

DAFTAR PUSTAKA

- Aebersold, R., Mann, M. 2003. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, 422(6928), 198-207.
- Aghazadeh, H., Memariani, H., Ranjbar, R., Pooshang Bagheri, K. 2019. The activity and action mechanism of novel short selective LL-37-derived anticancer peptides against clinical isolates of *Escherichia coli*. *Chemical biology & drug design*, 93(1), 75-83.
- Aguilar-Toalá, J. E., Santiago-López, L., Peres, C. M., Peres, C., Garcia, H. S., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A. 2017. Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. *Journal of dairy science*, 100(1), 65-75.
- Ahmad, A., Usman, H., Natsir, H., dan Karim, A. 2014. Isolation and characterization of bioactive protein from green algae *Halimeda macrobola* acting as antioxidant and anticancer agent. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*, 2(5), 134-140
- Al-Saif, S. S. A., Abdel-Raouf, N, El-Wazanani, H. A. and Aref, I. A. 2014. Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1), 57–64.
- Amaranggana, L., Wathoni, N. 2017. Manfaat Alga Merah (Rhodophyta) sebagai Sumber Obat dari Bahan Alam. *Majalah Farmasetika*, 2(1): 16-19
- Anderson JE, Goetz CM, McLaughlin JL, Suffness M. 1991. A blind comparison of simple bench-top bioassay and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochem Anal*, 2(3), 107-111.
- Anonim. 2011. *Digestion – breaking the large into the small*, (online), (<https://www.sciencelearn.org.nz/resources/1830-digestion-breaking-the-large-into-the-small>, diakses 8 Juni 2020)
- _____. 2019 *Laporan Tahunan 2018*. Balai Perikanan Budidaya Air Payau Takalar, Takalar.



- bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(6), 1352-1358.
- Arafah, R. A., Patong, A. R., Ahmad, A., dan Djide, M. N. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri termofil penghasil amilase dari sumber air panas lejja sulawesi selatan. *Jurnal Al-Kimia*, 2 (2), 36-46.
- Arifudin, Patong R dan Ahmad A. 2001. Penelusuran protein bioaktif dalam makroalga sebagai bahan antibakteri dan antijamur. *Mar. Chim Acta*. 2(2), 11-18.
- Atmadja, W.S. 1996. *Pengenalan Jenis Algae Coklat (Phyophyta) Dalam Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta.
- Aslam, M. S., Naveed, S., Ahmed, A., Abbas, Z., Gull, I., Athar, M. A. 2014. Side effects of chemotherapy in cancer patients and evaluation of patients opinion about starvation based differential chemotherapy. *Journal of Cancer Therapy*, 5, 817-822.
- Bartz, R., Fan, H., Zhang, J., Innocent, N., Cherrin, C., Beck, Meng, F. 2011. Effective siRNA delivery and target mRNA degradation using an amphipathic peptide to facilitate pH-dependent endosomal escape. *Biochemical Journal*, 435(2), 475-487.
- Bellaa J, Hindlea KL, McEwanb PA, Lovell SC. 2008. The leucinerich repeat structure. *Cell Mol Life Sci*, 65, 2307–2333
- Bintang, M. 2010. *BIOKIMIA-Teknik Penelitian*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Breda A, Valadares NF, Norberto de Souza O, Garratt R.C. Protein Structure, Modelling and Applications. 2006 May 1 [Updated 2007 Sep 14]. In: Gruber A, Durham AM, Huynh C, et al., editors. Bioinformatics in Tropical Disease Research: A Practical and Case-Study Approach [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2008. Chapter A06.
- Brogden KA. 2005. Antimicrobial peptides: pore former or metabolic inhibitor in bacteria?. *Nature Review Microbiology*, 3(3), 238-250.
- KL, Hancock REW. 2006. Cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Current Opinion Immunology*, 18(1), 24–30.



- Camilo, K. A., Rekdal, Ø., & Sveinbjörnsson, B. 2014. LTX-315 (Oncopore™) a short synthetic anticancer peptide and novel immunotherapeutic agent. *Oncoimmunology*, 3(6), e29181.
- Cantisani M, Leone M, Mignogna M, Kampanaraki K, Falanga A, Morelli G, Galdiero M, Galdiero S. 2013. Structure relationship of myxinidin an antibacterial peptide derived from the epidermal mucus of hagfish. *Antimicrobial Agent Chemotherapy*. 57(11), 5665-5673.
- Cappuccino, JG. 2013. *Manual laboratorium mikrobiologi*, ed. Ke-8. Terjemahan: Nur Miftahurrahmah. EGC, Jakarta, 577 hal.
- Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P, Gravalos MD. 2002. A comparison between two brine shrimp assay to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural product (methodology article). *BMC Biotechnology*, 2(1), 1-5.
- Chakraborty, K., Thilakan, B., Raola, V. K., and Joy, M. 2017. Antibacterial polyketides from *Bacillus amyloliquefaciens* associated with edible red seaweed *Laurenciae papillosa*. *Food chemistry*, 218, 427-434.
- Cheung, R. C. F., Ng, T. B., and Wong, J. H. 2015. Marine peptides: Bioactivities and applications. *Marine drugs*, 13 (7), 4006-4043.
- Cholid, F., Jagatraya, A. G., Poernomo, R. P., & Jauzi, A. 2005. *Akuakultur tumpuan harapan masa depan bangsa*. PT. Victoria Kreasi Mandiri. Jakarta,
- Chu, HL., Yip, BS., Chen, KH., Yu, HY., Chih, YH., Cheng, HT., Chou, YT., Cheng, JW. 2015. Novel antimicrobial peptides with high anticancer activity and selectivity. *PLoS One*, 10(5).
- Conlon, JM., Demandt, A., Nielsen, PF., Leprince, J., Vaudry, H., Woodhams, DC. 2009. The alyteserins: two families of antimicrobial peptides from the skin secretions of the midwife toad *Alytes obstetricans* (Alytidae). *Peptides*, 30(6), 1069-1073.
- Crosta, P., 24 November 2015. *Cancer: Symptoms and Diagnosis*, Medical News Today (online), (<http://www.medicalnewstoday.com/info/cancer-oncology/cancer-symptoms-diagnosis.php>, diakses 3 Mei 2017)
- A., Fardiaz, D., Andarwulan, N. 2011. Karakteristik Komposisi Kimia Rumput Laut Merah (*Rhodophycea*) *Eucheuma Spinosum*



Yang Dibudidayakan Dari Perairan Nusa Penida, Takalar, Dan Sumenep. *Berkala Perikanan Terubuk*, 39(2), 61-66.

Djakatara, PD., Gerung, GS., Ginting, EL., Sondak, CF., Rumampuk, ND., Mantiri, DM. 2018. Amplifikasi DNA alga merah (*Rhodophyta*) *Eucheuma sp.* *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 2(1), 26-30.

Doi, H., Chinen, A., Fukuda, H. and Usuda. Y. 2016, *Vibrio algivorus* sp. nov., an alginic acid and agarose-assimilating bacterium isolated from the gut flora of a turban shell marine snail. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66(8), 3164–3169

Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., & Thomas, T. 2013. The seaweed holobiont: understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, 37 (3), 462-476.

Erianti, F., Marisa, D., & Suhartono, E. 2015. Potensi Antiinflamasi Jus Buah Belimbing (*Averrhoa Carambola L.*) Terhadap Denaturasi Protein *in vitro*. *Berkala Kedokteran*, 11(1), 33-39.

E-kobon, T.; Thongaram, P.; Roytrakul, S.; Meesuk, L. and Chumnanpuen, P. 2016. Prediction of anticancer peptides against MCF-7 breast cancer cells from the peptidomes of *Achatina fulica mucus* fractions. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 14, 49–57.

Fan, X., Bai, L., Zhu, L., Yang, L., and Zhang, X. 2014. Marine algal-derived bioactive peptides for human nutrition and health. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62 (38), 9211-9222.

Felício, MR., Silva, ON., Gonçalves, S., Santos, NC., Franco, OL. 2017. Peptides with dual antimicrobial and anticancer activities. *Frontiers in chemistry*, 5, 5.

Fernández-Vidal, M., Jayasinghe, S., Ladokhin, A. S., & White, S. H. 2007. Folding amphipathic helices into membranes: amphiphilicity trumps hydrophobicity. *Journal of Molecular Biology*, 370(3), 459-470.

Friedrich, C. L., Rozek, A., Patrzykat, A., & Hancock, R. E. 2001. Structure and mechanism of action of an indolicidin peptide derivative with improved activity against gram-positive bacteria. *Journal of Biological Chemistry*, 276(26), 24015-24022.



- Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, Wilkins MR, Appel RD, Bairoch A. 2005. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. In: John M. Walker ed. *The proteomics protocols handbook*. Humana press, New Jersey, 571-607.
- Ghandehari, F., Behbahani, M., Pourazar, A., & Noormohammadi, Z. 2015. *In silico* and *in vitro* studies of cytotoxic activity of different peptides derived from vesicular stomatitis virus G protein. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(1), 47.
- Giuliania, A., Pirria G., Bozzib, A., Di Giulio, A., Aschic, M., Rinaldid, A.C. 2008. Antimicrobial peptides: natural templates for synthetic membrane-active compounds. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65, 2450 – 2460.
- Goyal, RK., & Mattoo, AK. 2016. *Plant antimicrobial peptides*. In Epanet RM. ed. Host defense peptides and their potential as therapeutic agents (pp. 111-136). Springer, Cham.
- Goecke, F., Labes, A., Wiese, J., and Imhoff, J. F. 2010. Chemical interactions between marine macroalgae and bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, 409, 267-299.
- Guo, Q., Cui, S. W., Wang, Q., & Young, J. C. 2008. Fractionation and physicochemical characterization of *Psyllium* gum. *Carbohydrate Polymers*, 73(1), 35-43.
- Hajisharifi, Z., Mohabatkar, H. 2013. *In silico* prediction of anticancer peptides by TRAINER tool. *Molecular Biology Research Communications*. 2(1-2), 39-45.
- Haslaniza, H. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*, 17, 147-152.
- Hamburger M, Hostettmann. 1991. Bioactivity in plant: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, 30(12), 3864-3874.
- Hancock, RE., & Diamond, G. 2000. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends in microbiology*, 8(9), 402-410.
- Optimization Software:
www.balesio.com



ani, D., Putra, R., Ismed, F. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Bakteri *Bacillus* sp. 3

- (A1) yang Bersimbiosis dengan Spon Laut *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(1), 24-29.
- Harnedy, P. A., FitzGerald, R. J. 2011. Bioactive Proteins, Peptides, and Amino Acids from Macroalgae. *Journal of Phycology*. 47 (2), 218-232.
- Henriksen, J. R., Etzerodt, T., Gjetting, T., Andresen, T. L. 2014. Side chain hydrophobicity modulates therapeutic activity and membrane selectivity of antimicrobial peptide mastoparan-X. *PloS one*, 9(3).
- Hilchie, A. L., Doucette, C. D., Pinto, D. M., Patrzykat, A., Douglas, S., & Hoskin, D. W. 2011. Pleurocidin-family cationic antimicrobial peptides are cytolytic for breast carcinoma cells and prevent growth of tumor xenografts. *Breast cancer research*, 13(5), R102.
- Holdt, S. L. Kraan, S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*. 23 (3), 543-597.
- Hu, J., Xu, M., Hang, B., Wang, L., Wang, Q., Chen, J., Song, T., Fu, D., Wang, Z., Wang, S., Liu, X. 2011. Isolation and characterization of an antimicrobial peptide from bovine hemoglobin α -subunit. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(4), 767-771.
- Huang, T. C., Lee, J. F., Chen, J. Y. 2011. Pardaxin, an antimicrobial peptide, triggers caspase-dependent and ROS-mediated apoptosis in HT-1080 cells. *Marine drugs*, 9(10), 1995-2009.
- Huang YH, Huang JH, Chen Y. 2010. Alpha-helical cationic antimicrobial peptides: relationships of structure and function. *Protein & Cell*. 1(2), 143-152.
- Ibrahim and El Nur. 2015. Cytotoxicity study on *Maerua pseudopetalosa* (Glig and Bened.) De Wolf tuber fractions. *African Journal Plant Science*. 9(12), 490-497.
- Indriani, H., Sumiarsih, E., 1991. *Budidaya, Pengolahan, Pemasaran, Rumput Laut*. Seri Agribisnis. Penebar Swadaya, Jakarta.
- A. 2016. Hidrolisis Protein Tanduk Muda Rusa Sambar (*Rusa unicolor*) serta Potensinya sebagai Penurun Resiko Hipertensi. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(3), 185-190.



- Ji, C., Han, J., Zhang, J., Hu, J., Fu, Y., Qi, H., Yu, C. 2018. Omics-prediction of bioactive peptides from the edible cyanobacterium *Arthrospira platensis* proteome. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98(3), 984-990.
- Jones, E., Salin, V., Williams, G. W. 2005. Nisin and the market for commercial bacteriocins (No. 1406-2016-117331). Texas, Texas A&M University
- Joshi, S., Kumari, R., & Upasani, V. N., 2018. Applications of algae in cosmetics: An overview. *International Journal of Innovative Science Engineering and Technology*. 7(2), 1269-1278.
- Karthick, P., Mohanraju, R., 2018. Antimicrobial Potential of Epiphytic Bacteria Associated With Seaweeds of Little Andaman, India. *Frontiers in Microbiology*, 9, 611. doi: 10.3389/fmicb.2018.00611.
- Kennepohl, D. 2020. *Degradasi Edman*, (online), ([https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Map%3A_Organic_Chemistry_\(McMurry\)/26%3A_Biomolecules-_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/26.08%3A_The_Edman_Degradation](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Map%3A_Organic_Chemistry_(McMurry)/26%3A_Biomolecules-_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/26.08%3A_The_Edman_Degradation) diakses 7 agustus 2020)
- Khoiriyah, H., & Ardiningsih, P. 2014. Penentuan waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas bakteriosin lactobacillus sp. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 3(4), 52-56.
- Kim, SS., Shim, MS., Chung, J., Lim, DY., Lee, BJ. 2007. Purification and characterization of antimicrobial peptides from the skin secretion of *Rana dybowskii*. *Peptides*, 28(8), 1532-1539.
- Korhonen, H. 2009. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of functional foods*. 1(2), 177-187.
- Kozlov, S. A., Vassilevski, A. A., Feofanov, A. V., Surovoy, A. Y., Karpunin, D. V., & Grishin, E. V. 2006. Latarcins, antimicrobial and cytolytic peptides from the venom of the spider *Lachesana tarabaevi* (Zodariidae) that exemplify biomolecular diversity. *Journal of Biological Chemistry*, 281(30), 20983-20992.
- Kumar, S., Li, H. 2017. *In silico design of anticancer peptides*. In *Proteomics for Drug Discovery* (pp. 245-254). Humana Press, New York.
- an, Lestari, S., Hanggita S. 2012. Hidrolisis Protein Tinta Cumi-Cumi (*Loligo Sp*) Dengan Enzim Papain. *FishtecH* 1(01): 41-54.



- Kusdiyantini, E., Nugroho, R. P. Budiharjo, A. 2015. Bioprospeksi dan Identifikasi Molekuler Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga Hijau sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Prosiding KPSDA*, 1(1).
- Kusumaningtyas, E. 2016. *Peptida Bioaktif Susu Kambing Dan Susu Kuda Hasil Hidrolisis Bromelin Dan Protease Bacillus thuringiensis* [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kusumaningtyas, E., Subekti, D. T. 2019. *Analisis In silico Aktivitas antimikroba Peptida dari Susu Kuda Sumbawa* (pp. 823-830). Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Lamiable, A., Thévenet, P., Rey, J., Vavrusa, M., Derreumaux, P., Tufféry, P. 2016. PEP-FOLD3: faster de novo structure prediction for linear peptides in solution and in complex. *Nucleic acids research*, 44(W1), W449-W454.
- Landschulz WH, Johnson PF, McKnight SL. 1988. The leucine zipper: a hypothetical structure common to a new class of DNA binding proteins. *Science*, 240:1759–1764.
- Lau, CC. 2013. *Peptides inhibiting Angiotensin I-converting enzyme derived from edible mushrooms/Lau Ching Ching* [Doctoral dissertation]. Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Malaya , Kuala Lumpur.
- Lewis, A. 2018. *An in vitro evaluation of the antibacterial and anticancer properties of the antimicrobial peptide Nisin Z* [PhD Thesis], North-West University, South Africa.
- Liu Z, Brady A, Young A, Rasimick B, Chen K, Zhou C and Kallenbach NR. 2007. Length effects in antimicrobial peptides of the (RW)n series. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 51(2), 597 – 603.
- Ma, Q. Q., Lv, Y. F., Gu, Y., Dong, N., Li, D. S., Shan, A. S. (2013). Rational design of cationic antimicrobial peptides by the tandem of leucine-rich repeat. *Amino Acids*, 44(4), 1215-1224.
- Machsun, I. R., & Zulaika, E. 2017. Profil Protein Bakteri Ureolitik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 6(2), E56-E58.



H., Sinaga, M. S., Nawangsih, A. A. 2011. Isolasi dan seleksi bakteri endofit untuk pengendalian penyakit darah pada tanaman pisang. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*.11(2), 113 – 121.

- Matsushima N, Miyashita H, Mikami T, Kuroki Y (2010) A nested leucine rich repeat (LRR) domain: the precursor of LRRs is a ten or eleven residue motif. *BMC Microbiol*, 10:235–244.
- McCalley, D. V. 2004. Effect of buffer on peak shape of peptides in reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1038(1), 77-84.
- Mao, X., Bai, L., Fan, X., Zhang, X. 2017. Anti-proliferation peptides from protein hydrolysates of Pyropia haitanensis. *Journal of Applied Phycology*, 29(3), 1623-1633.
- Meher, PK., Sahu, TK., Saini, V., Rao, AR. 2017. Predicting antimicrobial peptides with improved accuracy by incorporating the compositional, physico-chemical and structural features into Chou's general PseAAC. *Scientific reports*, 7(1), 1-12.
- Mehlis, B., and Kertscher, U. 1997. Liquid chromatography/mass spectrometry of peptides of biological samples. *Analytica chimica acta*, 352(1-3), 71-83.
- Meyer BN, Ferragini RN, Jacobsen LB, Nicholas DE, Mc Laughlin JL. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 45, 31-35.
- Mondhe M, Chessher A, Goh S, Good I, Stach JEM. 2014. Species-selective killing of bacteria by antimicrobial peptida-PNAs. *PLoS ONE*. 9(2), e89082.
- Montalvão, S. 2016. *Screening of Marine Natural Products and Their Synthetic Derivatives for Antimicrobial and Antiproliferative Properties* [Dissertation]. Centre for Drug Research Division of Pharmaceutical Biosciences Faculty of Pharmacy University of Helsinki, Finland.
- Mukhtar, M.H., Adnan A.Z., Pitra M.W. 2007. Uji Sitotoksik Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Jurnal Sains Teknologi Fararmasi*, 2(1).

- Munandar, A., Mustopa, A. Z., Tarman, K., Nurhayati, T. 2014. Aktivitas Antibakteri Protein Kapang *Xylaria psidii* KT30 terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan*, 25(2), 146-151.
- Munifah, I. 2008. Prospek pemanfaatan alga laut untuk industri. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 3(2), 58-62.
- Mustătea, G., Ungureanu, E. L., Lorga, E. 2019. Protein acidic hydrolysis for amino acids analysis in food-Progress over time: A short review. *Journal of Hygienic Engineering and Design*: 81-87.
- Naid, T., Kasim, S., Marzuki, A. dan Sumarheni. 2013. Produksi Antibiotika secara Fermentasi dari Biakan Mikroorganisme Simbion Rumput Laut *Eucheuma cottoni*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 17 (3), 61-68.
- Naimah, A. K., Al-Manhel, A. J. A., Al-Shawi, M. J. (2018). Isolation, purification and characterization of antimicrobial peptides produced from *Saccharomyces boulardii*. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 24(3), 455-461.
- Nelson, DL., Cox. MM. 2005. *Principles of Biochemistry*, 4th Ed., New York: W. H. Freeman.
- Nielsen, P.M., 1997. *Functionality of Protein Hydrolysates* (pp. 443-472). Dalam buku Food Proteins and Their Applications, edited by Damodaran, S. and Paraf, A. Marcel Dekker, New York.
- Octaviani, M., Fadhli, H., Yuneistya, E. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences & Research*, 6(1), 62-68.
- Pan, X., Zhao, Y. Q., Hu, F. Y., Chi, C. F., and Wang, B. 2016. Anticancer activity of a hexapeptide from skate (*Raja porosa*) cartilage protein hydrolysate in HeLa Cells. *Marine drugs*, 14(8), 153-161.
- Papo, N., Seger, D., Makovitzki, A., Kalchenko, V., Eshhar, Z., Degani, H., & Shai, Y. 2006. Inhibition of tumor growth and elimination of multiple metastases in human prostate and breast xenografts by systemic inoculation of a host defense-like lytic peptide. *Cancer research*, 66(10), 5371-5378.



- Papo N, Shai Y (2003) Exploring peptide membrane interaction using surface plasmon resonance: differentiation between pore formation versus membrane disruption by lytic peptides. *Biochemistry*, 42, 458–466.
- Pasquereau-Kotula, E., Habault, J., Kroemer, G., & Poyet, J. L. 2018. The anticancer peptide RT53 induces immunogenic cell death. *PLoS one*, 13(8).
- Person, M., Sevestre, A., Chaimbault, P., Perrot, L., Duchiron, F., and Elfakir, C. 2004. Characterization of low-molecular weight peptides in champagne wine by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 520(1), 149-158.
- Persson, B. 2000. *Bioinformatics in protein analysis*. In Proteomics in Functional Genomics (pp. 215-231). Birkhäuser, Basel.
- Petritis, K., Brussaux, S., Guenu, S., Elfakir, C., and Dreux, M. 2002. Ion-pair reversed-phase liquid chromatography-electrospray mass spectrometry for the analysis of underderivatized small peptides. *Journal of Chromatography A*, 957(2), 173-185.
- Pritchard, S. R. 2012. *Isolation and characterisation of bioactive peptides derived from milk and cheese* (Disertation). University of Western Sydney, Australia.
- Pringgenies, D. Karakteristik senyawa bioaktif bakteri simbion moluska dengan GC-MS. 2010. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 2(2), 34-40
- Priono, B. 2016. Budidaya rumput laut dalam upaya peningkatan Industrialisasi perikanan. *Media Akuakultur*, 8(1), 1-8.
- Purwanto MGM. 2014. Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut dengan berbagai metode spektroskopi UV-Visible. *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*. 7(2), 64-71
- Ra, C. H., Jung, J. H., Sunwoo, I. Y., Kang, C. H., Jeong, G. T., & Kim, S. K., 2015. Detoxification of *Eucheuma spinosum* hydrolysates with activated carbon for ethanol production by the salt-tolerant yeast *Candida tropicalis*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(6), 856-862.
- K., Qian, S. 2017. Interaction of the antimicrobial peptide aurein 1.2 and charged lipid bilayer. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.



- Radjasa OK, Kencana DS, Sabdono A, Hutagalung RA, Lestari ES. 2007. Antibacterial activity of marine bacteria associated with sponge *Aaptos sp.* against multi drugs resistant (MDR) strains. *Jurnal Matematika dan Sains*, 12(4), 147-152.
- Rahmayanti, S., Massinai, A., Mashoreng, S. 2019. *Kepadatan Bakteri Simbion Rumput Laut (Eucheuma spinosum) yang Berasal dari Perairan Puntondo, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan*. Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan VI, Universitas Hasanuddin, Makassar, 21 Juni 2019, ISBN 978-602-71759-6-9.
- Rasyid, A. 2008. Biota Laut sebagai Sumber Obat-obatan. Oseana, XXXIII(1), 11-18
- Reha, W., Noor, A., Ahmad, A., Nafie, N. L. dan Salama, D. 2014. Karakterisasi Protein Aktif Dari Spons Dan Mikroba Simbionnya Sebagai Usaha Awal Menuju Agen Imunostimulan. *Marina Chimica Acta*. 14 (1), 1411-2132.
- Rodrigues, E. G., Dobroff, A. S., Taborda, C. P., Travassos, L. R. 2009. Antifungal and antitumor models of bioactive protective peptides. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 81(3), 503-520.
- Ruiz, J. C. R., Ancona, D. A. B., & Campos, M. R. S. 2014. Bioactive vegetable proteins and peptides in lipid-lowering; nutraceutical potential. *Nutrición hospitalaria*, 29(4), 776-784.
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., and Dowling, D. N. 2008. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*, 278 (1), 1-9.
- Sabdaningsih, A., Budiharjo, A., Kusdiyantini, E. (2013). Isolasi Dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) Dari Perairan Kutuh Bali. *Jurnal Akademika Biologi*, 2(2), 11-17.
- Sadeghi, S., Jalili, H., Ranaei Siadat, SO., Sedighi, M. 2018. Anticancer and Antibacterial Properties in Peptide Fractions from Hydrolyzed Spirulina Protein. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20(4), 673-683.



- aureus. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 7(3), 308-315.
- Saleh, H. 2015. *Protokol identifikasi spesies bakteri secara molecular*. Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Centre, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Samarakoon, K. and Jeon, Y. J. 2012. Bio-functionalities of proteins derived from marine algae. *Food Research International* 48 (2), 948–960.
- Schmeda-Hirschmann, G., Hormazabal, E., Rodriguez, JA. 2008. Cycloaspeptide A and Pseurotin A from the Endophytic Fungus *Penicillium janczewskii*. *Zeitschrift für Naturforschung*. 63c, 383-388
- Schweizer, F. 2009. Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity. *Eur J Pharmacol*, 625, 190-4.
- Sediaoetama, A. D. 2008, *Ilmu Gizi: untuk mahasiswa dan profesi*, jilid I. Dian Rakyat, Jakarta.
- Sedighi, M., jalili, H., Siadat, S.O.R. and Amrane, A. 2016. Potential Health Effects of Enzymatic Protein Hydrolysates from *Chlorella vulgaris*. *Applied Food Biotechnology*, 3 (3), 160- 169.
- Seidler, J., Zinn, N., Boehm, M. E., and Lehmann, W. D. 2010. De novo sequencing of peptides by MS/MS. *Proteomics*, 10(4), 634-649.
- Sepdwiyanti, R., Sari, S. D., Hudha, M. I. 2012. Ekstraksi Karaginan Dari Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) Dengan Variasi Suhu Pelarut Dan Waktu Operasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 6(2), 50-53.
- Seprianto, Feliatra, Nugroho T. T. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik Dari Usus Udang Windu (*Penaeus monodon*) Berdasarkan Sekuens Gen 16S rDNA. *Biogenesis*, 5(2), 83-92
- Setyati, W. A., Martani, E., & Zainuddin, M. 2015. Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimunjawa, Jepara. *Indonesian Journal of Marine Sciences/Ilmu Kelautan*, 20(3).
- . 2013. Structure–activity relationships of α s-casein peptides with multifunctional biological activities. *Molecular and cellular biochemistry*, 384(1-2), 29-38.



- Sitanggang A. Z., Sudarsono, Syah D., 2018. Pendugaan Peptida Bioaktif dari susu terhidrolisis oleh protease tubuh dengan teknik *In silico*. *Journal of Food Technology & Industry/Jurnal Teknologi & Industri Pangan*. 29(1), 93-101.
- Soegiarto, A., Sulistijo., Atmadja, W.S., dan Mubarak, H. 1978. *Rumput Laut (Algae): Manfaat, Potensi dan Usaha Budidayanya*. LON-LIPI, Jakarta.
- Song, R.; Wei, R.; Luo, H.; Yang, Z. 2014. Isolation and identification of an antiproliferative peptide derived from heated products of peptic hydrolysates of half-fin anchovy (*Setipinnataty*). *Journal of Functional Foods*, 10, 104–111.
- Stan, G. S., Badea, I. A., & Aboul-Enein, H. Y. 2016. HPLC Method for Quantification of Five Compounds in a Parenteral Form Used in Treatment of Companion Animals. *Journal of chromatographic science*, 54(9), 1567-1572.
- Staubitz P, Peschel A, Nieuwenhuizen WF, Otto M, Gotz F, Jung G, Jack RW. 2001. Structure-function relationships in the tryptophan-rich, antimicrobial peptide indolicidin. *Journal of Peptide Science*. 7(10), 552-564.
- Sucher NJ. 2014. Searching for synergy *in silico*, *in vitro*, and *in vivo*. *Synergy*.1(1), 30-43.
- Sugrani, A. 2010. *Isolasi dan identifikasi protein antibakteri dari spons di perairan pulau kapoposang Sulawesi selatan* [tesis]. Jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Makassar.
- Sugrani, A., Ahmad, A., Djide, MN., Natsir, H. 2019a. Biofunctional protein fraction from red algae (*Rhodophyta*) *Eucheuma spinosum* as an antibacterial and anticancer drug agent. *International Research Journal of Pharmacy*. 10(3), 64-69.
- _____. 2019b. Antibacterial and anticancer activity of protein sponges collected from the waters of Kapoposang island of south Sulawesi, Indonesia. *International Research Journal of Pharmacy*. 10(1), 82-87.
- _____. 2019c. Toxicological evaluation and antibacterial activity of crude protein extract from endophytic bacteria associated with Algae *Eucheuma spinosum*. *J Phys: Conf Ser* 2019b; 1341(3). (Invited speaker of 3th International Conference of Sciences). doi: 10.1088/1742-6596/1341/3/032006.



- _____. 2020. Two novel antimicrobial and anticancer peptides prediction from *Vibrio* sp. strain ES25. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(8), 58-66
- Tam JP, Lu YA, Yang JL. 2002. Antimicrobial peptides. *Eur J Biochem*. 269(3), 923-932.
- Teerasak, E., Thongaram, P., Roytrakul, S., Meesuk, L. and Chumnanpuen, P. 2016. Prediction of anticancer peptides against MCF-7 breast cancer cells from the peptidomes of *Achatina fulica mucus* fractions. *Computational and structural biotechnology journal*, 14, 49-57.
- Thenawidjaja, M., Ismaya, W.T., Retnoringrum, D.S. 2017. Protein: Serial Biokimia Mudah dan Menggugah, Grasindo, Jakarta.
- Thundimadathil, J. 2012. Cancer Treatment Using Peptides: Current Therapies and Future Prospects (Review). *Journal of Amino Acids*. 1-13.
- Tidona, F., Criscione, A., Guastella, A. M., Zuccaro, A., Bordonaro, S., and Marletta, D. 2009. Bioactive peptides in dairy products. *Italian Journal of Animal Science*, 8 (3), 315-340.
- Toll, H., Oberacher, H., Swart, R., and Huber, C. G. 2005. Separation, detection, and identification of peptides by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry at high and low pH. *Journal of Chromatography A*, 1079(1), 274-286.
- Trauger, S. A., Webb, W., and Siuzdak, G. 2002. Peptide and protein analysis with mass spectrometry. *Journal of Spectroscopy*, 16(1), 15-28.
- Tu, M., Cheng, S., Lu, W., Du, M. 2018. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 7-17.
- Tyagi, A., Kapoor, P., Kumar, R., Chaudhary, K., Gautam, A., and Raghava, G. P. S. 2013. *In silico* models for designing and discovering novel anticancer peptides. *Scientific reports*, 2984 (3), 1-7.



- Udenigwe C.C., Aluko R.E. 2012. Food protein-derived bioactive peptides: production, processing, and potential health benefits, *Journal Food and Science*. 77, R11-R24.
- Ulagesan, S., Kuppusamy, A., Kim, H. J. 2018. Antimicrobial and antioxidant activities of protein hydrolysate from terrestrial snail *Cryptozona bistrialis*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(12), 012-019.
- Umayaparvathi, S.; Meenakshi, S.; Vimalraj, V.; Arumugam, M.; Sivagami, G.; Balasubramanian, T. Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptide from enzymatic hydrolysate of oyster (*Saccostreacucullata*). *Biomed. Prev. Nutr.* 2014, 4, 343–353.
- Utami, A. W. A., Wahyudi, A. T., dan Batubara, A. I. 2014. Toxicity, anticancer and antioxidant activity of extracts from marine bacteria associated with sponge *Jaspis sp.* *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 5 (4), 917-923.
- Vandanjon, L., Johannsson, R., Derouinot, M., Bourseau, P., & Jaouen, P. 2007. Concentration and purification of blue whiting peptide hydrolysates by membrane processes. *Journal of Food Engineering*, 83(4), 581-589.
- Veldhuizen, E. J., Schneider, V. A., Agustiandari, H., Van Dijk, A., Tjeerdsma-van Bokhoven, J. L., Bikker, F. J., & Haagsman, H. P. (2014). Antimicrobial and immunomodulatory activities of PR-39 derived peptides. *PLoS One*, 9(4).
- Veltri, D., Kamath, U., Shehu, A. 2018. Deep learning improves antimicrobial peptide recognition. *Bioinformatics*, 34(16), 2740-2747.
- Vijayan, S. R., Santhiyagu, P., Ramasamy, R., Arivalagan, P., Kumar, G., Ethiraj, K., and Ramaswamy, B. R. 2016. Seaweeds: A resource for marine bionanotechnology. *Enzyme and Microbial Technology*, 95, 45-57.
- Vo, T. S.; Ryu, B. and Kim, S.-K. 2013 Purification of novel anti-inflammatory peptides from enzymatic hydrolysate of the edible microalgal *Spirulina maxima*. *J. Funct. Foods*. 5 (3), 1336–1346.
- Ülbecke, S., Cleverley, S., Weinberger, S. R., and Wiesner, A. 2005. Protein quantification by the SELDI-TOF-MS-based proteinchip system. *Nature Methods*, 2(5), 393-395.



- Waghu, FH., Barai, RS., Gurung, P, Idicula-Thomas, S. 2016. CAMPR3: a database on sequences, structures and signatures of antimicrobial peptides. *Nucleic acids res.* 44(D1): D1094-D1097. doi: 10.1093/nar/gkv1051.
- Wahyuni, F. S., Firnando, E., dan Husni, E. 2013. Kajian efek sitotoksik hasil fraksinasi ekstrak etanol kulit buah asam kandis (*garcinia cowa roxb.*) Terhadap sel kanker payudara t47d dengan metoda *microtетrazolium* (MTT). *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III.* ISSN: 2339-2592.
- Wang, G. 2020. The antimicrobial peptide database provides a platform for decoding the design principles of naturally occurring antimicrobial peptides. *Protein Science*, 29(1), 8-18. doi: 10.1002/PRO.3702.
- Wang, L., Dong, C., Li, X., Han, W., Su X. 2017. Anticancer potential of bioactive peptides from animal sources (Review). *Oncology Reports*, 38, 637-651.
- Wang, X, Zhang, X. 2013. Separation, antitumor activities, and encapsulation of polypeptide from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biotechnol Prog*, 29, 681–687
- _____. 2015. Inhibitory effects of small molecular peptides from *Spirulina (Arthrospira) platensis* on cancer cell growth. *Food & Function*, 7(2), 781-788.
- _____. 2016. Isolation and identification of anti-proliferative peptides from *Spirulina platensis* using three-step hydrolysis. *Journal of the science of food and agriculture*, 97 (3), 918-922.
- Weerapreeyakul, N., Nonpunya, A., Barusrux, S., Thitimetharoch, T., Sripanidkulchai, B. 2012. Evaluation of the anticancer potential of six herbs against a hepatoma cell line. *Chinese medicine*, 7(15), 1-7.
- WHO. 2014. Infectious Diseases Health Topic [online]. http://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/index.html (diakses 15 Agustus 2014 : 10.00 wita).
- _____. 2015. World Cancers Report [online]. <http://www.who.int/mediacentre> (diakses 15 oktober 2016 : 11.05 wita).



- Winarno, F. G. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput laut*. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- _____. 2010. *Enzim Pangan*. Edisi revisi. M-Brio Press, Bogor.
- Wiśniewski, J. R. 2008. Mass spectrometry-based proteomics. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 132(10), 1566-1569.
- Wysocki VH, Fernandez FM, Smith LL, Kuppannan K, Xi Yang. 2003. Peptide sequencing using a patchwork approach and surface-induced dissociation in sector-TOF and dual quadrupole mass spectrometers. *American Society for Mass Spectrometry*, 14, 1387-1401.
- Xue, Z.; Wen, H.; Zhai, L.; Yu, Y.; Li, Y.; Yu, W.; Cheng, A.; Wang, C.; Kou, X. 2015. Antioxidant activity and anti-proliferative effect of a bioactive peptide from chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International*, 77, 75–81.
- Yin LM, Edward MA, Li J, Yip CM and Deber CM. 2012. Roles of Hydrophobicity and Charge Distribution of Cationic Antimicrobial Peptides in Peptide-Membrane Interactions. *Journal of Biological Chemistry*. 287(10), 7738-7745.
- Yulfizar, C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Jurnal Biospecies*, 6 (2), 1-7.
- Yulianti, T. 2012. Menggali potensi endofit untuk meningkatkan kesehatan tanaman tebu mendukung peningkatan produksi gula. *Jurnal Perspektif*, 11(2), 113-123.
- Zhang, B., and Zhang, X. 2013. Separation and nanoencapsulation of antitumor polypeptide from *Spirulina platensis*. *Biotechnology progress*, 29(5), 1230-1238.
- Zhang, L., Chen, X., Zhang, Y., Ma, C., Xi, X., Wang, L., Zhou, M., Burrows, JF., Chen, T. 2018. Identification of novel Amurin-2 variants from the skin secretion of *Rana amurensis*, and the design of cationicity-enhanced analogues. *Biochemical and biophysical research communications*, 497(4), 943-949.
- Y., Fonslow, B. R., Shan, B., Baek, M.-C., and Yates, J. R. 2013. Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics. *Chemical Reviews*, 113(4), 2343-2394.



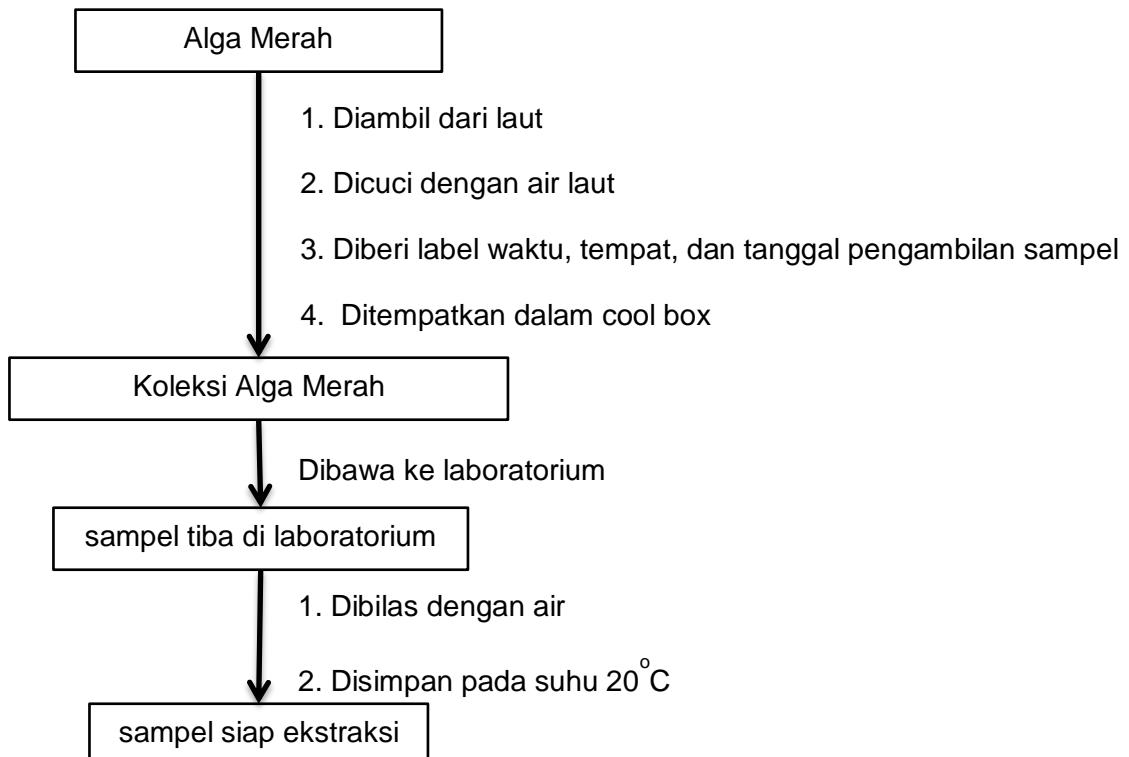
Zheng, S., Liu, Q., Zhang, G., Wang, H., & Ng, T. B. 2010. Purification and characterization of an antibacterial protein from dried fruiting bodies of the wild mushroom *Clitocybe sinopica*. *ACTA Biochimica polonica*, 57(1), 43-48.



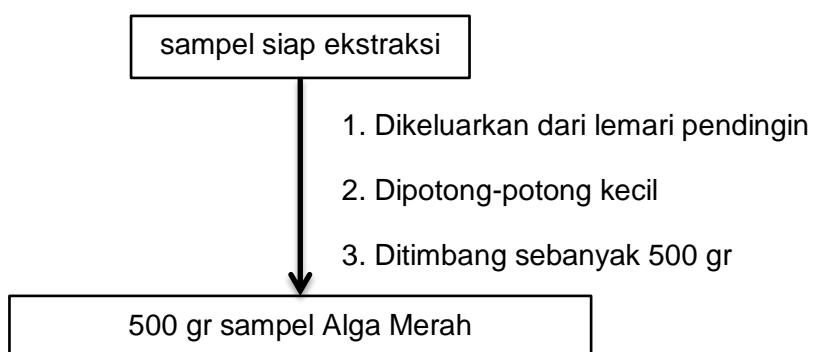
Optimization Software:
www.balesio.com

LAMPIRAN-LAMPIRAN

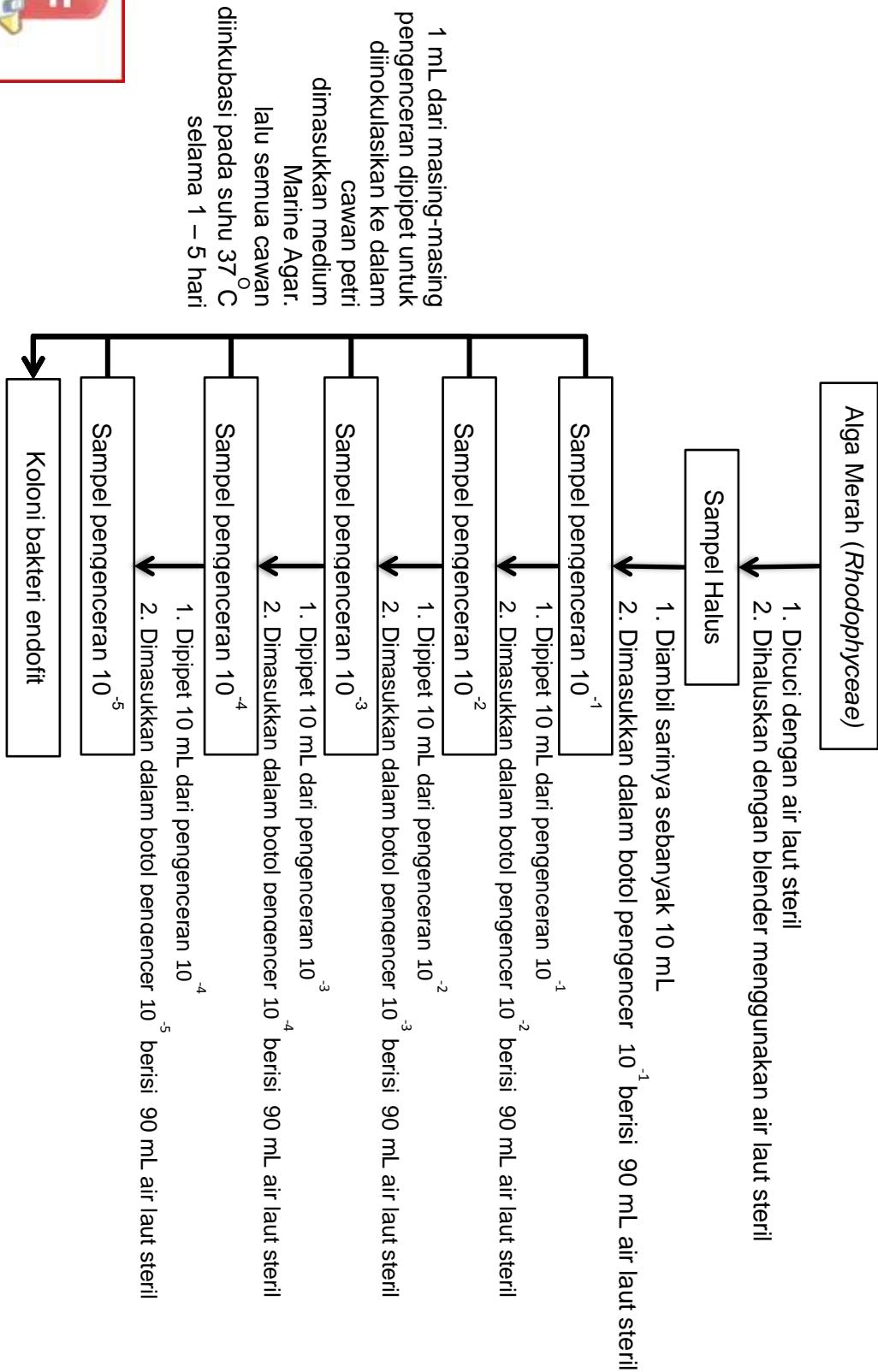
Lampiran 1. Skema kerja pengambilan sampel



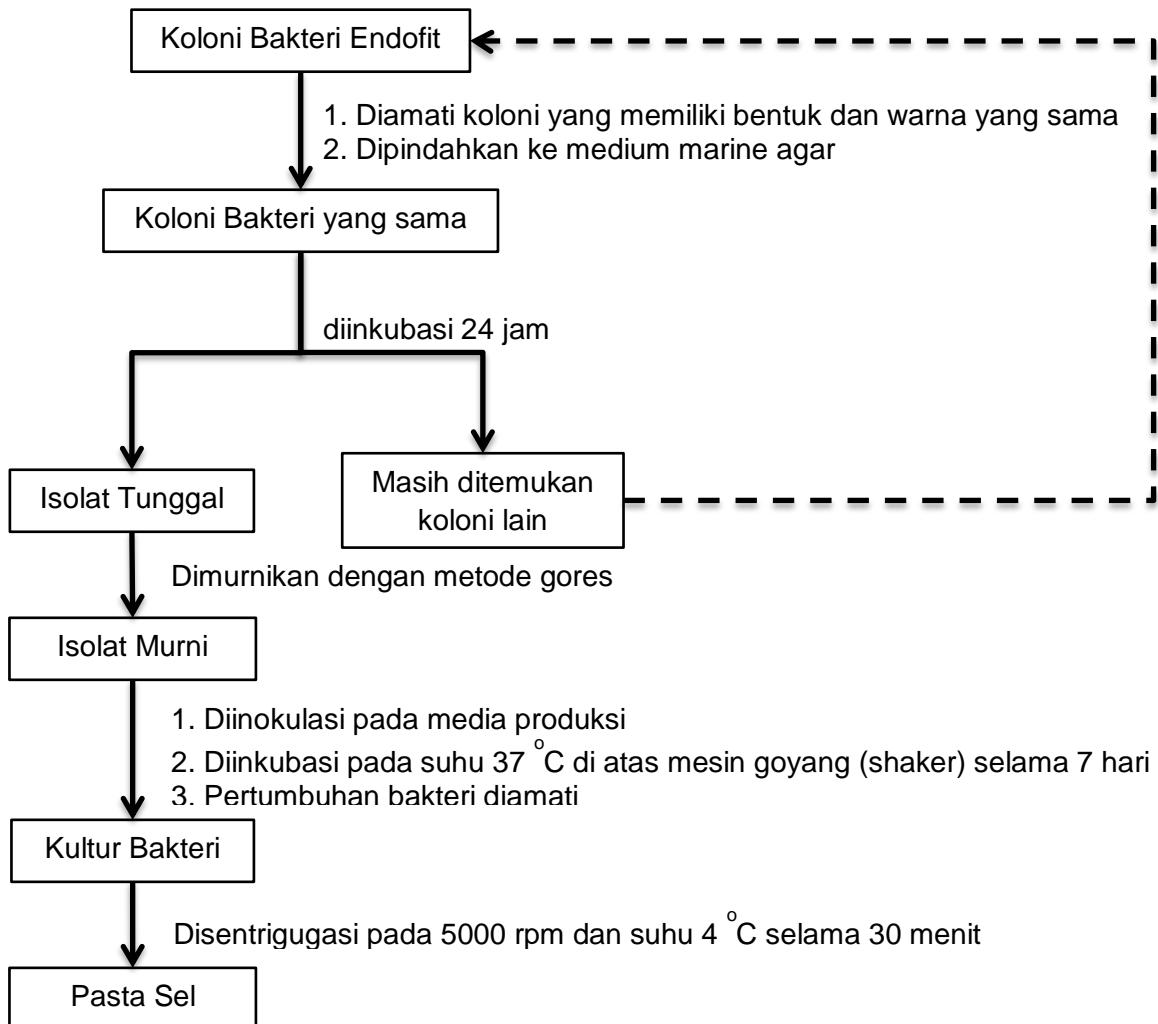
Lampiran 2. Skema penyiapan sampel alga merah (*Rhodophyceae*)

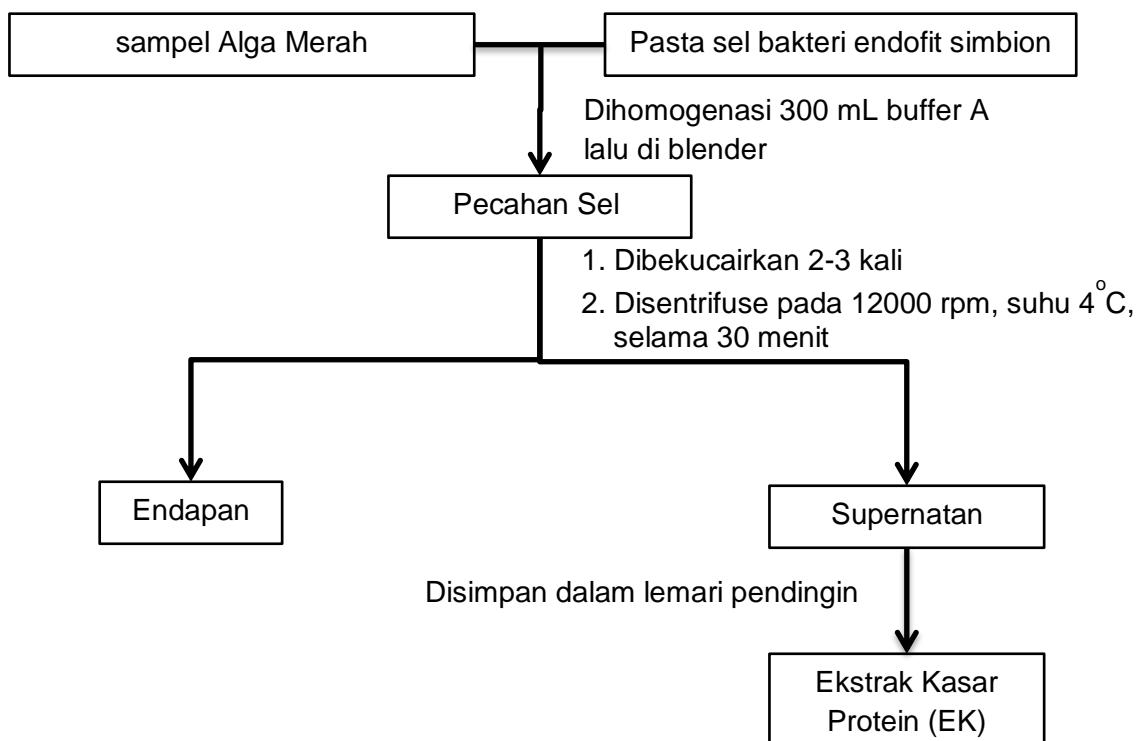


Lampiran 3. Skema isolasi bakteri endofit simbion Alga merah (*Rhodophyceae*)

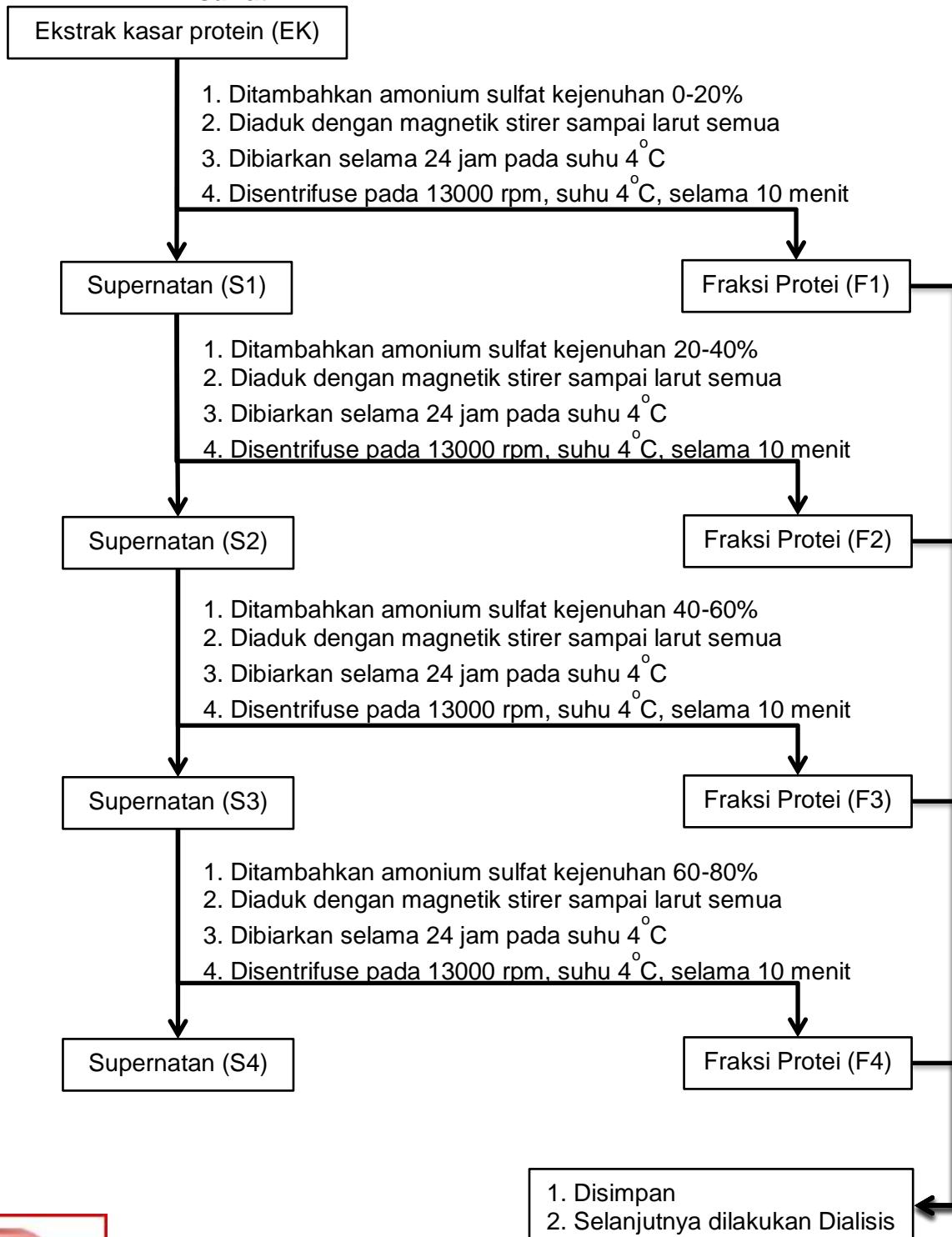


Lampiran 4. Skema purifikasi bakteri

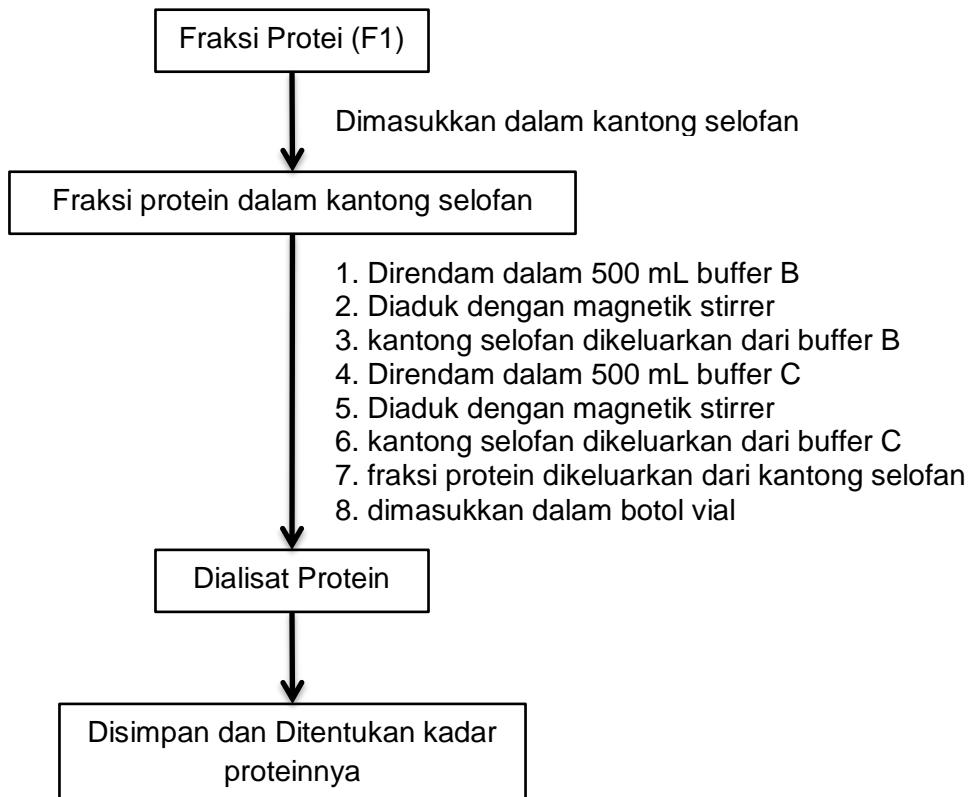


Lampiran 5. Skema Isolasi Protein

Lampiran 6. Skema kerja fraksionasi protein dengan ammonium sulfat



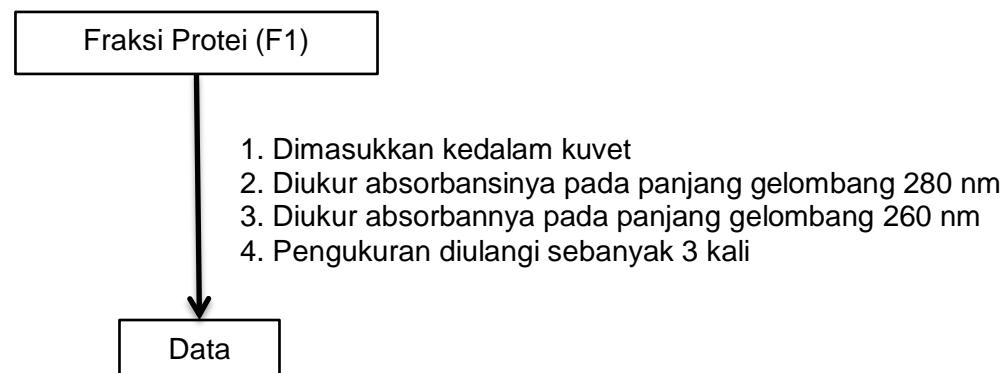
Lampiran 7. Skema kerja dialisis protein



Catatan:

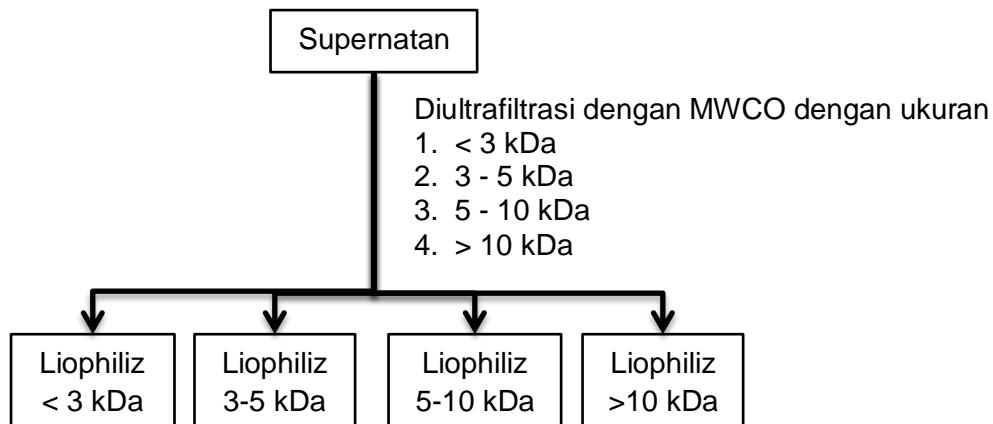
Perlakuan yang sama untuk fraksi F2, F3, F4 dan EK

Lampiran 8. Skema kerja penentuan kadar protein

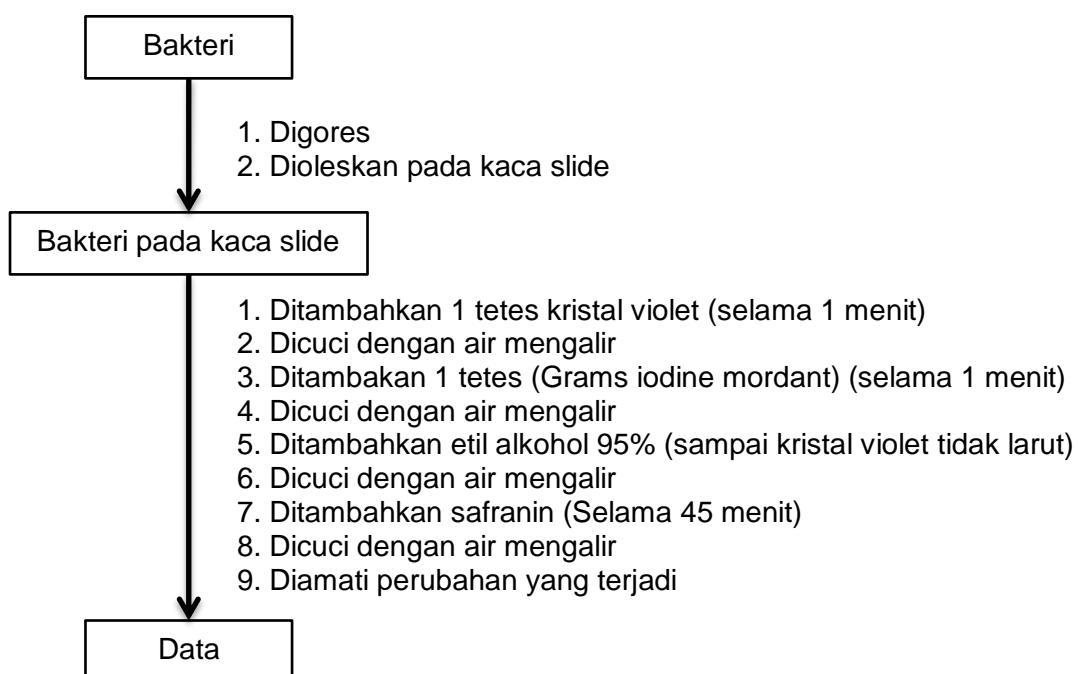


:
g sama dilakukan untuk fraksi protein (F2, F3, F4, EK), Hidrolisat
dan peptida

Lampiran 9. Skema kerja ultrafiltrasi hidrolisat protein



Lampiran 10. Skema kerja uji morfologi bakteri

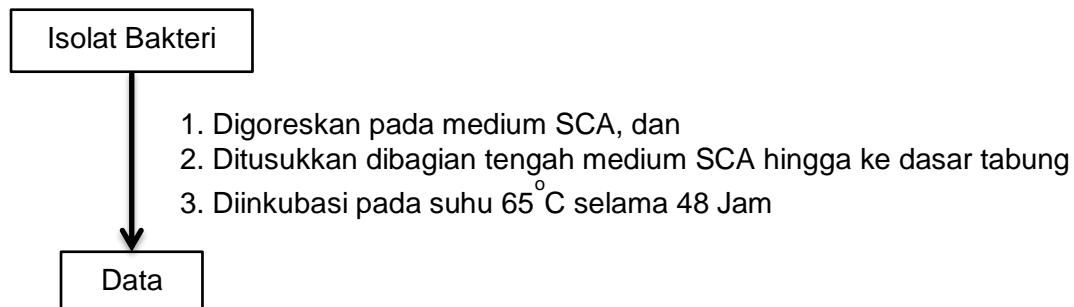


Catatan

1. Bakteri gram positif : sel-sel tampak biru gelap atau ungu
2. Bakteri gram negatif: sel-sel merah muda
3. Tipe morfologi juga dapat dilihat (kokus, basilus, vibrio atau spirulina)



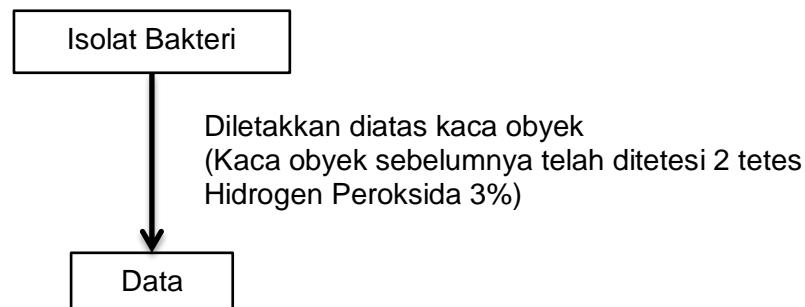
Lampiran 11. Skema kerja uji SCA (Simon Citrat Agar)



Catatan:

Uji positif jika medium berubah warna dari hijau menjadi warna biru

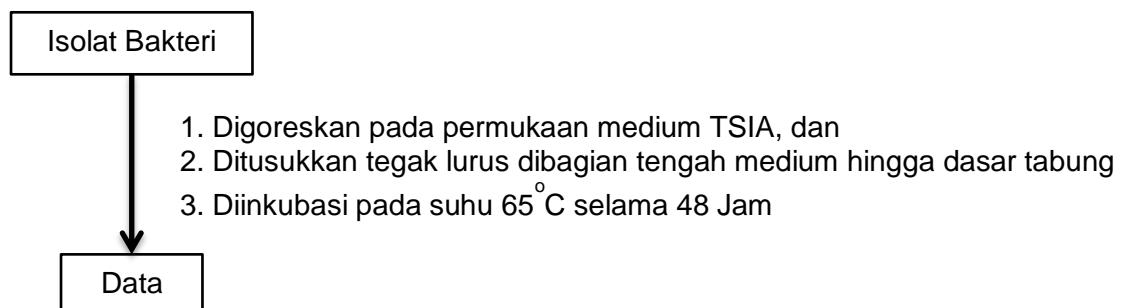
Lampiran 12. Skema kerja uji katalase



Catatan:

Uji positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara

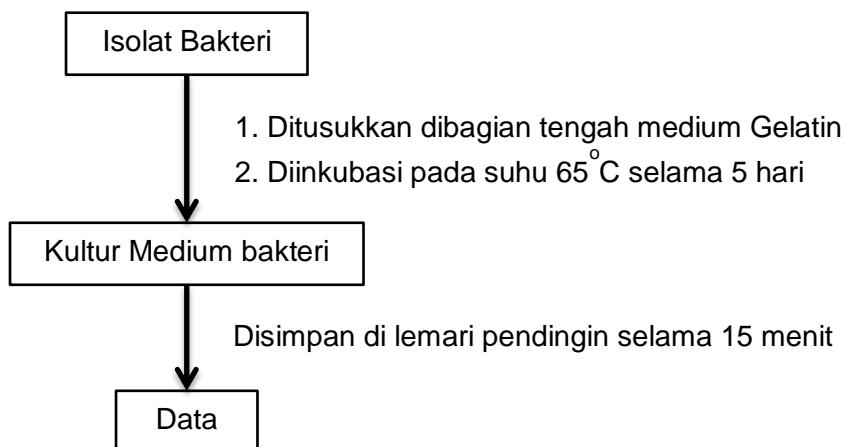
Lampiran 13. Skema kerja uji TSIA (Triple Sugar Ion Agar)



Catatan:

1. Uji positif jika medium berubah warna dari coklat tua menjadi warna orange
2. Terbentuknya H₂S jika terbentuk warna kehitaman pada bekas goresan
3. Pembentukan gas diamati dengan terbentuknya rongga pada bagian bawah

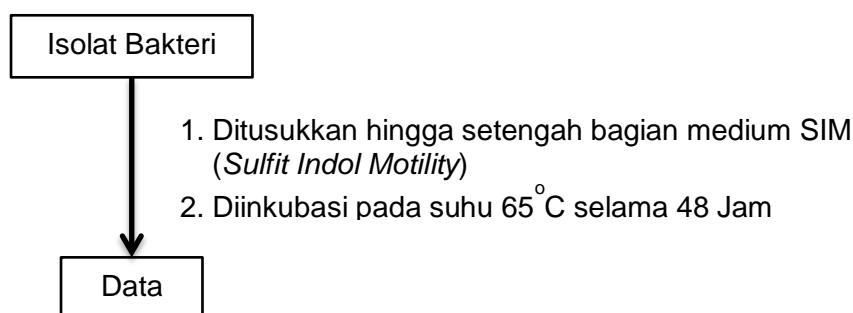
Lampiran 14. Skema kerja uji gelatinase



Catatan:

Uji positif ditandai dengan medium tetap cair meskipun disimpan pada lemari pendingin

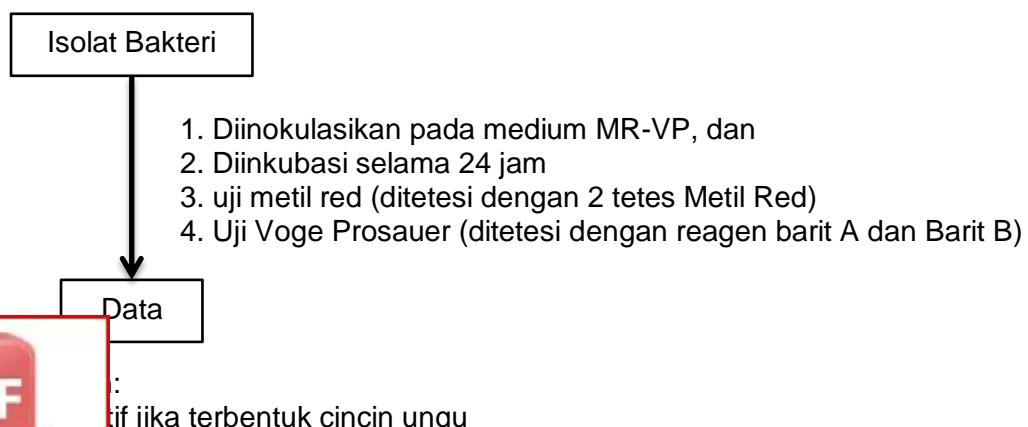
Lampiran 15. Skema kerja uji motilitas



Catatan:

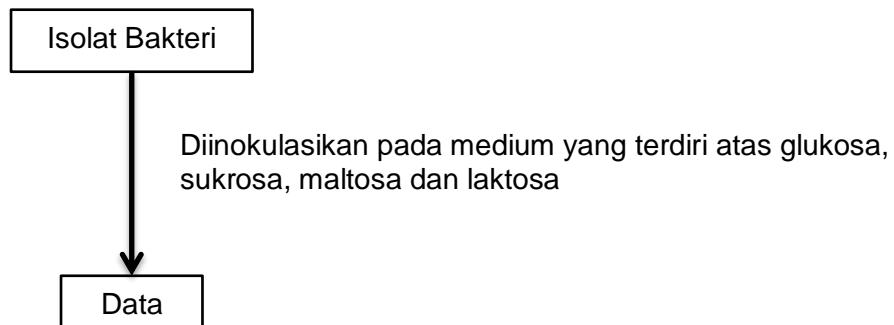
Uji positif ditunjukkan dengan adanya jejak pergerakan bakteri

Lampiran 16. Skema kerja uji MR-VP (*Metil Red - Voge Prosauer*)



:
atif jika terbentuk cincin ungu

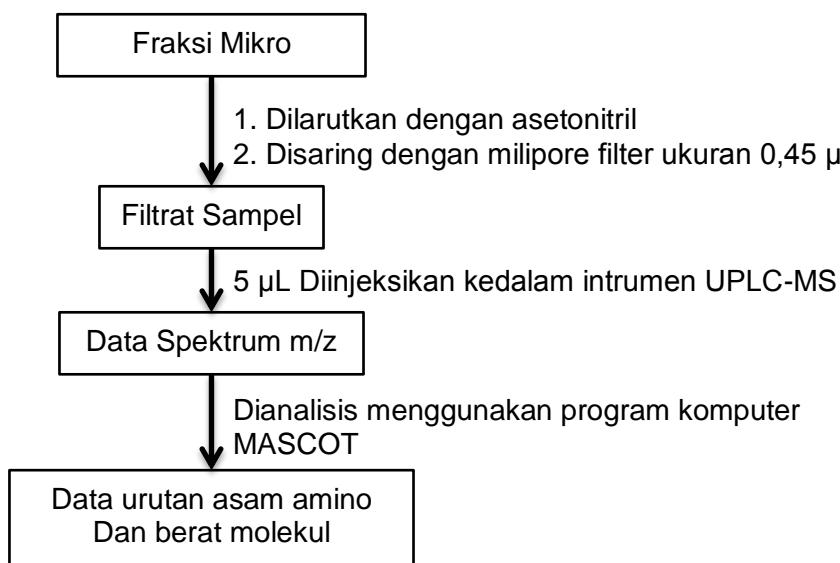
Lampiran 17. Skema kerja uji fermentasi karbohidrat



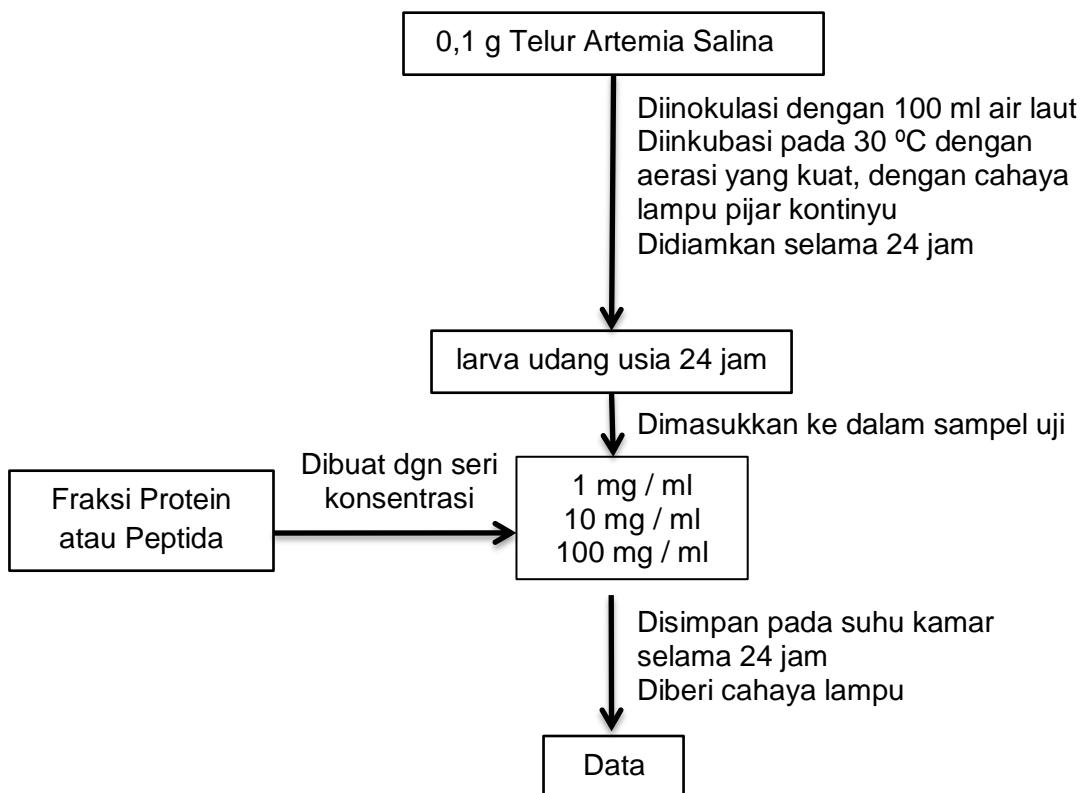
Catatan:

Uji positif ditandai dengan berubahnya medium menjadi warna kuning

Lampiran 18. Sekuensing Peptida



Lampiran 19. Skema kerja uji toksisitas BSLT



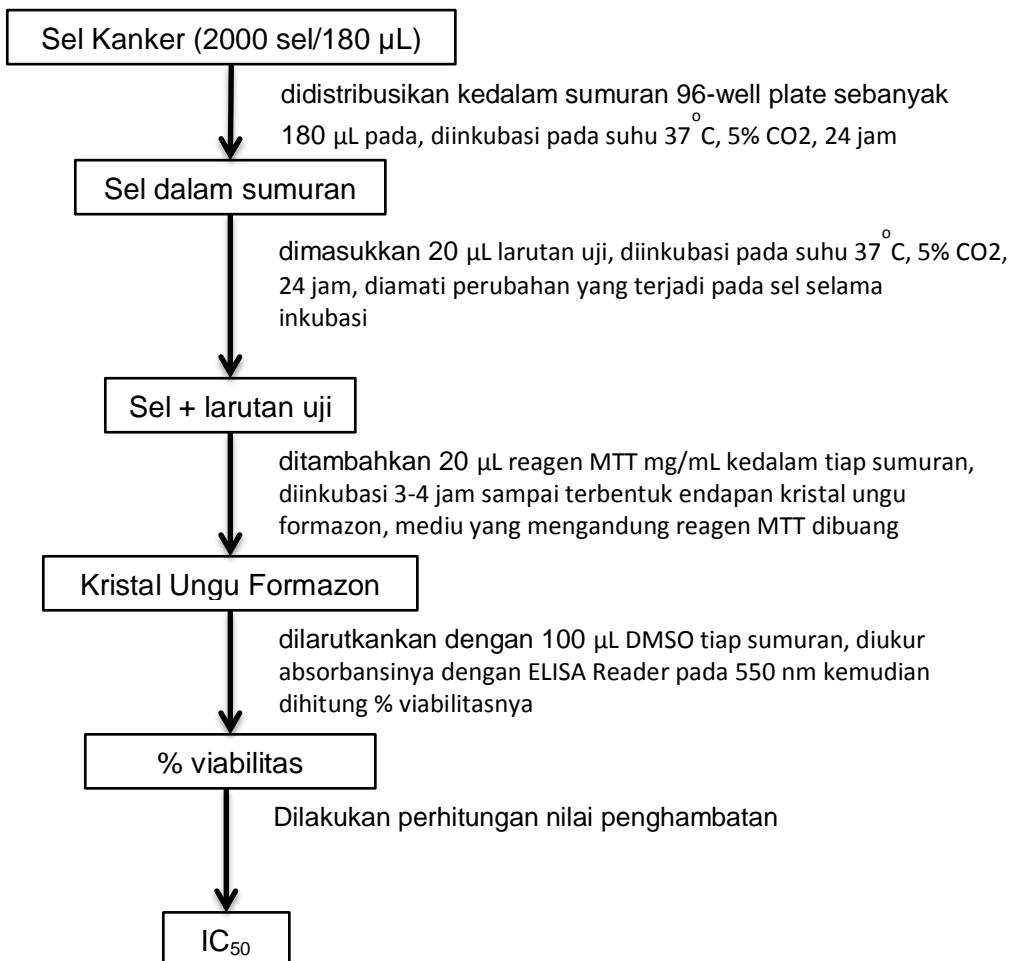
Lampiran 20. Penambahan Ammonium Sulfat Fraksionasi Protein

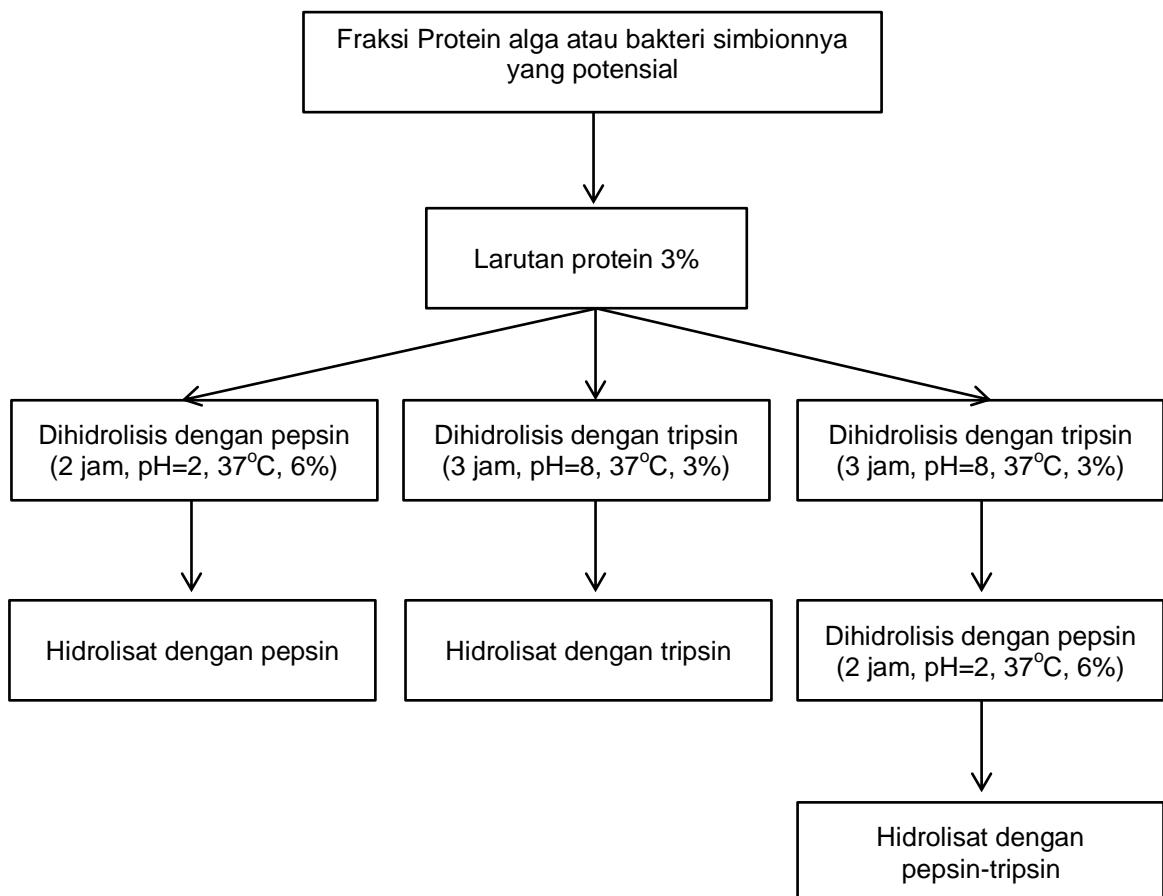
Kejemuhan Awal dari Ammonium Sulfat (%) pada 0-4°C)	%Kejemuhan pada 0-4°C																
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
	Penambahan Ammonium sulfat kristal (gram) untuk satu liter larutan																
0	106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	474	516	559	603	650	697
5	79	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	89	123	156	190	226	263	302	342	383
50							0	30	59	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	201	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

dengan menggunakan "Ammonium Sulphate Calkulator" <http://www.encorbio.com/protocols/AM-SO4.htm>



Lampiran 21. Skema Uji Antiproliferasi



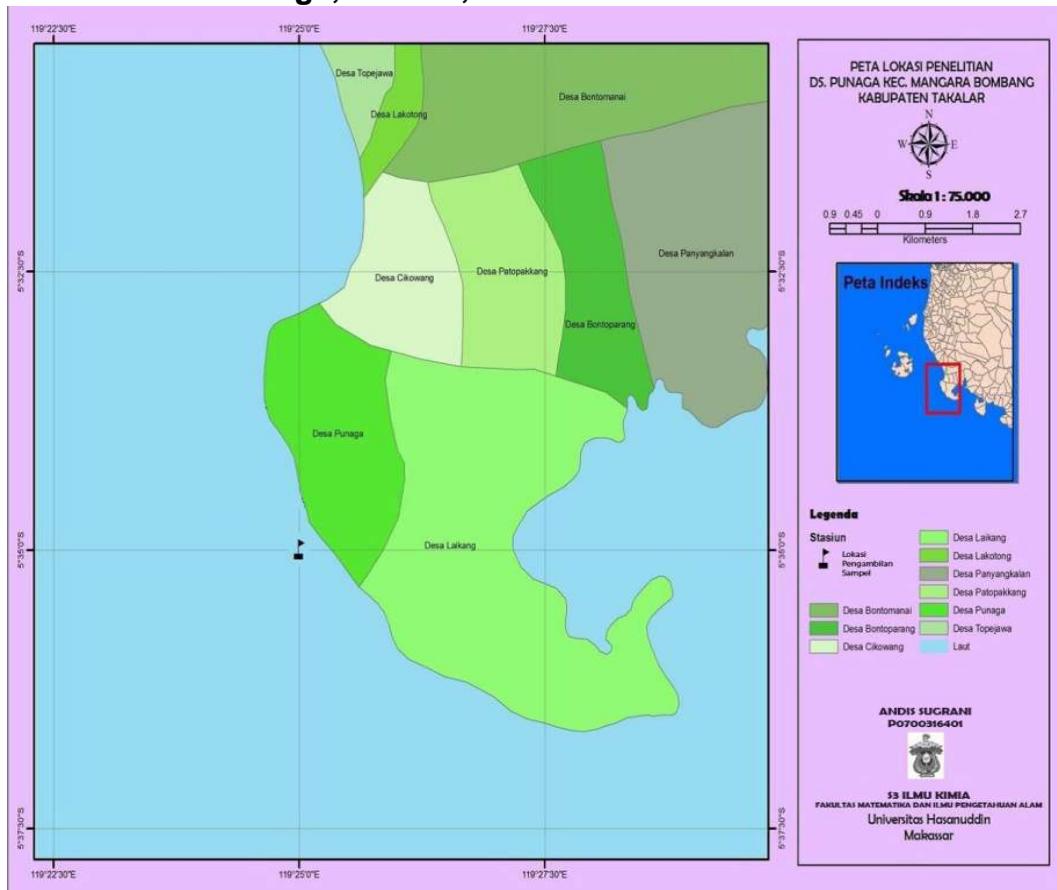
Lampiran 22. Skema kerja hidrolisis

Lampiran 23. Pembuatan Larutan Buffer

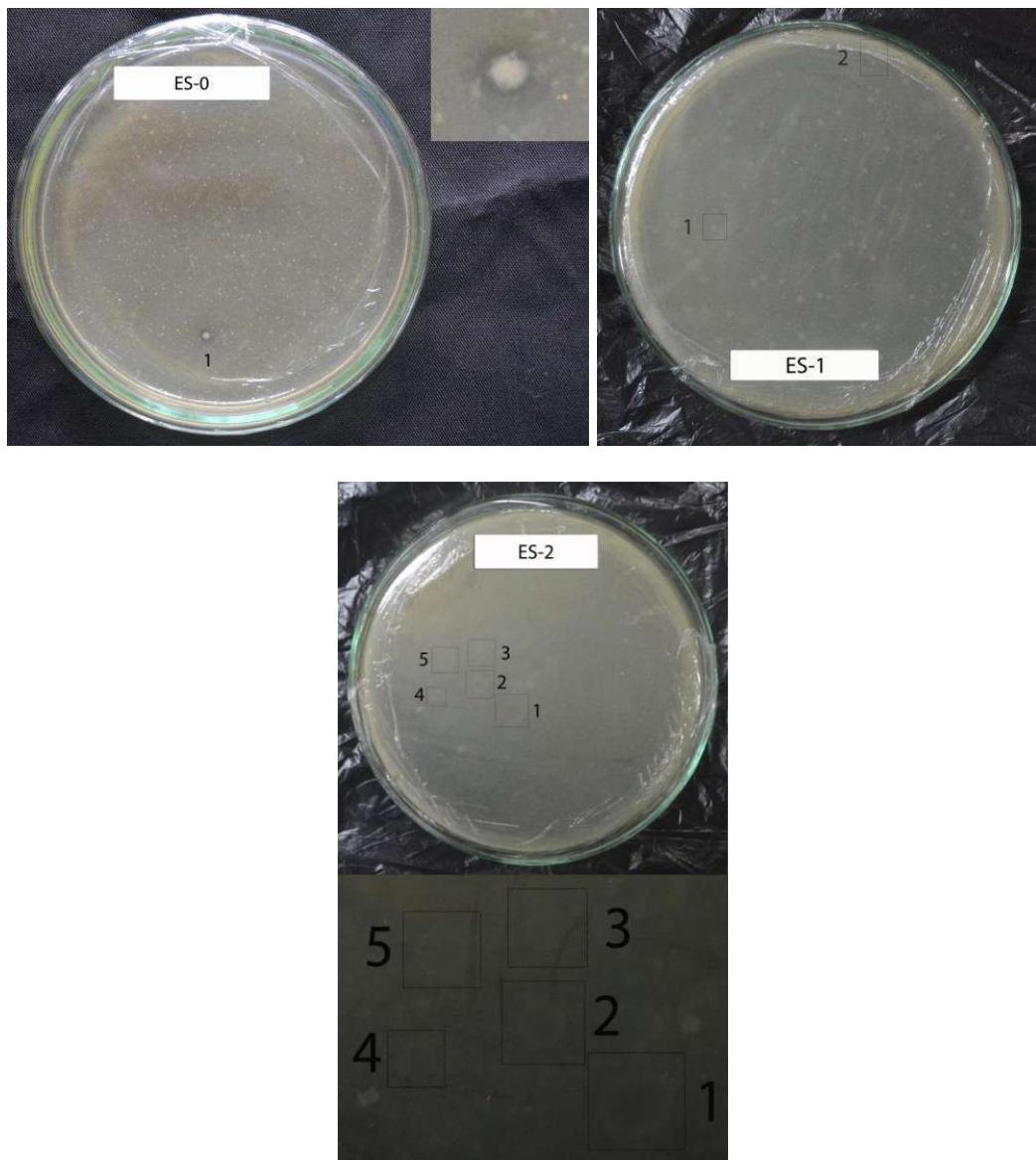
- A. Pembuatan Larutan Buffer A (Tris-HCl 0,1 M pH 8,3; NaCl 2M; CaCl₂ 0,01 M, β-mercaptoetanol 1%, Triton X-100 0,5%)
1. Ditimbang 6,05 gram Tris Hidroksimetil aminometana ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) lalu dilarutkan dengan aquades sampai 125 mL,
 2. Kedalam 125 mL larutan Tris Hidroksimetil aminometana 0,4 M ditambahkan HCl 2M sedikit demi sedikit sambil diatur pHnya sampai mencapai 8,3,
 3. Selanjutnya ditambahkan NaCl sebanyak 58,5 gram dan 0,555 gram CaCl₂, β-mercaptoetanol 5mL, Triton X-100 2,5mL dan dicukupkan volumenya sampai 500 mL dengan aquades.
- B. Pembuatan Larutan Buffer B (Tris-HCl 0,1 M pH 8,3; NaCl 2M; CaCl₂ 0,01 M)
1. Ditimbang 6,05 gram Tris Hidroksimetil aminometana ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) lalu dilarutkan dengan aquades sampai 125 mL,
 2. Kedalam 125 mL larutan Tris Hidroksimetil aminometana 0,4 M ditambahkan HCl 2M sedikit demi sedikit sambil diatur pHnya sampai mencapai 8,3,
 3. Selanjutnya ditambahkan NaCl sebanyak 5,85 gram dan 0,555 gram CaCl₂ dan dicukupkan volumenya sampai 500 mL dengan aquades.
- C. Pembuatan Larutan Buffer C (Tris-HCl 0,1 M pH 8,3; NaCl 2M; CaCl₂ 0,01 M)
1. Ditimbang 0,605 gram Tris Hidroksimetil aminometana ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) lalu dilarutkan dengan aquades sampai 125 mL,
 2. Kedalam 125 mL larutan Tris Hidroksimetil aminometana 0,04 M ditambahkan HCl 2M sedikit demi sedikit sambil diatur pHnya sampai mencapai 8,3,
- Selanjutnya ditambahkan NaCl sebanyak 5,85 gram dan 0,555 gram CaCl₂ dan dicukupkan volumenya sampai 500 mL dengan aquades.



Lampiran 24. Lokasi pengambilan sampel alga *E. spinosum* Perairan Punaga, Takalar, Sulawesi selatan



Optimization Software:
www.balesio.com

Lampiran 25. Pertumbuhan isolat bakteri

Lampiran 26. Perhitungan Kadar/Konsentrasi Protein, Hidrolisat Protein dan Peptida

A. Perhitungan kadar/konsentrasi protein dari ekstrak kasar dan fraksi protein alga *E. Spinosum*

Tabel hasil pengukuran Absorban A280 dan A260 dari Protein Alga

Fraksi	Kode	A 280nm				A 260nm			
		Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata-rata	Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata-rata
Ekstrak	P	0,102	0,102	0,101	0,102	0,148	0,147	0,148	0,148
0-20%	PA	0,31	0,309	0,309	0,309	0,265	0,265	0,266	0,265
20-40%	PB	0,43	0,429	0,431	0,430	0,329	0,327	0,329	0,328
40-60%	PC	0,237	0,239	0,237	0,238	0,22	0,22	0,22	0,220
60-80%	PD	0,123	0,121	0,122	0,122	0,116	0,116	0,116	0,116

Absorban yang didapatkan dihitung menggunakan rumus berikut

$$C = [(1,55 \times A280) - (0,76 \times A260)] \times FP$$

Keterangan

C = Konsentrasi (mg/mL)

A280 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 280$ nm)

A260 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 260$ nm)

FP = Faktor pengenceran

Hasilnya ditabulasikan pada table berikut:

Tabel Hasil perhitungan Kadar / Konsentrasi Protein dari Alga

Fraksi	Kode	1,55 x A280	0,76 x A260	C (mg/mL)	FP	Konsentrasi Akhir (mg/mL)
Ekstrak	P	0,158	0,113	0,045	100x	4,450
0-20%	PA	0,479	0,202	0,278	100x	27,781
20-40%	PB	0,667	0,250	0,417	100x	41,697
40-60%	PC	0,368	0,167	0,201	100x	20,118
60-80%	PD	0,189	0,088	0,101	100x	10,094



B. Perhitungan kadar/konsentrasi protein ekstrak kasar dan fraksi protein bakteri endofit *Vibrio sp. strain ES25*

Tabel hasil pengukuran Absorban A280 dan A260 dari Protein Bakteri endofit

Fraksi	Kode	A 280nm				A 260nm			
		Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata	Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata
Ekstrak	Q	0,321	0,322	0,321	0,321	0,499	0,499	0,499	0,499
0-20%	QA	0,254	0,255	0,251	0,253	0,263	0,263	0,26	0,262
20-40%	QB	0,904	0,903	0,901	0,903	0,774	0,774	0,77	0,773
40-60%	QC	0,173	0,173	0,173	0,173	0,264	0,265	0,264	0,264
60-80%	QD	0,105	0,108	0,108	0,107	0,184	0,187	0,185	0,185

Absorban yang didapatkan dihitung menggunakan rumus berikut

$$C = [(1,55 \times A280) - (0,76 \times A260)] \times FP$$

Keterangan

C = Konsentrasi (mg/mL)

A280 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 280$ nm)

A260 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 260$ nm)

FP = Faktor pengenceran

Hasilnya ditabulasikan pada table berikut:

Tabel Hasil perhitungan Kadar / Konsentrasi Protein dari Bakteri Endofit

Fraksi	Kode	1,55 x A280	0,76 x A260	C (mg/mL)	FP	Konsentrasi Akhir (mg/mL)
Ekstrak	Q	0,498	0,379	0,119	100x	11,883
0-20%	QA	0,393	0,199	0,194	100x	19,355
20-40%	QB	1,399	0,587	0,812	100x	81,191
40-60%	QC	0,268	0,201	0,067	100x	6,726
60-80%	QD	0,166	0,141	0,025	100x	2,500



C. Perhitungan Kadar/Konsentrasi Hidrolisat Protein Alga *E. spinosum*

Tabel hasil pengukuran Absorban A280 dan A260 Hidrolisat Protein Alga

Hidrolisat	Kode	A 280nm				A 260nm			
		Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata	Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata
Tripsin-pepsin	PA3	3,75	3,746	3,727	3,741	3,801	3,809	3,800	3,803
Tripsin	PA2	1,565	1,563	1,565	1,564	1,452	1,452	1,452	1,452
Pepsin	PA1	3,665	3,677	3,664	3,669	3,777	3,779	3,778	3,778

Absorban yang didapatkan dihitung menggunakan rumus berikut

$$C = [(1,55 \times A280) - (0,76 \times A260)] \times FP$$

Keterangan

C = Konsentrasi (mg/mL)

A280 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 280$ nm)

A260 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 260$ nm)

FP = Faktor pengenceran

Hasilnya ditabulasikan pada table berikut:

Tabel Hasil perhitungan Kadar / Konsentrasi Hidrolisat Protein dari Alga

Hidrolisit	Kode	1,55 x A280	0,76 x A260	C (mg/mL)	FP	Konsentrasi Akhir (mg/mL)
Tripsin-pepsin	PA3	5,799	2,891	2,908	2 x	5,816
Tripsin	PA2	2,425	1,104	1,321	2 x	2,642
Pepsin	PA1	5,686	2,872	3,932	2 x	7,863



D. Perhitungan Kadar/Konsentrasi Hidrolisat Protein Bakteri Endofit simbion *Vibrio sp.* strain ES25

Tabel hasil pengukuran Absorban A280 dan A260 Hidrolisat Protein Bakteri Endofit simbion *Vibrio sp.* strain ES25

Hidrolisat	Kode	A 280nm				A 260nm			
		Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata	Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata
Tripsin-pepsin	QA3	1,567	1,569	1,569	1,568	1,461	1,463	1,461	1,462
Tripsin	QA2	0,687	0,687	0,688	0,687	0,791	0,791	0,793	0,792
Pepsin	QA1	1,117	1,116	1,118	1,117	1,044	1,044	1,046	1,045

Absorban yang didapatkan dihitung menggunakan rumus berikut

$$C = [(1,55 \times A280) - (0,76 \times A260)] \times FP$$

Keterangan

C = Konsentrasi (mg/mL)

A280 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 280$ nm)

A260 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 260$ nm)

FP = Faktor pengenceran

Hasilnya ditabulasikan pada table berikut:

Tabel Hasil perhitungan Kadar / Konsentrasi Hidrolisat Protein Bakteri Endofit simbion *Vibrio sp.* strain ES25

Hidrolisit	Kode	1,55 x A280	0,76 x A260	C (mg/mL)	FP	Konsentrasi Akhir (mg/mL)
Tripsin-Pepsin	QA3	2,431	1,111	1,320	5 x	6,600
Tripsin	QA2	1,065	0,602	0,464	5 x	2,319
Pepsin	QA1	1,731	0,794	0,937	5 x	4,687



E. Perhitungan Kadar/Konsentrasi Peptida dari Alga *E. spinosum*

Tabel hasil pengukuran Absorban A280 dan A260 Peptida dari Alga

Peptida	Kode	A 280nm				A 260nm			
		Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata	Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata
< 3 kDa	PA1d	0,083	0,083	0,08	0,082	0,099	0,101	0,102	0,101
3-5 kDa	PA1c	0,032	0,032	0,031	0,032	0,031	0,03	0,031	0,031
5-10 kDa	PA1b	0,072	0,067	0,067	0,069	0,071	0,068	0,068	0,069
> 10 kDa	PA1a	0,104	0,103	0,103	0,103	0,081	0,086	0,086	0,084

Absorban yang didapatkan dihitung menggunakan rumus berikut

$$C = [(1,55 \times A280) - (0,76 \times A260)] \times FP$$

Keterangan

C = Konsentrasi (mg/mL)

A280 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 280$ nm)

A260 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 260$ nm)

FP = Faktor pengenceran

Hasilnya ditabulasikan pada table berikut:

Tabel Hasil perhitungan Kadar / Konsentrasi Peptida dari Alga

Hidrolisit	Kode	1,55 x A280	0,76 x A260	C (mg/mL)	FP	Konsentrasi Akhir (mg/mL)
< 3 kDa	PA1d	0,127	0,077	0,051	100x	5,059
3-5 kDa	PA1c	0,049	0,023	0,026	100x	2,578
5-10 kDa	PA1b	0,106	0,052	0,054	100x	5,399
> 10 kDa	PA1a	0,160	0,076	0,058	100x	5,750



F. Perhitungan Kadar/Konsentrasi Peptida dari Bakteri Endofit simbion *Vibrio sp. strain ES25*

Tabel hasil pengukuran Absorban A280 dan A260 Peptida dari Bakteri endofit

Peptida	Kode	A 280nm				A 260nm			
		Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata	Peng. 1	Peng. 2	Peng. 3	Rata- rata
< 3 kDa	QA1d	0,027	0,027	0,028	0,027	0,032	0,033	0,031	0,032
3-5 kDa	QA1c	0,036	0,037	0,035	0,036	0,038	0,040	0,039	0,039
5-10 kDa	QA1b	0,031	0,035	0,032	0,033	0,032	0,033	0,032	0,032
> 10 kDa	QA1a	0,046	0,047	0,046	0,046	0,048	0,048	0,047	0,048

Absorban yang didapatkan dihitung menggunakan rumus berikut

$$C = [(1,55 \times A280) - (0,76 \times A260)] \times FP$$

Keterangan

C = Konsentrasi (mg/mL)

A280 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 280$ nm)

A260 = Absorban dari pengukuran pada ($\lambda = 260$ nm)

FP = Faktor pengenceran

Hasilnya ditabulasikan pada table berikut:

Tabel Hasil perhitungan Kadar / Konsentrasi Peptida dari Bakteri endofit

Hidrolisit	Kode	1,55 x A280	0,76 x A260	C (mg/mL)	FP	Konsentrasi Akhir (mg/mL)
< 3 kDa	QA1d	0,042	0,024	0,018	100x	1,805
3-5 kDa	QA1c	0,056	0,030	0,026	100x	2,616
5-10 kDa	QA1b	0,051	0,025	0,026	100x	2,606
> 10 kDa	QA1a	0,072	0,036	0,036	100x	3,559



Lampiran 27. Perhitungan LC₅₀ Isolat bakteri simbion

Kode Fraksi	K (ppm)	Larva Mati			RLM	M (%)	Nilai Probit	Persamaan Regresi	LC50 (ppm)	Kategori Toksisitas		
ES01	10	0	0	2	0,67	3	3,12	$y = 1,88x + 1,6167$	63,019	Toksisik		
	100	9	9	9	9,00	87	6,13					
	1000	10	10	10	10,00	97	6,88					
ES11	10	3	3	3	3,00	27	4,39	$y = 1,245x + 2,8233$	56,021	Toksisik		
	100	2	5	5	4,00	37	4,67					
	1000	10	10	10	10,00	97	6,88					
ES21	10	1	2	2	1,67	13	3,87	$y = 1,505x + 2,3$	62,233	Toksisik		
	100	5	6	7	6,00	57	5,18					
	1000	10	10	10	10,00	97	6,88					
ES25	10	2	2	2	2,00	17	4,05	$y = 1,415x + 2,7267$	40,418	Toksisik		
	100	6	9	9	8,00	77	5,74					
	1000	10	10	10	10,00	97	6,88					
Kontrol	10	0	0	1	0,33	Rata-rata Kontrol mati (RKM) = 0,33			Total Larva awal (TL) = 10			
	100	0	0	1	0,33							
	1000	0	0	1	0,33							

Keterangan:

K = Konsentrasi

RLM = Rata-rata larva mati

RKM = Rata-rata Kontrol mati

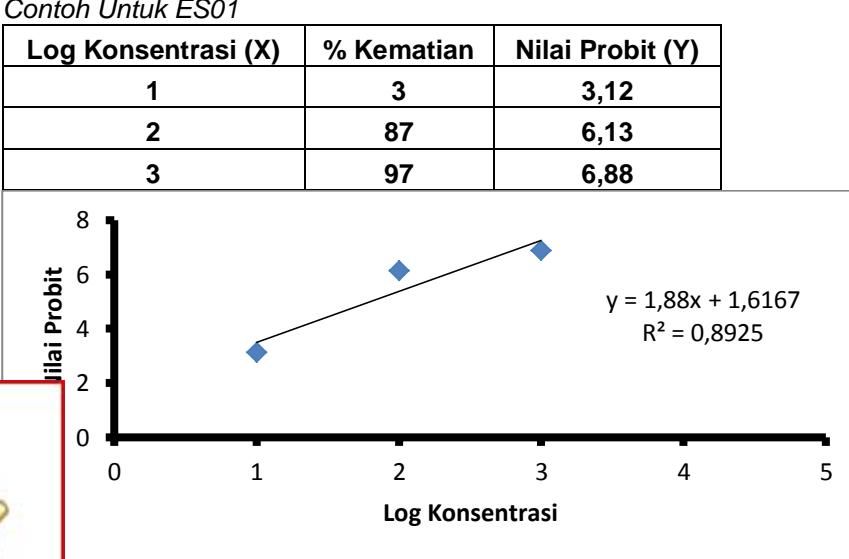
TL = Total Larva awal

M = Persen Kematian

LC₅₀ = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian 50%

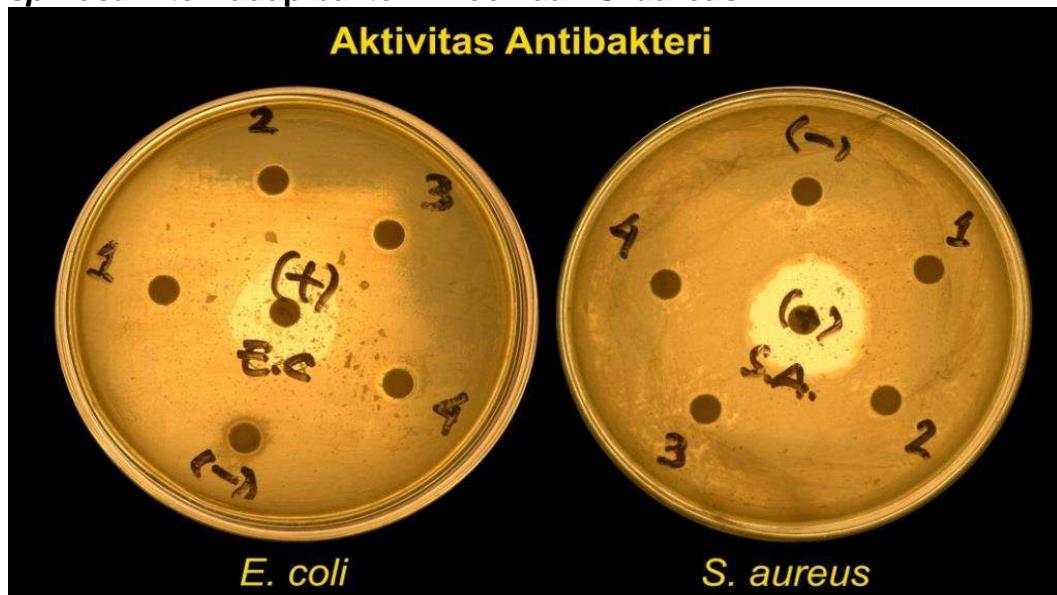
Cara perhitungan

- $\% M = \frac{\sum RLM - \sum RKM}{\sum TL} \times 100\%$
- Nilai probit diperoleh dari table probit berdasarkan % kematian (M)
- Persamaan regresi diperoleh dengan menghubungkan nilai probit dengan log K



- LC_{50} diperoleh dari perhitungan menggunakan nilai regresi dengan mengganti $Y=5$, karena untuk mendapatkan kematian 50% diperoleh nilai probit = 5
Contoh untuk ES01
 Persamaan regresinya
 $y = 1,88x + 1,6$
 $x = \frac{y - 1,6}{1,88}$
 untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (y) = 5
 $x = \frac{5 - 1,6}{1,88}$
 $x = 1,799468$
 $\text{Log } LC_{50} = 1,799468$
 $LC_{50} = 63,019 \text{ ppm}$
- Hal yang sama dilakukan untuk ES11, ES21, dan ES25

Lampiran 28. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri alga *E. spinosum* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



Keterangan: (-) = Kontrol Negatif; (+) = Kontrol Positif; 1 = Isolat Bakteri ES01; 2 = Isolat Bakteri ES1; 3 = Isolat Bakteri ES21; dan 4 = Isolat Bakteri ES25



Lampiran 29. Perhitungan LC₅₀ Fraksi protein Alga *E. spinosum*

Kode Fraksi	K (ppm)	Larva Mati			RLM	M (%)	Nilai Probit	Persamaan Regresi	LC50 (ppm)	Kategori Toksisitas		
P	1	0	0	1	0,33	0	0	$y = 3,14x + 0,4733$	27,645	ToksiK		
	10	3	3	5	3,67	33	4,56					
	100	9	9	10	9,33	90	6,28					
PD	1	0	0	2	0,67	3	3,12	$y = 1,88x + 2,6933$	16,864	Sangat ToksiK		
	10	0	1	3	1,33	10	3,72					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
PC	1	0	1	2	1,00	7	3,52	$y = 1,38x + 3,3067$	16,867	Sangat ToksiK		
	10	3	3	2	2,67	23	4,26					
	100	9	9	10	9,33	90	6,28					
PB	1	3	3	2	2,67	23	4,26	$y = 1,31x + 3,8667$	7,330	Sangat ToksiK		
	10	3	3	3	3,00	27	4,39					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
PA	1	0	1	2	1,00	7	3,52	$y = 1,68x + 3,3433$	9,686	Sangat ToksiK		
	10	4	4	4	4,00	37	4,67					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
Kontrol	1	0	0	1	0,33	Rata-rata Kontrol mati (RKM) = 0,33			Total Larva awal (TL) = 10			
	10	0	0	1	0,33							
	100	0	0	1	0,33							

Keterangan:

K = Konsentrasi

RLM = Rata-rata larva mati

RKM = Rata-rata Kontrol mati

TL = Total Larva awal

M = Persen Kematian

LC₅₀ = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian 50%

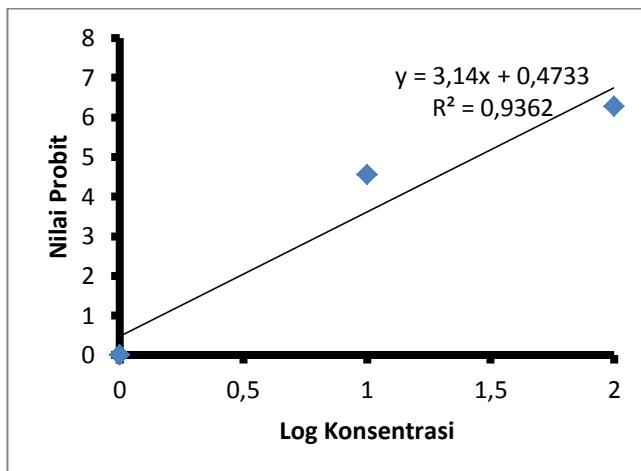
Cara perhitungan

- $\% M = \frac{\sum RLM - \sum RKH}{\sum TL} \times 100\%$
- Nilai probit diperoleh dari table probit berdasarkan % kematian (M)
- Persamaan regresi diperoleh dengan menghubungkan nilai probit dengan log K

Contoh Untuk P (Ekstrak Kasar)

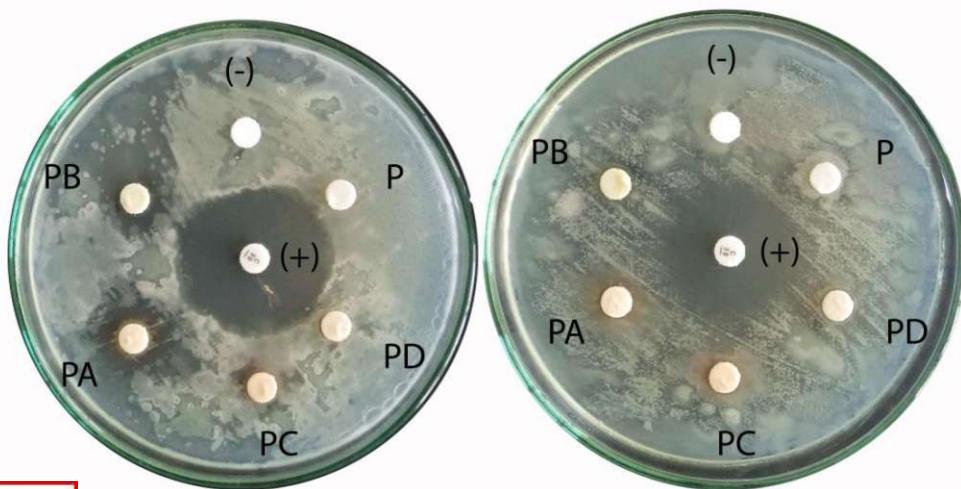
Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	0	0
1	33	4,56
2	90	6,28





- LC₅₀ diperoleh dari perhitungan menggunakan nilai regresi dengan mengganti Y=5, karena untuk mendapatkan kematian 50% diperoleh nilai probit = 5
Contoh untuk P (Ekstrak kasar)
 Persamaan regresinya
 $y = 3,14x + 0,47$
 $x = \frac{y - 0,47}{3,14}$
 untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (y) = 5
 $x = \frac{5 - 0,47}{3,14}$
 $x = 1,441624$
 $\text{Log LC}_{50} = 1,441624$
 $\text{LC}_{50} = 27,645 \text{ ppm}$
- Hal yang sama dilakukan untuk fraksi protein yang lain PD, PC, PB dan PA

Lampiran 30. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi protein alga *E. spinosum* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



Lampiran 31. Perhitungan LC₅₀ Fraksi protein bakteri endofit simbion *Vibrio sp. strain ES25*

Kode Fraksi	K (ppm)	Larva Mati			RLM	M (%)	Nilai Probit	Persamaan Regresi	LC50 (ppm)	Kategori Toksisitas		
Q	1	2	4	4	3,33	30	4,48	$y = 1,2x + 4,17$	4,917	Sangat Toksik		
	10	4	4	5	4,33	40	4,75					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
QD	1	2	2	2	2,00	17	4,05	$y = 1,415x + 3,8117$	6,915	Sangat Toksik		
	10	3	3	7	4,33	40	4,75					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
QC	1	2	2	3	2,33	20	4,17	$y = 1,355x + 4,1683$	4,110	Sangat Toksik		
	10	7	7	8	7,33	70	5,52					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
QB	1	3	3	4	3,33	30	4,48	$y = 1,2x + 4,5333$	2,449	Sangat Toksik		
	10	7	9	9	8,33	80	5,84					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
QA	1	2	2	2	2,00	17	4,05	$y = 1,415x + 4,3217$	3,016	Sangat Toksik		
	10	9	9	10	9,33	90	6,28					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
Kontrol	1	0	0	1	0,33	Rata-rata Kontrol mati (RKM) = 0,33			Total Larva awal (TL) = 10			
	10	0	0	1	0,33							
	100	0	0	1	0,33							

Keterangan:

K = Konsentrasi

RLM = Rata-rata larva mati

RKM = Rata-rata Kontrol mati

TL = Total Larva awal

M = Persen Kematian

LC₅₀ = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian 50%

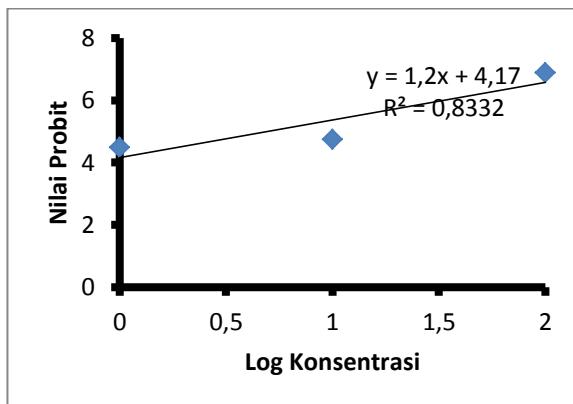
Cara perhitungan

- $\% M = \frac{\sum RLM - \sum RKH}{\sum TL} \times 100\%$
- Nilai probit diperoleh dari table probit berdasarkan % kematian (M)
- Persamaan regresi diperoleh dengan menghubungkan nilai probit dengan log K

Contoh Untuk Q (Ekstrak Kasar)

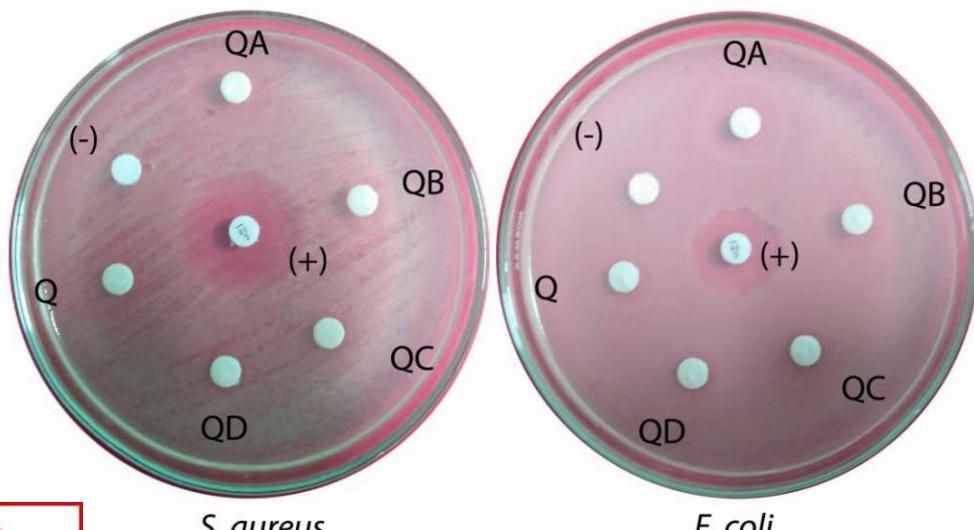
Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	30	4,48
1	40	4,75
2	97	6,88





- LC₅₀ diperoleh dari perhitungan menggunakan nilai regresi dengan mengganti Y=5, karena untuk mendapatkan kematian 50% diperoleh nilai probit = 5
Contoh untuk P (Ekstrak kasar)
 Persamaan regresinya
 $y = 1,2x + 4,17$
 $x = \frac{y - 4,17}{1,2}$
 untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (y) = 5
 $x = \frac{5 - 4,17}{1,2}$
 $x = 0,691667$
 $\text{Log LC}_{50} = 0,691667$
 $\text{LC}_{50} = 4,917 \text{ ppm}$
- Hal yang sama dilakukan untuk fraksi protein yang lain QD, QC, QB dan QA

Lampiran 32. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi protein bakteri endofit simbion *Vibrio sp.* strain ES25 terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



Penjelasan: (-) = Kontrol Negatif; (+) = Kontrol Positif; Q = Ekstrak Kasar; QA = Fraksi protein 20%; QB = Fraksi protein 20-40%; QC = Fraksi protein 40-60%; dan QD = Fraksi protein 60-80%.

Lampiran 33. Perhitungan LC₅₀ hidrolisat protein dari alga *E. spinosum*

Kode Fraksi	K (ppm)	Larva Mati			RLM	M (%)	Nilai Probit	Persamaan Regresi	LC50 (ppm)	Kategori Toksisitas		
PA3	1	0	1	2	1,00	7	3,52	$y = 1,68x + 3,6$	6,813	Sangat Toksik		
	10	6	7	8	7,00	67	5,44					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
PA2	1	0	1	1	0,67	3	3,12	$y = 1,88x + 3,1467$	9,678	Sangat Toksik		
	10	6	6	5	5,67	53	5,08					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
PA1	1	5	5	4	4,67	43	4,82	$y = 1,03x + 4,6467$	2,203	Sangat Toksik		
	10	6	7	7	6,67	63	5,33					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
Kontrol	1	0	0	1	0,33	Rata-rata Kontrol mati (RKM) = 0,33			Total Larva awal (TL) = 10			
	10	0	0	1	0,33							
	100	0	0	1	0,33							

Keterangan:

K = Konsentrasi

RLM = Rata-rata larva mati

RKM = Rata-rata Kontrol mati

TL = Total Larva awal

M = Persen Kematian

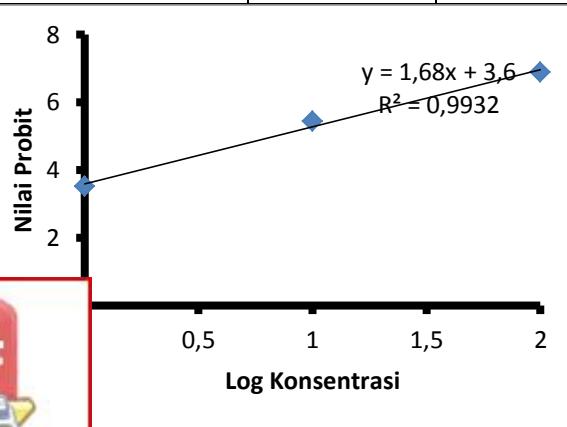
LC₅₀ = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian 50%

Cara perhitungan

- $\% M = \frac{\sum RLM - \sum RKM}{\sum TL} \times 100\%$
- Nilai probit diperoleh dari table probit berdasarkan % kematian (M)
- Persamaan regresi diperoleh dengan menghubungkan nilai probit dengan log K

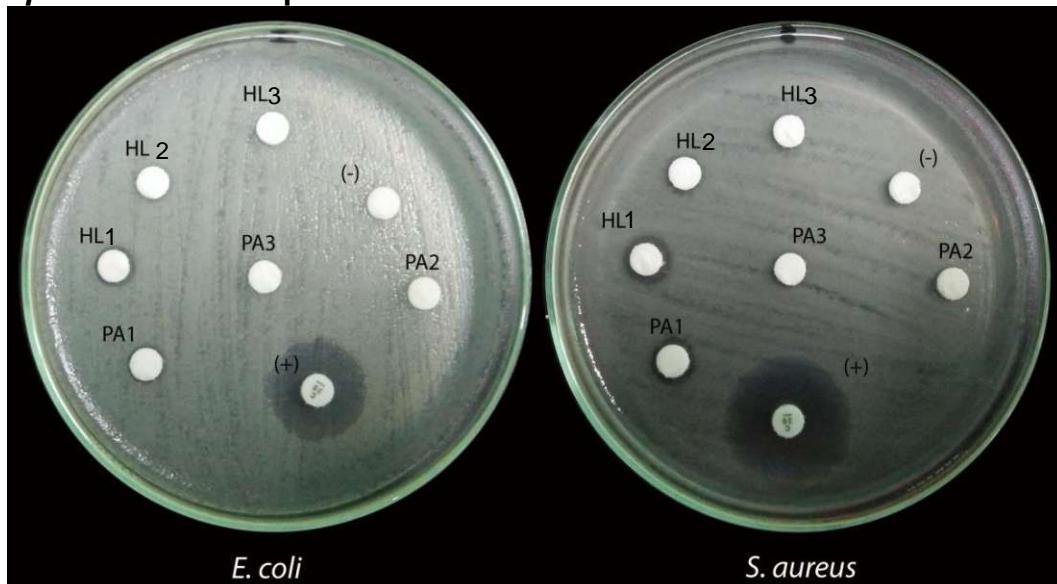
Contoh Untuk PA3 (Hidrolisat tripsin-pepsin)

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	7	3,52
1	67	5,44
2	97	6,88



- LC₅₀ diperoleh dari perhitungan menggunakan nilai regresi dengan mengganti Y=5, karena untuk mendapatkan kematian 50% diperoleh nilai probit = 5
Contoh untuk PA3 (Hidrolisat tripsin-pepsin)
 Persamaan regresinya
 $y = 1,68x + 3,6$
 $x = \frac{y - 3,6}{1,68}$
 untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (y) = 5
 $x = \frac{5 - 3,6}{1,68}$
 $x = 0,833333$
 $\log LC_{50} = 0,833333$
 $LC_{50} = 6,813 \text{ ppm}$
- Hal yang sama dilakukan untuk fraksi protein yang lain PA2 dan PA1

Lampiran 34. Hasil uji aktivitas antibakteri hidrolisat protein alga *E. spinosum* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



Keterangan: (-) = Kontrol Negatif; (+) = Kontrol Positif; PA1=Hidrolisis dengan pepsin; PA2=Hidrolisis dengan tripsin; PA3=Hidrolisis gabungan; HL1= Hidrolisis fraksi 20-40% dengan pepsin, HL2= Hidrolisis fraksi 20-40% dengan tripsin, HL3= Hidrolisis fraksi 20-40% dengan tripsin-pepsin.



Lampiran 35. Perhitungan LC₅₀ hidrolisat protein dari bakteri endofit simbion alga *Vibrio sp. strain ES25*

Kode Fraksi	K (ppm)	Larva Mati			RLM	M (%)	Nilai Probit	Persamaan Regresi	LC50 (ppm)	Kategori Toksisitas		
QA3	1	1	1	2	1,33	10	3,72	$y = 0,945x + 3,515$	37,276	Toksi		
	10	1	1	4	2,00	17	4,05					
	100	6	8	9	7,67	73	5,61					
QA2	1	0	0	2	0,67	3	3,12	$y = 0,68x + 3,0267$	797,833	Lemah		
	10	0	0	3	1,00	7	3,52					
	100	3	3	4	3,33	30	4,48					
QA1	1	1	2	3	2,00	17	3,52	$y = 1,68x + 3,1767$	12,170	Sangat Toksi		
	10	1	3	3	2,33	20	4,17					
	100	10	10	10	10,00	97	6,88					
Kontrol	1	0	0	1	0,33	Rata-rata Kontrol mati (RKM) = 0,33			Total Larva awal (TL) = 10			
	10	0	0	1	0,33							
	100	0	0	1	0,33							

Keterangan:

K = Konsentrasi

RLM = Rata-rata larva mati

RKM = Rata-rata Kontrol mati

TL = Total Larva awal

M = Persen Kematian

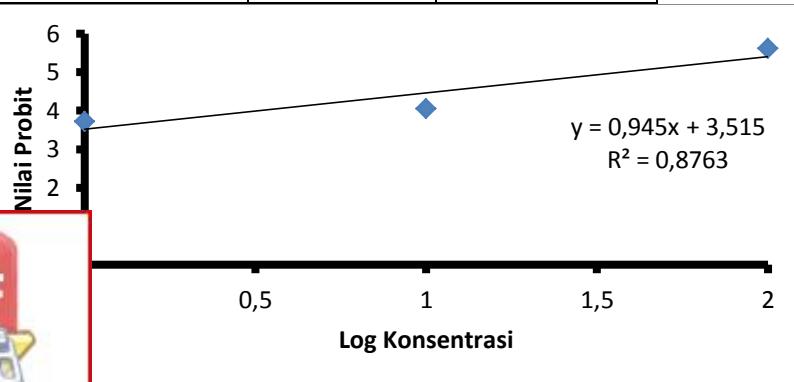
LC₅₀ = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian 50%

Cara perhitungan

- $\% M = \frac{\sum RLM - \sum RKH}{\sum TL} \times 100\%$
- Nilai probit diperoleh dari table probit berdasarkan % kematian (M)
- Persamaan regresi diperoleh dengan menghubungkan nilai probit dengan log K

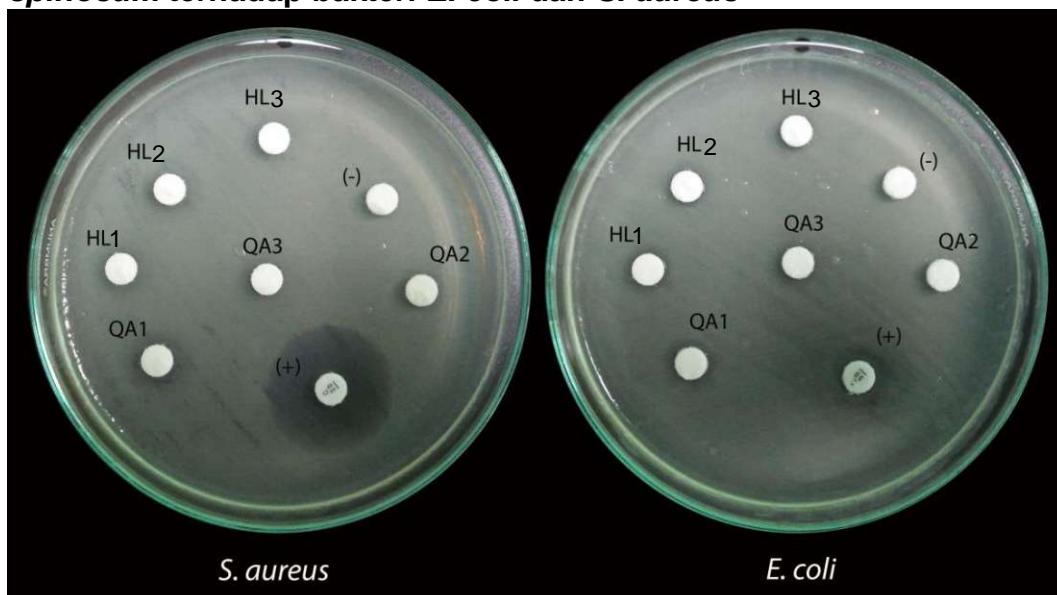
Contoh Untuk QA3 (Hidrolisat trypsin-pepsin)

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	10	3,72
1	17	4,05
2	73	5,61



- LC_{50} diperoleh dari perhitungan menggunakan nilai regresi dengan mengganti $Y=5$, karena untuk mendapatkan kematian 50% diperoleh nilai probit = 5
Contoh untuk QA3 (Hidrolisat tripsin-pepsin)
 Persamaan regresinya
 $y = 0,945x + 3,515$
 $x = \frac{y - 3,515}{0,945}$
 untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (y) = 5
 $x = \frac{5 - 3,515}{0,945}$
 $x = 1,571429$
 $\log LC_{50} = 1,571429$
 $LC_{50} = 37,276 \text{ ppm}$
- Hal yang sama dilakukan untuk fraksi protein yang lain QA2 dan QA1

Lampiran 36. Hasil uji aktivitas antibakteri hidrolisat protein alga *E. spinosum* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



Keterangan: (-) = Kontrol Negatif; (+) = Kontrol Positif; QA1=Hidrolisis dengan pepsin; QA2=Hidrolisis dengan tripsin; QA3=Hidrolisis tripsin-pepsin; HL1= Hidrolisis fraksi 20-40% dengan pepsin, HL2= Hidrolisis fraksi 20-40% dengan tripsin, HL1= Hidrolisis fraksi 20-40% dengan tripsin-pepsin



Lampiran 37. Perhitungan LC₅₀ peptida dari alga *E. spinosum*

Kode Fraksi	K (ppm)	Larva Mati			RLM	M (%)	Nilai Probit	Persamaan Regresi	LC50 (ppm)	Kategori Toksisitas		
PA1a	1	0	2	3	1,7	39	4,72	$y = 0,305x + 4,6283$	16,546	Sangat Toksik		
	10	0	3	3	2,0	40	4,75					
	100	10	10	10	10,0	63	5,33					
PA1b	1	0	1	1	0,67	30	4,48	$y = 0,68x + 4,3167$	10,287	Sangat Toksik		
	10	1	2	3	2,00	37	4,67					
	100	5	6	10	7,00	80	5,84					
PA1c	1	0	3	4	4,00	41	4,77	$y = 0,335x + 4,795$	4,092	Sangat Toksik		
	10	2	4	5	5,00	57	5,18					
	100	6	6	8	8,00	67	5,44					
PA1d	1	0	2	3	1,67	47	4,92	$y = 0,78x + 4,8067$	1,769	Sangat Toksik		
	10	1	2	3	2,00	64	5,36					
	100	6	9	10	8,33	93	6,48					
Kontrol	1	0	0	1	0,33	Rata-rata Kontrol mati (RKM) = 0,33			Total Larva awal (TL) = 10			
	10	0	0	1	0,33							
	100	0	0	1	0,33							

Keterangan:

K = Konsentrasi

RLM = Rata-rata larva mati

RKM = Rata-rata Kontrol mati

TL = Total Larva awal

M = Persen Kematian

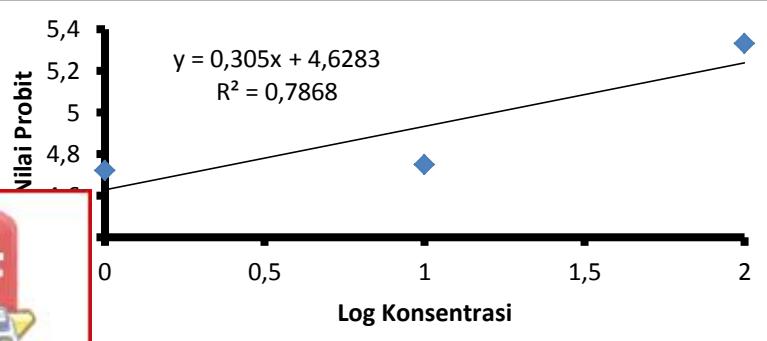
LC₅₀ = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian 50%

Cara perhitungan

- $\% M = \frac{\sum RLM - \sum RKM}{\sum TL} \times 100\%$
- Nilai probit diperoleh dari table probit berdasarkan % kematian (M)
- Persamaan regresi diperoleh dengan menghubungkan nilai probit dengan log K

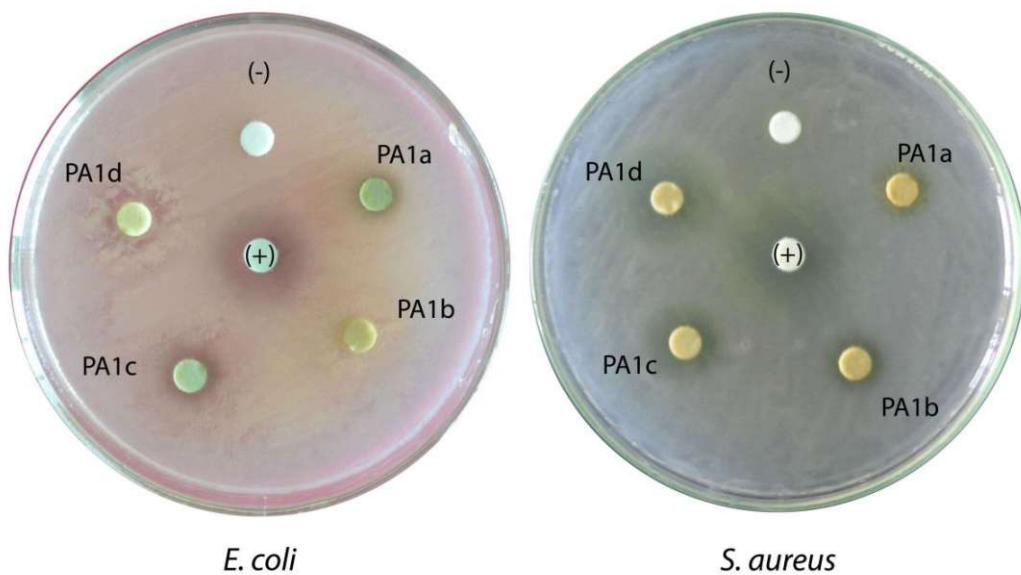
Contoh Untuk PA1a (Peptida >10kDa)

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	39	4,72
1	40	4,75
2	63	5,33



- LC₅₀ diperoleh dari perhitungan menggunakan nilai regresi dengan mengganti Y=5, karena untuk mendapatkan kematian 50% diperoleh nilai probit = 5
Contoh untuk PA1a (Peptida >10kDa)
 Persamaan regresinya
 $y = 0,305x + 4,6283$
 $x = \frac{y - 4,6283}{0,305}$
 untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (y) = 5
 $x = \frac{5 - 4,6283}{0,305}$
 $x = 1,218689$
 $\text{Log LC}_{50} = 1,218689$
 $\text{LC}_{50} = 16,546 \text{ ppm}$
- Hal yang sama dilakukan untuk fraksi protein yang lain PA1b, PA1c dan PA1d

Lampiran 38. Hasil uji aktivitas antibakteri peptida dari alga *E. spinosum* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



Keterangan: (-) = Kontrol Negatif; (+) = Kontrol Positif; PA1a = Peptida > 10 kDa; PA1b = Peptida 5-10 kDa; PA1c = Peptida 3-5 kDa; dan PA1d = Peptida < 3 kDa

Lampiran 39. Perhitungan LC₅₀ peptida dari bakteri endofit simbion *Vibrio sp. strain ES25*

Kode Fraksi	K (ppm)	Larva Mati			RLM	M (%)	Nilai Probit	Persamaan Regresi	LC50 (ppm)	Kategori Toksisitas		
QA1a	1	0	3	4	4,00	30	4,48	$y = 0,04x + 4,4667$	>1000	Tidak Toksik		
	10	2	4	5	5,00	30	4,48					
	100	6	6	8	8,00	33	4,56					
QA1b	1	0	0	2	0,67	38	4,69	$y = 0,155x + 4,6117$	320,008	Sedang		
	10	0	2	4	2,00	35	4,61					
	100	10	10	10	10,00	50	5,00					
QA1c	1	0	2	3	1,67	29	4,45	$y = 1,095x + 4,2417$	4,926	Sangat Toksik		
	10	1	2	3	2,00	47	4,92					
	100	6	9	10	8,33	95	6,64					
QA1d	1	0	1	1	0,67	55	5,13	$y = 0,675x + 4,9917$	1,029	Sangat Toksik		
	10	1	2	3	2,00	65	5,39					
	100	5	6	10	7,00	93	6,48					
Kontrol	1	1	0	2	1,00	Rata-rata Kontrol mati (RKM) = 1,00			Total Larva awal (TL) = 10			
	10	1	2	0	1,00							
	100	1	1	1	1,00							

Keterangan:

K = Konsentrasi

RLM = Rata-rata larva mati

RKM = Rata-rata Kontrol mati

TL = Total Larva awal

M = Persen Kematian

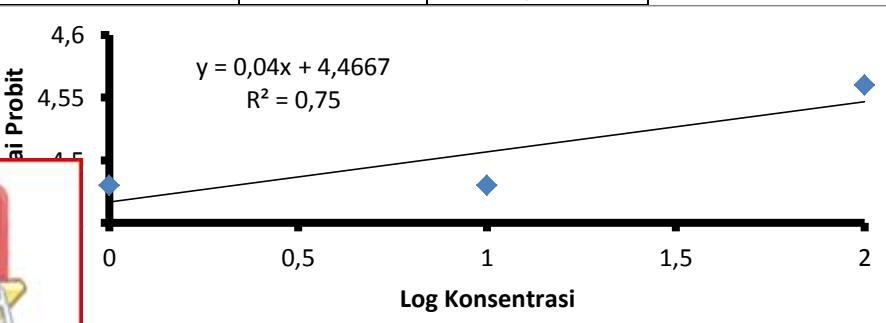
LC₅₀ = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian 50%

Cara perhitungan

- $\% M = \frac{\sum RLM - \sum RKM}{\sum TL} \times 100\%$
- Nilai probit diperoleh dari table probit berdasarkan % kematian (M)
- Persamaan regresi diperoleh dengan menghubungkan nilai probit dengan log K

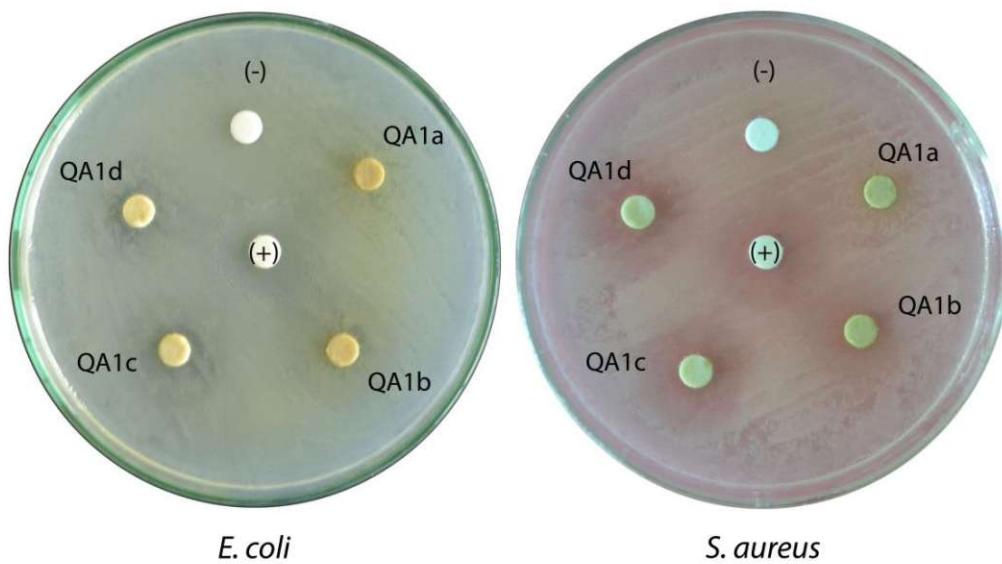
Contoh Untuk QA1a (Peptida >10kDa)

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	30	4,48
1	30	4,48
2	33	4,56



- LC_{50} diperoleh dari perhitungan menggunakan nilai regresi dengan mengganti $Y=5$, karena untuk mendapatkan kematian 50% diperoleh nilai probit = 5
Contoh untuk QA1a (Peptida >10kDa)
 Persamaan regresinya
 $y = 0,04x + 4,4667$
 $x = \frac{y - 4,4667}{0,04}$
 untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (y) = 5
 $x = \frac{5 - 4,4667}{0,04}$
 $x = 13,332500$
 $\text{Log } LC_{50} = 13,332500$
 $LC_{50} = > 1000 \text{ ppm}$
- Hal yang sama dilakukan untuk fraksi protein yang lain QA1b, QA1c dan QA1d

Lampiran 40. Hasil uji aktivitas antibakteri peptida dari bakteri endofit *Vibrio sp. strain ES25* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*



Keterangan: (-) = Kontrol Negatif; (+) = Kontrol Positif; QA1a = Peptida > 10 kDa; QA1b = Peptida 5-10 kDa; QA1c = Peptida 3-5 kDa; dan QA1d = Peptida < 3 kDa



Lampiran 41. Hasil Perhitungan IC₅₀ peptida < 3kDa dari alga dan bakteri endofit simbionnya

1. Perhitungan IC₅₀ untuk peptida <3kDa dari bakteri (QA1d)

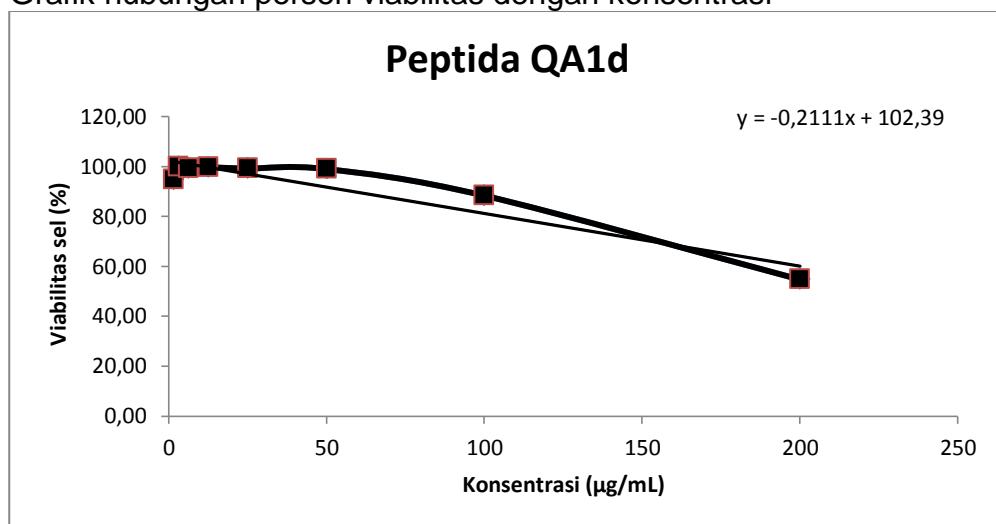
Tabel hasil perhitungan persen viabilitas

Konsentrasi	Abs 1	Abs 2	Rata-rata	SD	Viabilitas sel (%)
kontrol	0,7342	0,7303	0,7323	0,0028	100,00
1,56	0,7253	0,6772	0,7013	0,0340	94,88
3,13	0,7235	0,7404	0,7320	0,0120	99,95
6,25	0,7227	0,7325	0,7276	0,0069	99,23
12,5	0,7343	0,7260	0,7302	0,0059	99,65
25	0,7205	0,7346	0,7276	0,0100	99,22
50	0,7302	0,7221	0,7262	0,0057	98,99
100	0,6797	0,6438	0,6618	0,0254	88,35
200	0,4676	0,4491	0,4584	0,0131	54,74
Blank	0,1271	0,1271	0,1271	0,0000	

Rumus untuk menghitung persen viabilitas

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{\text{Absorbansi sel uji} - \text{Absorbansi blanko}}{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Grafik hubungan persen viabilitas dengan konsentrasi



Perhitungan IC₅₀ =

$$y = -0,2111x + 102,39$$

$$x = \frac{y - 102,39}{-0,2111}$$

Untuk memperoleh viabilitas 50%, maka nilai y=50

$$50 - 102,39$$

$$-0,2111$$

$$248,18$$

$$= 248,18 \mu\text{g/mL}$$



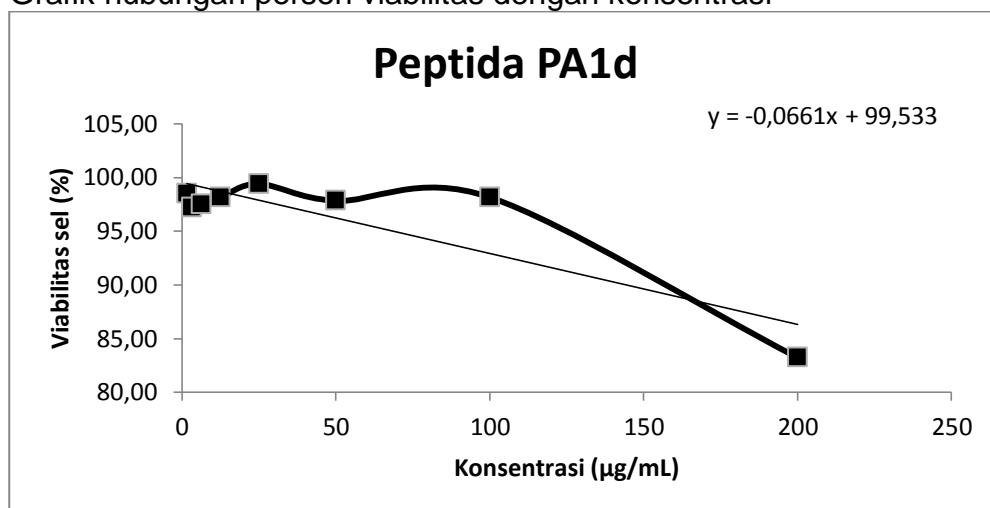
2. Perhitungan IC_{50} untuk peptida <3kDa dari bakteri (PA1d)
 Tabel hasil perhitungan persen viabilitas

Konsentrasi	Abs 1	Abs 2	Rata-rata	SD	Viabilitas sel (%)
kontrol	0,6839	0,7096	0,6968	0,0182	100,00
1,56	0,7097	0,6663	0,6880	0,0307	98,47
3,13	0,6798	0,6816	0,6807	0,0013	97,20
6,25	0,6811	0,6839	0,6825	0,0020	97,51
12,5	0,6860	0,6860	0,6860	0,0000	98,12
25	0,6933	0,6933	0,6933	0,0000	99,40
50	0,6843	0,6843	0,6843	0,0000	97,83
100	0,6728	0,6996	0,6862	0,0190	98,16
200	0,5785	0,6228	0,6007	0,0313	83,23
Blanko	0,1237	0,1237	0,1237	0,0000	

Rumus untuk menghitung persen viabilitas

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{\text{Absorbansi sel uji} - \text{Absorbansi blanko}}{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Grafik hubungan persen viabilitas dengan konsentrasi



Perhitungan IC_{50} =

$$y = -0,0661x + 99,533$$

$$x = \frac{y - 99,533}{-0,0661}$$

Untuk memperoleh viabilitas 50%, maka nilai $y=50$

$$x = \frac{50 - 99,533}{-0,0661}$$

$$x = 749,32$$

$$= 749,32 \mu\text{g/mL}$$



Lampiran 42. Perhitungan berat molekul dari SDS PAGE

a. Untuk ekstrak kasar, Protein dan Hidrolisat

Perhitungan Rf Marker

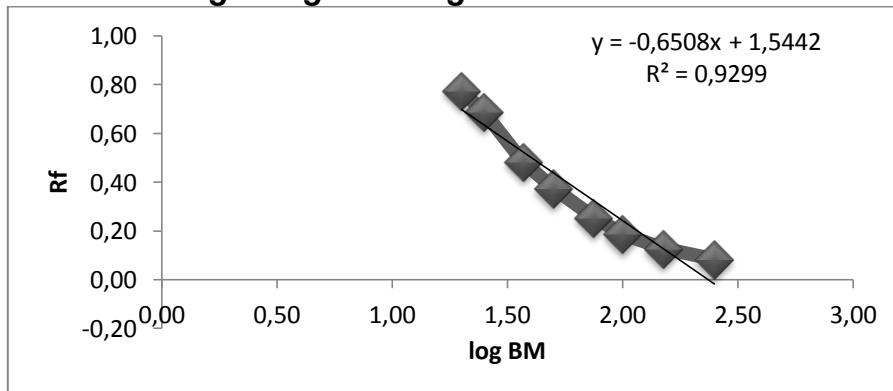
Panjang Gel setelah Running = 7 cm

BM Marker (kDa)	log BM	Panjang Pita Gel (cm)	Rf
20	1,30	5,42	0,77
25	1,40	4,81	0,69
37	1,57	3,38	0,48
50	1,70	2,62	0,37
75	1,88	1,78	0,25
100	2,00	1,31	0,19
150	2,18	0,89	0,13
250	2,40	0,59	0,08

Rumus perhitungan Rf

$$Rf = \frac{\text{Panjang Pita Gel}}{\text{Panjang Gel setelah Running}}$$

Grafik hubungan log BM dengan Rf



Berdasarkan persamaan $y = -0,6508x + 1,5442$, dimana $y = Rf$ dan $x = \log BM$, maka BM suatu pita sampel dapat dihitung, dengan penurunan Rumus

$$\log BM = \frac{Rf - 1,5442}{-0,6508}$$

$BM = \text{antilog } BM$

Hasil Perhitungan BM sampel

Line	Panjang Pita Gel sampel	Rf	Log BM	BM (kDa)
1	0,61	0,09	2,24	173,33
2	4,24	0,61	1,44	27,67
3	4,88	0,70	1,30	20,02
4	1,72	0,25	2,00	98,90
	2,30	0,33	1,87	73,77
	2,57	0,37	1,81	64,36
	4,83	0,69	1,31	20,54



b. Untuk Peptida

Perhitungan Rf Marker

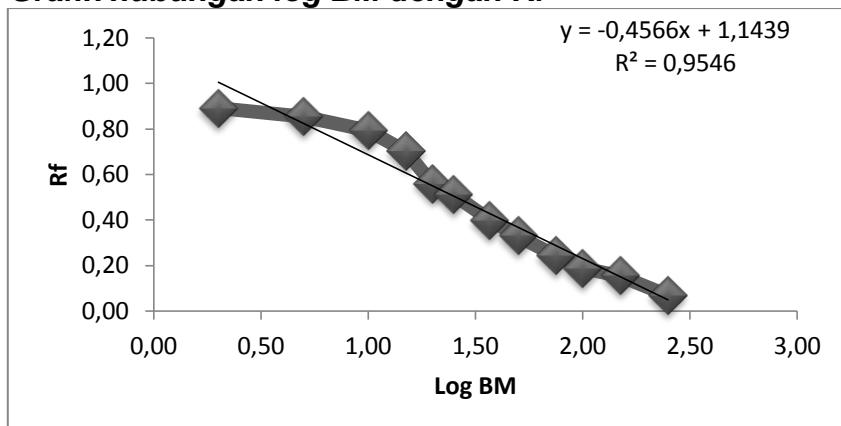
Panjang Gel setelah Running = 7 cm

BM Marker (kDa)	log BM	Panjang Pita Gel (cm)	Rf
2	0,30	6,24	0,89
5	0,70	5,98	0,85
10	1,00	5,56	0,79
15	1,18	4,92	0,70
20	1,30	3,91	0,56
25	1,40	3,58	0,51
37	1,57	2,79	0,40
50	1,70	2,31	0,33
75	1,88	1,70	0,24
100	2,00	1,32	0,19
150	2,18	1,08	0,15
250	2,40	0,48	0,07

Rumus perhitungan Rf

$$Rf = \frac{\text{Panjang Pita Gel}}{\text{Panjang Gel setelah Running}}$$

Grafik hubungan log BM dengan Rf



Berdasarkan persamaan $y = -0,4566x + 1,1439$, dimana $y = Rf$ dan $x = \log BM$, maka BM suatu pita sampel dapat dihitung, dengan penurunan Rumus

$$\log BM = \frac{Rf - 1,1439}{-0,4566}$$

$$BM = \text{antilog } BM$$

Hasil Perhitungan BM sampel

Line	Panjang Pita Gel sampel	Rf	Log BM	BM (kDa)
7	6,00	0,86	0,63	4,25
8	6,49	0,93	0,47	2,98
9	6,57	0,94	0,45	2,82
0	6,10	0,87	0,60	3,95



Lampiran 43. Daftar nama perangkat lunak yang digunakan untuk analisis bioinformatik

NO	NAMA	APLIKASI/WEBSITE	FUNGSI
1	BioEdit	Software	Untuk membaca dan mengolah file sequence DNA
2	BLAST	https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi	Sekuensing bakteri
3	Masslynx V4.1	Software	Analisis LC-MS/MS
4	Mascot	Software	Identifikasi Peptida
5	ProtParam	http://web.expasy.org/protparam/	Untuk analisis fisikokimia peptida
6	APD3	http://aps.unmc.edu/AP/prediction/prediction_main.php	Untuk analisis fisikokimia peptida
7	AntiCP	https://webs.iiitd.edu.in/raghava/anticp/	Analisis prediksi Aktivitas antikanker
8	CAMPR3	http://www.camp.bicnirrh.res.in/predict/	Analisis prediksi Aktivitas antibakteri
9	iAMP-2L	http://cabgrid.res.in:8080/amppred/	Analisis prediksi Aktivitas antibakteri
10	AMP Scanner Vr.2	https://www.dveltri.com/scan/v2/	Analisis prediksi Aktivitas antibakteri
11	PEP-FOLD3	https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/PEP-FOLD3/	Prediksi struktur 3D

Software atau aplikasi digunakan Februari 2020

Website-website diakses Maret 2020



Lampiran 44. Hasil prediksi antibakteri dan antikanker peptida dari alga dan bakteri endofit simbionnya

Organisme	Kode	Urutan Asam Amino	Prediksi Antibakteri						Prediksi Antikanker
			Prediksi 1	Prediksi 2	Prediksi 3	Prediksi 4	Prediksi 5	Prediksi 6	
Bakteri Endofit <i>Vibrio sp. strain ES25</i>	QA1d-2	MGFVLLQLLCFTVF	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	QA1d-3	MFLATLSSIGLMTFRIL	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	QA1d-4	HAILRGLLCSSLTLAFQPA	AMP	Non-AMP	AMP	AMP	Non-AMP	AMP	Anticp
	QA1d-5	AFTFPLYPAFVVFLPGTV	AMP	AMP	Non-AMP	Non-AMP	AMP	AMP	Non-Anticp
	QA1d-6	MNYLLLIKFKYTLSFQF	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	QA1d-7	DEASFFERLGLRRLFFM	SSL	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	QA1d-8	ALHLPLKLIMRPALPLRL	KLTL	AMP	AMP	AMP	Non-AMP	AMP	Anticp
	QA1d-9	LTHELDQSFLSHNFMSIQ	FHQHVL	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	PA1d-1	MGFIVIGRIEAFVDICHL	MQLDYLECFKGVLGEAL	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	PA1d-2	RQLGRR	KNSLKATLCLSLTAAAPS	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
Alga <i>E. spinosum</i>	PA1d-3	L	AMP	AMP	AMP	AMP	Non-AMP	AMP	Anticp
	PA1d-4	EADGLDSYLELPFTLAVA	IL	AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	PA1d-5	MEELSLSRNFYIVIIIGLYS	MF	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp
	PA1d-6	SGACTFGMVFLTGCGLF	AMF	AMP	Non-AMP	Non-AMP	AMP	AMP	Anticp
	PA1d-7	VRSIFVRVQLEALYLCRAI	FHDWVF	Non-AMP	AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-AMP	Non-Anticp

Keterangan

Prediksi 1 : CAMPR3 berdasarkan SVM (<http://www.camp.bicinrrh.res.in/predict/>)

Prediksi 2 : CAMPR3 berdasarkan RF (<http://www.camp.bicinrrh.res.in/predict/>)

Prediksi 3 : CAMPR3 berdasarkan ANN (<http://www.camp.bicinrrh.res.in/predict/>)

Prediksi 4 : CAMPR3 berdasarkan DA (<http://www.camp.bicinrrh.res.in/predict/>)

Prediksi 5 : AMP Scanner Vr.2 (<https://www.dveltrii.com/ascan/v2/?u=158490389722>)

Prediksi 6 : iAMP-2L (<http://www.jci-bioinfo.cn/iAMP-2L>)

: didasarkan pada prediksi yang paling banyak muncul

tikanker : AntiCP (<https://webs.iitd.edu/intraghava/anticp/>)



Optimization Software:
www.balesio.com



Optimization Software:
www.balesio.com