 gram/L, NaCl 0.5 gram/L, *aquadest*, spirtus, alkohol 70%, NaOH 1 M, HCl 0.1 M, kapas, *aluminium foil*, *plastic wrap*, benang kasur, bakteri endofit mangrove *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu deskriptif eksploratif. Metode deskriptif menurut Ndraha (1981), merupakan metode yang menemukan pengetahuan objek penelitian seluas-luasnya dalam suatu masa atau saat tertentu. Dalam bukunya Sugiyono (2013), juga menyebutkan bahwa metode deskriptif merupakan metode yang digunakan untuk menggambarkan atau menganalisis suatu hasil penelitian. Arikunto (1992), juga menambahkan bahwa penelitian deskriptif dapat bersifat eksploratif yang memiliki tujuan untuk menggambarkan keadaan atau ingin mengetahui hal-hal yang berhubungan dengan keadaan dalam penelitian.

Penelitian eksploratif bersifat menjelajah, artinya penelitian yang dilakukan apabila pengetahuan tentang gejala yang diteliti masih sangat kurang atau tidak ada sama sekali. Penelitian eksploratif seringkali berupa studi kasus dari suatu kelompok atau golongan tertentu yang masih kurang diketahui orang (Surakhmad, 1994). Bandur (2014), juga menambahkan bahwa penelitian eksploratif merupakan salah satu metode penelitian yang dapat dilakukan untuk mengetahui alasan-alasan atau ingin mengetahui apa yang terjadi pada suatu objek penelitian yang dilakukan.

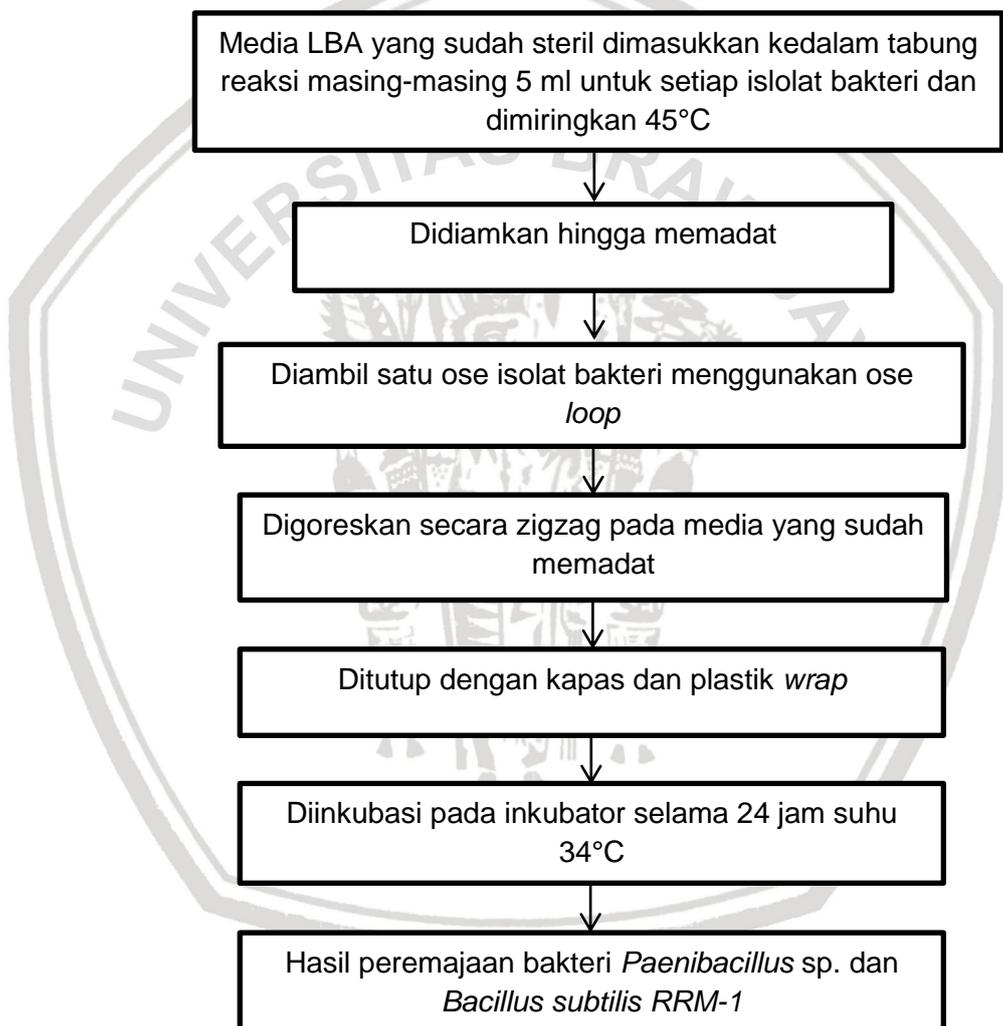
3.3. Prosedur Penelitian

Penelitian yang dilakukan terdiri dari tiga tahap yaitu tahap pertama berisi tentang peremajaan bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1. Tahap kedua berisi tentang mutasi bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 dengan menggunakan mutagen fisik yaitu sinar ultraviolet (UV). Tahap ketiga dilanjutkan dengan skrinning enzim L-Asparaginase.

3.4. Tahap I (Peremajaan Bakteri (Afnizar, et al. 2016))

Peremajaan bakteri bertujuan untuk membuat isolat tetap hidup dengan cara dipindahkan ke media lain (Murtiyaningsih, 2017). Pada penelitian ini menggunakan isolat bakteri endofit mangrove *Sonneratia alba* yaitu bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis RRM-1* yang diisolasi dari mangrove *Rizophora mucronata* yang merupakan koleksi dari Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis RRM-1* yang sudah didapat akan diremajakan pada media LBA (*Luria Bertani Agar*). Komposisi media LBA adalah *Yeast Extract* 0,5% gram/L; *Agar No.1 Bacteriological* 1,5% gram/L; *Bacteriological Peptone* 1% gram/L dan *Sodium Chloride* 1% gram/L. Kedua sampel bakteri akan diremajakan pada agar miring, dimana setiap sampel bakteri diasumsikan pada 1 tabung reaksi yang berisi 5 mL media LBA, maka dibutuhkan sebanyak 10 mL media LBA. Banyaknya media yang diperlukan dalam 10 mL adalah *yeast extract* 0,05 gram; agar bakteriologi 0,15 gram; pepton bakteriologi 0,1 gram dan NaCl 0,1 gram. Media LBA yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dengan 10 mL *aquadest*, kemudian dihomogenkan. Media LBA yang sudah homogen lalu ditutup kapas dan *aluminium foil*, tujuannya agar media tidak terkontaminasi kotoran atau bakteri pada saat perebusan. Media yang sudah ditutup kapas dan *aluminium foil* selanjutnya direbus dalam air mendidih selama 15 menit untuk mengaktifkan agar. Media yang sudah direbus kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, suhu 121°C tekanan 1 atm supaya steril. Media LBA yang sudah disterilisasi setelah itu ditunggu hangat dan media steril siap digunakan.

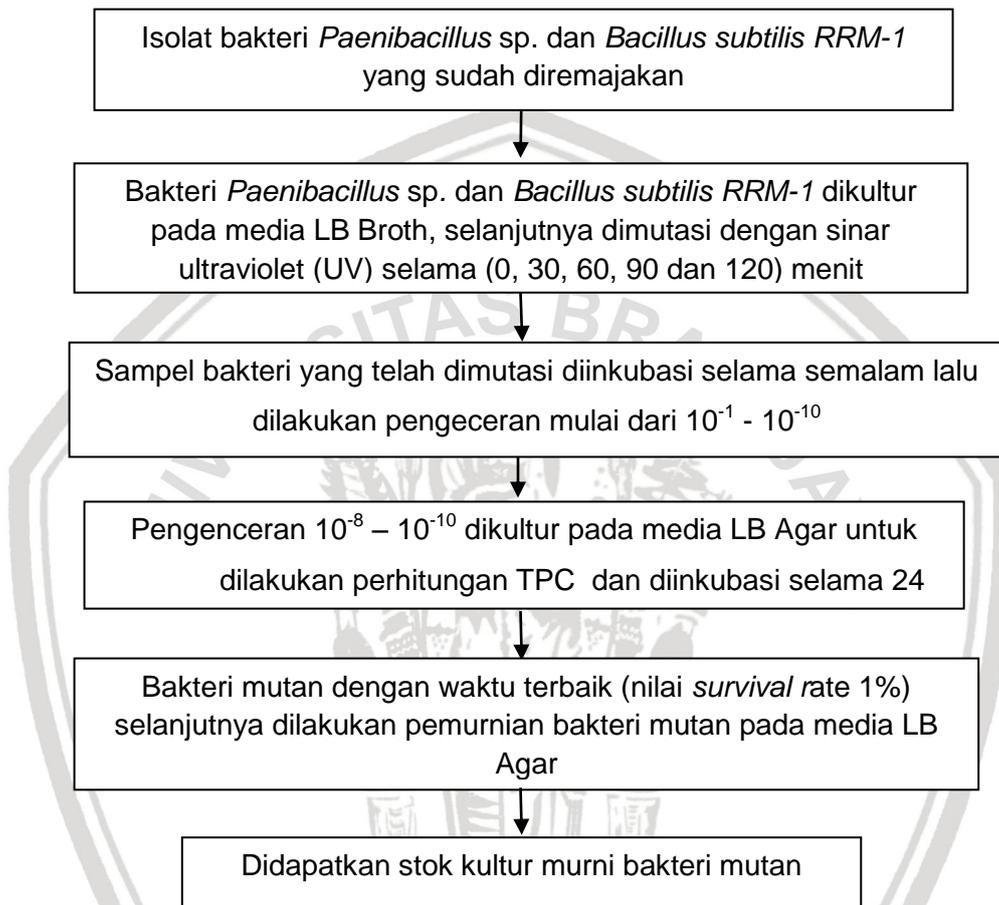
Media LBA steril kemudian dituang pada tabung reaksi masing-masing berisi 5 mL dan dimiringkan hingga memadat. Setiap sampel bakteri diambil 1 ose dari stok, kemudian diinokulasikan kedalam media LB Agar miring secara *zig-zag*. Setiap satu sampel bakteri diinokulasi kedalam media LB Agar miring pada tabung reaksi yang berbeda. Bakteri yang sudah diinokulasi pada media LBA kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 34°C selama 24 jam. Skema kerja tahap I dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3.Skema kerja tahap I

3.5. Tahap II (Mutasi Bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis RRM-1* Menggunakan Sinar Ultraviolet)

Penelitian tahap II dilakukan mutasi dengan sinar ultraviolet (UV) pada bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis RRM-1* untuk mendapatkan bakteri mutan dengan *survival rate* 1% yang selanjutnya akan dilakukan *screening* enzim L-Asparaginase. Skema kerja tahap II dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema kerja tahap II

3.5.1 Kultur Bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis RRM-1* (Verma, et al. 2016)

Pada tahap II sebelum dilakukan mutasi, bakteri dikultur pada media LB *Broth*. Kultur bakteri bertujuan untuk menumbuhkan dan menyegarkan bakteri pada media baru. Komposisi media LB *Broth* adalah *Yeast Extract* 0,5% gram/L; *Bacteriological Peptone* 1% gram/L dan *Sodium Chloride* 1% gram/L. Bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis RRM-1* masing-masing akan dikultur pada

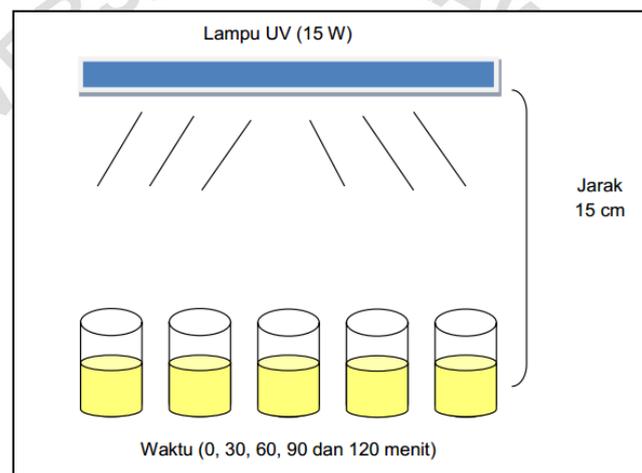
erlenmeyer 100 mL, dimana setiap sampel bakteri untuk 5 perlakuan (0, 30, 60, 90 dan 120 menit) dimasukkan pada 1 botol vial 10 mL, untuk masing-masing botol vial berisi 4 mL media LB *Broth*, maka dibutuhkan sebanyak 25 mL media LB *Broth*. Banyaknya komposisi media LB *Broth* yang diperlukan adalah yeast extract 0,125 gram; peptone bakteriologi 0,25 gram dan NaCl 0,25 gram untuk masing-masing sampel bakteri. Media LB *Broth* yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dengan 25 mL *aquadest*, kemudian dihomogenkan. Media LB *Broth* yang sudah homogen lalu ditutup kapas dan *aluminium foil*, tujuannya agar media tidak terkontaminasi kotoran atau bakteri pada saat perebusan. Media LB *Broth* yang sudah ditutup kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, suhu 121°C tekanan 1 atm, setelah itu ditunggu hangat dan media steril siap digunakan.

Bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 masing-masing diambil sebanyak satu ose menggunakan ose *loop*, kemudian dimasukkan kedalam media LB *Broth* steril yang sudah siap didalam erlenmeyer 100 mL yang berbeda dan dihomogenkan. Bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang sudah dikultur dalam media LB *Broth* kemudian ditutup dengan kapas dan *aluminium foil* untuk selanjutnya ditumbuhkan menggunakan *incubator shaker* dengan kecepatan *shaker* 150 rpm suhu 28°C selama 48 jam. Sampel bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang sudah dikultur dalam media LB *Broth* selama 48 jam siap digunakan untuk mutagenesis.

3.5.2 Mutasi Bakteri dengan Sinar Ultraviolet (UV) (Verma, *et al.* 2016)

Pada penelitian ini, mutasi bakteri dilakukan untuk mendapatkan bakteri mutan terbaik yang dapat menghasilkan aktivitas enzim L-Asparaginase lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri murni (tanpa perlakuan mutasi). Bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang sudah disegarkan dalam media LB *Broth* diambil sebanyak 4 mL menggunakan pipet volume 10 mL, lalu

dimasukkan ke dalam botol vial ukuran 10 mL sebanyak 5 botol untuk setiap perlakuan waktu penyinaran sinar ultraviolet (UV) yaitu (0, 30, 60, 90 dan 120 menit) untuk masing-masing sampel bakteri. Masing-masing botol vial yang sudah berisi 4 mL kultur bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis* dan diberi label. Masing-masing botol vial yang berisi 4 mL kultur bakteri *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang sudah diberi label kemudian dimutasi menggunakan sinar ultraviolet (UV) (15 W) pada jarak 15 cm sesuai dengan masing-masing perlakuan (0, 30, 60, 90 dan 120 menit). Masing-masing sampel yang sedang dimutasi dengan sinar ultraviolet (UV) pada Gambar 5.



Gambar 5. Mutasi sampel bakteri dengan sinar ultraviolet (UV)

Sampel bakteri yang sudah dimutasi ditutup dengan tutup botol vial dan *aluminium foil* diseluruh badan botol vial agar tidak terkena cahaya dan diinkubasi selama semalaman ditempat gelap. Tujuan inkubasi ditempat gelap adalah untuk menghindari photoreaktivasi. Photoreaktivasi merupakan proses perbaikan kerusakan DNA oleh enzim yang dapat diaktifkan oleh cahaya (Elord, 2007). Hasil inkubasi sampel selama semalaman kemudian dipipet sebanyak 1 ml dari masing-masing sampel untuk setiap perlakuan menggunakan mikropipet dan dilakukan pengenceran mulai dari 10^{-1} – 10^{-10} , supaya bakteri yang ditanam

tidak terlalu padat. Pengenceran 10^{-8} – 10^{-10} yang akan digunakan untuk kultur bakteri pada media LB Agar dengan menggunakan metode *spread*.

3.5.3 Pembuatan Media LBA dan Penanaman (Masri, 2014)

Pembuatan media penanaman bakteri dengan metode *Total Plate Count* (TPC) yang digunakan untuk kultur bakteri yang sudah dimutasi adalah LBA (*Luria Bertani Agar*). Pengenceran 10^{-8} – 10^{-10} yang nantinya akan digunakan untuk kultur bakteri, dalam 1 perlakuan membutuhkan 6 cawan (karena masing-masing pengenceran duplo), sedangkan penelitian ini menggunakan 5 perlakuan waktu paparan. Jadi, cawan yang dibutuhkan sebanyak 30 cawan untuk setiap sampel bakteri, dimana diasumsikan 1 cawan petri berisi 15 mL media LBA maka membutuhkan sebanyak 450 mL media LBA. Jadi komposisi media LBA dalam 450 mL adalah *Yeast Extract* 2,25 gram; *Agar No.1 Bacteriological* 6,75 gram; *Bacteriological Peptone* 4,5 gram dan *Sodium Chloride* 4,5 gram. Media LBA yang sudah ditimbang kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer 500 mL dan dilarutkan dengan 450 mL *aquadest*, lalu dihomogenkan. Media LBA yang sudah homogen lalu ditutup kapas dan *aluminium foil* tujuannya agar media tidak terkontaminasi kotoran atau bakteri pada saat perebusan. Media yang sudah ditutup kapas dan *aluminium foil* selanjutnya direbus dalam air mendidih selama 15 menit untuk mengaktifkan agar. Media yang sudah direbus kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, suhu 121°C tekanan 1 atm, setelah itu ditunggu hangat dan media steril siap digunakan.

Media LBA steril kemudian dituang ke 30 cawan petri dengan asumsi tiap cawan petri berisi 15 mL media LBA, lalu ditunggu media LBA hingga memadat. Penuangan media dan penanaman dilakukan di *laminar air flow* agar kondisi tetap aseptis. Sampel pada pengenceran 10^{-8} – 10^{-10} masing-masing dipipet sebanyak 100 μL menggunakan mikropipet ukuran 100 μL , kemudian dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi media LBA padat, selanjutnya

diratakan menggunakan *triangle* sampai merata diseluruh permukaan media, setelah itu cawan petri ditutup dan dibungkus dengan plastik *wrap* dan diinkubasi didalam inkubator suhu 34°C selama 24 jam. Hasil inkubasi selama 24 jam kemudian dihitung koloni bakteri yang tumbuh dengan metode TPC (*Total Plate Count*), perlakuan waktu paparan sinar ultraviolet yang menghasilkan nilai *survival rate* 1% selanjutnya akan dilakukan skринning enzim L-Asparaginase.

3.5.4 Perhitungan *Survival Rate* Bakteri Mutan (Ifadah, et al. 2016)

Perhitungan *survival rate* bakteri mutan dilakukan untuk mengetahui nilai *survival rate* bakteri mutan dan mendapatkan nilai terbaik sebesar 1%. Hasil TPC (*Total Plate Count*) pada tiap perlakuan waktu paparan sinar ultraviolet dihitung rasio kematian bakteri untuk mendapatkan nilai *survival rate* bakteri mutan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Ratio kematian} = \frac{\sum \text{Rata} - \text{rata kontrol} - \sum \text{Rata} - \text{rata perlakuan}}{\sum \text{Rata} - \text{rata kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Survival rate (\%)} = 100\% - \text{Ratio kematian (\%)}$$

Bakteri mutan yang memiliki nilai *survival rate* 1% selanjutnya dilakukan pemurnian bakteri mutan dan *screening* enzim (tahap III) untuk mengetahui aktivitas enzim L-Asparaginase.

3.5.5 Kultur Murni Bakteri Mutan (Murtiyaningsih, et al. 2017)

3.5.5.1 Inokulasi Bakteri Pada Media LB Agar Miring

Inokulasi bakteri pada media LB Agar Miring dipenelitian ini dilakukan untuk memisahkan masing-masing bakteri mutan dan menjaga bakteri mutan tetap hidup pada media baru. Hasil dari mutasi bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang memiliki *survival rate* 1% akan diinokulasikan pada media LBA miring. Terdapat 8 bakteri mutan *Paenibacillus* sp. yang akan diinokulasikan pada media LBA miring, sedangkan terdapat 6 bakteri mutan *Bacillus subtilis* RRM-1. Dimana setiap koloni bakteri mutan diinokulasikan pada

1 tabung reaksi yang berisi 5 mL media LBA, maka dibutuhkan sebanyak 70 mL media LBA. Banyaknya media yang diperlukan dalam 70 mL adalah *yeast extract* 0,35 gram; agar bakteriologi 1,05 gram; pepton bakteriologi 0,7 gram dan NaCl 0,7 gram. Media LBA yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dengan 70 mL *aquadest*, kemudian dihomogenkan. Media LBA yang sudah homogen lalu ditutup kapas dan *aluminium foil* dan direbus dalam air mendidih selama 15 menit untuk mengaktifkan media agar. Media yang sudah direbus kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, suhu 121°C tekanan 1 atm, setelah itu ditunggu hangat dan media steril siap digunakan.

Media LBA steril kemudian dituang pada tabung reaksi masing-masing berisi 5 mL dan dimiringkan hingga memadat. Setiap sampel bakteri diambil 1 ose dari stok TPC, kemudian diinokulasikan kedalam media LBA miring secara *zig-zag*. Setiap satu sampel bakteri diinokulasi kedalam media LBA miring pada tabung reaksi yang berbeda. Bakteri yang sudah diinokulasi pada media LBA agar kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 34°C selama 24 jam.

3.5.5.2 Pemurnian Bakteri Mutan

Pada penelitian pemurnian bakteri mutan bertujuan untuk mendapatkan bakteri mutan murni dengan menggunakan metode *streak T*, sehingga diperoleh koloni tunggal (Murtiyaningsih, 2017). Isolat bakteri mutan yang sudah ditumbuhkan selama 24 jam di media LBA miring selanjutnya akan dimurnikan dengan menggunakan metode *streak T*. Disiapkan media LBA steril sebanyak 210 mL untuk 14 cawan petri, dimana setiap cawan diasumsikan berisi 15 mL media LBA. Banyaknya media yang diperlukan dalam 120 mL adalah *yeast extract* 1,05 gram; agar bakteriologi 3,15 gram; pepton bakteriologi 2,1 gram dan NaCl 2,1 gram. Media LBA yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam *Erlenmeyer* 250 mL dan dilarutkan dengan 210 mL *aquadest*, kemudian

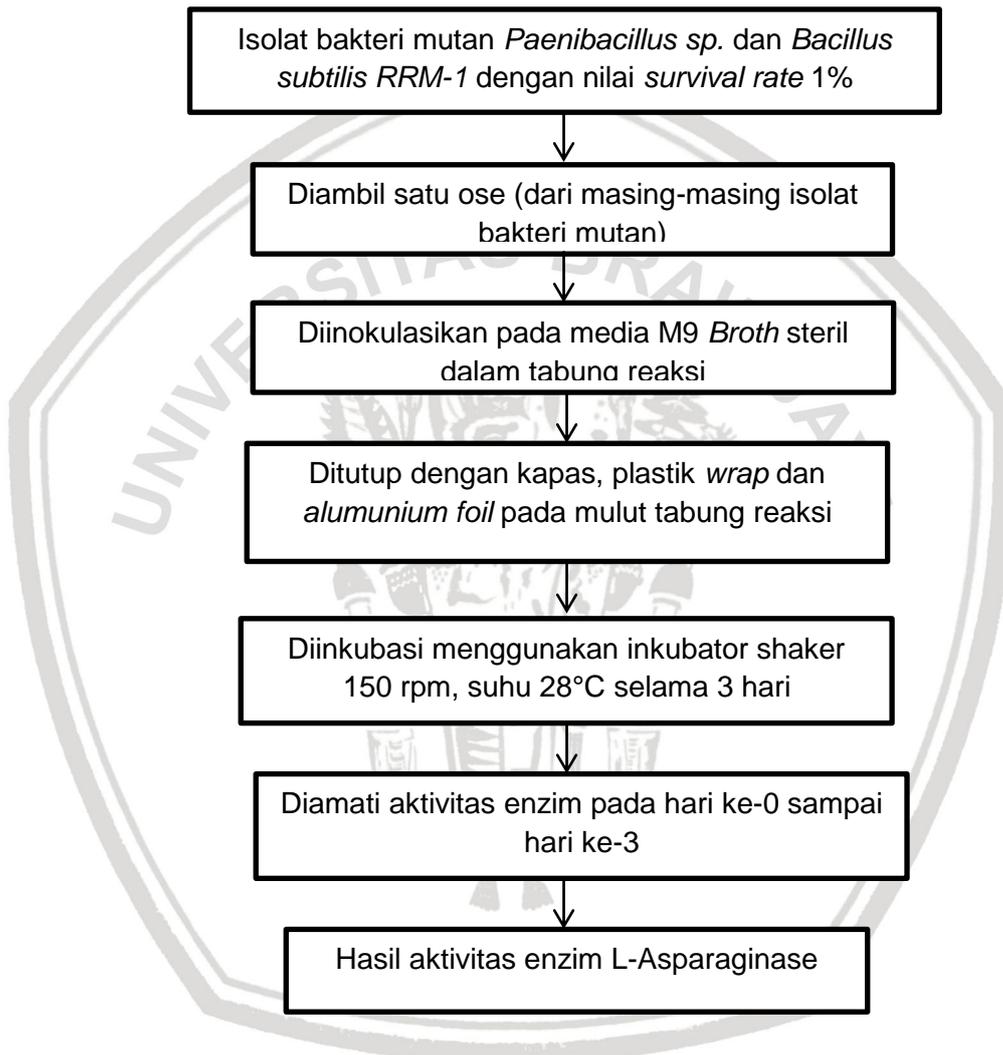
dihomogenkan. Media LBA yang sudah homogeny lalu ditutup kapas dan *aluminium foil* dan direbus dalam air mendidih selama 15 menit untuk mengaktifkan agar. Media yang sudah direbus kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, suhu 121°C tekanan 1 atm, setelah itu ditunggu hangat dan media steril siap digunakan.

Media LBA steril kemudian dituang pada cawan petri masing-masing berisi 15 mL dan ditunggu hingga memadat. Media LBA yang sudah memadat kemudian pada bagian bawah cawan dibagi menjadi tiga bagian yang ditandai dengan spidol. Isolat mutan dalam agar miring diambil 1 ose menggunakan ose *loop* steril yang telah dipijarkan, kemudian digoreskan ke media LBA dengan metode *streak* T, diulang sampai cawan ke 14 sesuai dengan jumlah isolat. Cawan petri yang sudah selesai distrik kemudian ditutup dengan plastik *wrap* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 34°C selama 24 jam.

Hasil dari *streak* yang telah diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya diinokulasikan ke media LBA miring steril yang telah tersedia sesuai dengan jumlah isolat bakteri mutan yang dimurnikan. Bakteri yang terpisah dari garis yang membentuk kuadran diambil dengan ose *loop* yang telah dipijarkan, kemudian digoreskan secara *zig-zag* didalam agar miring steril, kemudian ditutup dengan kapas dan plastik *wrap* dan diinkubasi selama 24 jam. Isolat bakteri yang sudah diinkubasi selama 24 jam tersebut merupakan stok kultur murni bakteri mutan.

3.6 Tahap III (Screening enzim L-Asparaginase (Patta et al. 2016))

Skринing enzim pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim L-Asparaginase oleh bakteri mutan *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 pada perlakuan terbaik 120 menit menggunakan metode semi kuantitatif pada media M9 Broth. Skema kerja tahap III dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Skema kerja tahap III

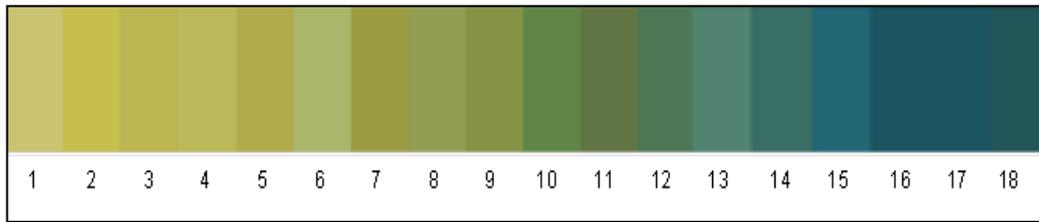
8 bakteri mutan *Paenibacillus* sp. dan 6 bakteri mutan *Bacillus subtilis* RRM-1 diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam media M9 Broth. Media dibuat dalam 1 tabung reaksi yang berisi 5 mL media. Komposisi media skринing adalah sebagai berikut *Bromothymol Blue* 0,00006 gram/100 mL; *D-glucose* 0,2

gram/100 mL; L-Asparagin 0,5 gram/100 mL; Na₂HPO₄ 0,6 gram/100 mL; KH₂HPO₄ 0,3 gram/100 mL; MgSO₄·7H₂O 0,002 gram/100 mL; NaCl 0,05 gram/100 mL dan CaCl 0,002 gram/100 mL. Media M9 *Broth* yang sudah ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan dilarutkan dengan 100 mL *aquadest*, kemudian dihomogenkan. Media M9 *Broth* yang sudah homogen lalu ditutup kapas dan *aluminium foil*. Media M9 *Broth* modifikasi selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, suhu 121°C tekanan 1 atm, setelah itu ditunggu hangat dan media steril siap digunakan.

Isolat bakteri mutan yang sudah siap, diambil satu ose menggunakan ose *loop* steril yang sudah dipijarkan, kemudian diinokulasikan ke dalam media M9 *Broth* modifikasi dan dihomogenkan, selanjutnya ditutup dengan kapas dan plastik *wrap*. Perlakuan ini dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* agar steril, setelah semua bakteri diinokulasikan pada masing-masing tabung reaksi yang berisi media M9 *Broth* selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam shaker inkubator untuk diinkubasi selama 3 hari, dimana setiap 24 jam dilakukan pengamatan.

3.6.1 Analisis Aktivitas Enzim L-Asparaginase (Mahajan, *et al.* 2013)

Analisis aktivitas enzim L-Asparaginase pada penelitian ini menggunakan metode penelitian Mahajan, *et al.* (2013) yang dimodifikasi dengan skala standar warna untuk mengetahui optimasi produksi enzim L-Asparaginase bakteri mutan *Paenibacillus sp.* dan *Bacillus subtilis RRM-1* secara semi kuantitatif. Analisis semi kuantitatif merupakan metode analisis yang menggunakan skala untuk tiap kategori kualitatif (James, 2000). Hasil *screening* enzim L-Asparaginase pada media M9 *broth* dibandingkan dengan skala standar warna untuk mengetahui skor dan deskripsi aktivitas enzim. Skala warna aktivitas enzim L-Asparaginase dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7.Skala warna aktivitas enzim L-Asparaginase

Keterangan:
 Skor 1-7 : Tidak ada aktivitas enzim L-Asparaginase
 Skor 8-11 : Aktivitas enzim L-Asparaginase lemah
 Skor 12-14 : Aktivitas Enzim L-Asparaginase sedang
 Skor 15-18 : Aktivitas Enzim L-Asparaginase kuat

