

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Raouf, N., Al-Enazi, N. M., Al-Homaidan, A. A., Ibraheem, I. B. M., Al-Othman, M. R., & Hatamleh, A. A. 2015. "Antibacterial β -amyrin isolated from *Laurencia microcladia*". *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1), 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.033>
- Ahmad, A., Natsir H., and Patta, A. M. 2013. Purification and Immobilization of L-Asparaginase Enzyme from the Thermophilic Bacteria *Bacillus Licheniformis* Strain Hsa3-1a, *Internat. J. of Pharma and Bio Sciences*, 4 (4):278-280.
- 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
- Alzahrani, Z., 2009, *Salting In, Salting Out, and Dialysis of Proteins*, Departement of Biochemistry of Science KSU.
- Amaranggana, L., Wathoni, N. 2017. Manfaat Alga Merah (Rhodophyta) sebagai Sumber Obat dari Bahan Alam. *Majalah Farmasetika*, 2(1): 16-19
- Amir, H. *et al.* (2017) 'Uji Microtetrazolium (MTT) Ekstrak Metanol Daun *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl Terhadap sel Kanker Payudara MCF-7', *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 1(1), pp. 27–32.

- Amobonye, A., Singh, S., & Pillai, S. 2019. Recent advances in microbial glutaminase production and applications—a concise review. *Critical reviews in biotechnology*, 39(7), 944-963.
- Anggadiredja, J. T., Zalnika, A., Purwoto, H., dan Istini, S., 2009, *Rumput Laut*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- 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)
- Auliya, A. and Maryati (2019) 'Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol dan Ekstrak Metanol *Spirulina platensis* L Pada Sel MCF-7', *ETD UMS*, 2(1), pp. 1–10.
- Balia, R. L., 2014, produksi dan Aplikasi Senyawa Antimikroba Asal *Saccharomyces fibuliger* Strain R64 sebagai Biopreservasi Ramah Lingkungan, *Indonesia FoodTechnologist*, 3(1), 21-25.
- Bollag, D.M., dan S.J. Edelman, 1991, *Protein Methods*, Wiley-Liss Inc, Switzerland.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., dan Stephen, A. M., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Jakarta.
- Cancer Chemoprevention Research Center. 2008. *Protokol in vitro CCRC Sel MCF7*. Fakultas Farmasi UGM: Yogyakarta.
- Cappucino, JG. 2013. *Manual laboratorium mikrobiologi*, ed. Ke-8. Terjemahan: Nur Miftahurrahmah. EGC, Jakarta, 577 hal.
- 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.
- Chu, H. L., Yip, B. S., Che, K.H., Yu, H. Y., Chih, Y. H., Cheng, T. H., Chou, Y. T. and Cheng, J. W. 2015. Novel Antimicrobial Peptides with High Anticancer Activity and Selectivity, *Plos One* 10 (5), 1-14.
- Cleary, M.L., Smith.S.D & Sklar.J, 1986, Cloning and Structural Analysis of cDNAs for BCL-2 and hybrid BCL-2 /immunoglobulin transcrib resulting from the t (14;18) Ytranslocation, *Cell*, 47, 19-28
- Cory, S., Huang, D,C & Adams,J.M, 2003, The BCL-2 Family: Roles in cell survival and oncogenesis. *Oncogene*, 22,8590-8607
- 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)
- Deslouches, B., & Di, Y. P., 2017, Antimicrobial peptides with selective antitumor mechanisms: prospect for anticancer applications. *Oncotarget*, 8(28), 46635–46651.
- 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.
- Dorothy, E. S., 1992, *Intisari Biokimia*, Binarupa Aksara, Surabaya.
- Durai, S., Selvaraj, B., Manikkam, R., and Ramasamy B., 2014, Production and Optimization of L-Glutaminase from *Vibrio* sp. M9 Isolated from Mahabalipuram Marine Sediments, *World Journal of*

Pharmaceutical Research, 3(2), 2117-2126.

- 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.
- Fauziah, A., 2012, Subkloning dan Ekspresi Gen L-Asparaginase dari *Bacillus ciculans* ke *Escherichia coli* DH5 α di bawah Kontrol Promotor xyn AQ1, Skripsi tidak diterbitkan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok.
- Felício, M.R, Silva, O. N., Gonçalves, S. Santos, N. C., and Franco, O.,L. 2017. Peptides with Dual Antimicrobial and Anticancer Activities. *Front Chem.*, 5 (5), 1-9.
- Ferdouse, F., Holdt, S. L., Smith, R., Murua, P., & Yang, Z. (2018). The global status of seaweed production, trade and utilization (Vol. 124). Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Frenzel. A. Grespi. F. Chmelewskij. W & Villunger. A, 2009, bcl-2 Family Proteins in Carcinogenesis and the Treatment of Cancer, *Apoptosis*, 14, 584-596.
- Gaspar D., Freire J. M., Pacheco T. R., Barata J. T., Castanho M. A. R. B. 2015. Apoptotic human neutrophil peptide-1 anti-tumor activity revealed by cellular biomechanics. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 1853, 308-316.
- 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.

Gómez-Guzmán, M., Rodríguez-Nogales, A., Algieri, F., & Gálvez, J. 2018. "Potential role of seaweed polyphenols in cardiovascular-associated disorders". *Marine Drugs*, 16(8), 1–21. <https://doi.org/10.3390/md16080250>.

Hadioetomo, R. S., 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Hassan, S. W. M., Farag, A.M., and Beltagy, E. A. 2018. Purification, Characterization and Anticancer Activity of L-asparaginase Produced by Marine *Aspergillus terreus*, *J Pure Appl Microbiol*, 12 (4), 1845- 1854.

Hasanul, A., 2009, Luka Tekan. *Majalah Kedokteran Nusantara*, 42(1).

Hermawan, A., Meiyanto, E. and Asmah Sudarti, R. (2010) 'Hesperidin Meningkatkan Efek Sitotoksik Doxorubicin Pada Sel MCF-7', *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(1), pp. 8–17.

Hoskin, D. W. & Ramamoorthy, A. (2008). Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta*, 1778, 357–375.

Hotmatua, A., 2004, Potensi Antimikroba Oligomer Kitosan yang dihasilkan dengan menggunakan enzim termostabil Kitonase LH 28, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, ITB, Bogor.

Intiaz, A. S. *et al.* (2016) 'Resveratrol Nanoformulation For Cancer

Prevention and Therapy, *Research Gate*. Available at:
https://www.researchgate.net/figure/Carcinogenesis-phases-initiation-promotion-progression-and-metastasis-A-Initiation_fig2_279304092.

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

Ketut. S., dan Kartika. S.L.M.K, 2022, Kanker Payudara: Diagnostik, Faktor Risiko, Dan Stadium, *Ganesha Medicina Journal*, Vol 2 No 1, 42 – 48

Khairunnisa, S. H, 2021, Faktor Risiko Kanker Payudara, *Jurnal Medika Hutama*, Vol 03 No 01, 1533-1538

Kusmiati dan A. Malik. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 pada berbagai media. *Makara, Kesehatan*, 6(1),1-6.

Lay, B. W., 1994, Analisis Mikroba di Laboratorium, PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.

Lay, B. W., dan Sugyo, H., 1992, Mikrobiologi, Rajawali Pers, Jakarta.

Mader J. S., Hoskin D. W., 2006, Cationic Antimicrobial Peptides as Novel Cytotoxic Agents for Cancer Treatment. *Expert Opin. Investig. Drugs* 15, 933–946.

- Marfianti. E., 2021, Peningkatan Pengetahuan Kanker Payudara dan Keterampilan Periksa Payudara Sendiri (SADARI) untuk Deteksi Dini Kanker Payudara di Semutan Jatimulyo Dlingo, JAMALI - Jurnal Abdimas Madani dan Lestari Vol. 03, Issue. 01, Hal 25 - 31
- Masri, M. Massi , M. N., Ahmad ,A., and Natzir, R. 2015. *Pseudomonas putida* E16 16 sRNA Potential as Enzyme-producing Bacteria. Int J Biol Med Res.,6(1): 4798-4804.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J.E., Jacobsen, L. B., Nicholas, D. E., dan J. L. Laughlin, 1982, *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*, Departmen of Medical Chemistry and Pharmacognocoy, School of Pharmacy and Pharmacal Science and Cell Culture Libratory, Purdue Cancer Center, USA, West Lavayette.
- Moharib S. A., 2018, Anticancer Activity of L-Asparaginase Produced from *Vigna unguiculata*, World Scientific Research, 5(1): 1-12.
- Nandakumar, R., Yoshimune, K., Wakayama, M., dan Moriguchi, M., 2003. Review: Microbial Glutaminase; Biochemistry, Molecular Approaches and Application in Food Industry, *Journal Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 23, 87-100.
- Nofiani, R., 2008, Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder
- Octaviani. M., Fadhli. H., Yuneistya. E., 2019, Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of Shallot (*Allium cepa* L.) Peels Using the Disc Diffusion Method, Pharmaceutical Sciences and Research (PSR), 6(1), 62 – 68Mikroba Laut, *Jurnal Natur Indonesia*, 10(2), 120-125.

- Octaviani, L.I., Setiawati., dan Easter D.Y., 2021, Faktor Risiko Yang Berhubungan Dengan Kanker Payudara, *Jurnal Kebidanan* Vol 7, No 1, 32-36
- Pertiwi. M.K., dan Nugroho. E.P., 2020, *Dinamika Struktur Dinding Sel Bakteri*, Jakad Media Publishing, Surabaya
- Prakash, P.J.E., Poorani, P., Anantharaman, and Balasubramaniam, T., 2009, L-Glutaminase Production and The Growth of Marine Bacteria, *Research Journal of Microbial*, 4, 168-172.
- Pratiwy, F. M., & Arifah, F. N. 2021. "The potentiality of endophytes bacterial in red algae as anti-microbial agents in aquaculture: A review". *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 9(4), 123–126. <https://doi.org/10.22271/fish.2021.v9.i4b.2530>
- Prihantono, 2017, Peran Ekspresi mRNA TOP2A, mRNA BCL2 dan mRNA Ki67 Sebagai Prediktor Respon Kemoterapi Neoadjuvan Regimen Cyclophosphamide-Adriamicin-5FU (CAF) Pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal, Program S3 Ilmu Kedokteran Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin, Makassar
- Pudjiastuti, S. (2017). Laporan Kineja KKP 2016. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Pulungan, R. . (2010) 'Karakteristik Penderita Kanker Payudara Rawat Inap di RS Haji Medan Tahun 2005 - 2009', *jurnal Kesehatan USU Medan*, 3(April).
- Putri, N. F., 2015, Isolasi dan Karakterisasi L-glutaminase dari Bakteri Symbion Spons dan Aplikasinya sebagai Antimikroba, Skripsi tidak

diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.

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.

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.

Rahmadani, W. (2015) *Karakteristik Penderita Kanker Payudara yang Dirawat Inap Di RSUD Dr.Pringadi Medan Tahun 2013*. Universitas Sumatera Utara Available at: <http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/49885/Cover.pdf?sequence=7>.

Rahmayanti, S., Massinai, A., & Mashoreng, S. 2019. *Kepadatan Bakteri Simbion Rumput Laut (Eucheuma spinosum) yang Berasal dari Perairan Puntundo, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan*. Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan VI, Universitas Hasanuddin, Makassar, 21 Juni 2019, ISBN 978-602-71759-6-9.

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.
- Safitri, A., Srihardyastutie, A., Roosdiana, A., & Sutrisno, S. 2018. Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Edible Seaweed *Eucheuma spinosum* Against *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 7(3), 308-315.
- Sajjadi, S. E., Mustafa G. , Mehrangiz H. dan Leili M. 2015. Cytotoxic effect of *Cousinia verbascifolia* Bunge against OVCAR-3 and HT-29 cancer cells. *J Herb Med Pharmacol*, 4(1): 15-19.
- Samaila, A., 2013, *Identifikasi Bakteri di Udara Ruang Perawatan Intensif Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo dengan Universal Primer dan Sekuensing*, TESIS S2 Biomedik Mikrobiologi, Kedokteran, UNHAS, Makassar.
- Satish, 2011, *Review of Literature of L-Glutaminase*, (online), (<http://shodghanga.inflibnet.ac/>, diakses pada 5 Mei 2018).
- Sari Utami, D. (2018) *Uji Potensi Antikanker Payudara Esktrak Etanol Lidah Mertua (Sansevieria trifasciata Prain) Menggunakan Sel T-47D Secara In Vitro, Uji Potensi Antikanker Payudara Esktrak Etanol Lidah Mertua (Sansevieria trifasciata Prain) Menggunakan Sel T-47D Secara In Vitro*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sepdwiyanti, R., Sari, S. D., & Hudha, M. I. 2012. Ekstraksi Karaginan Dari Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) Dengan Variasi Suhu

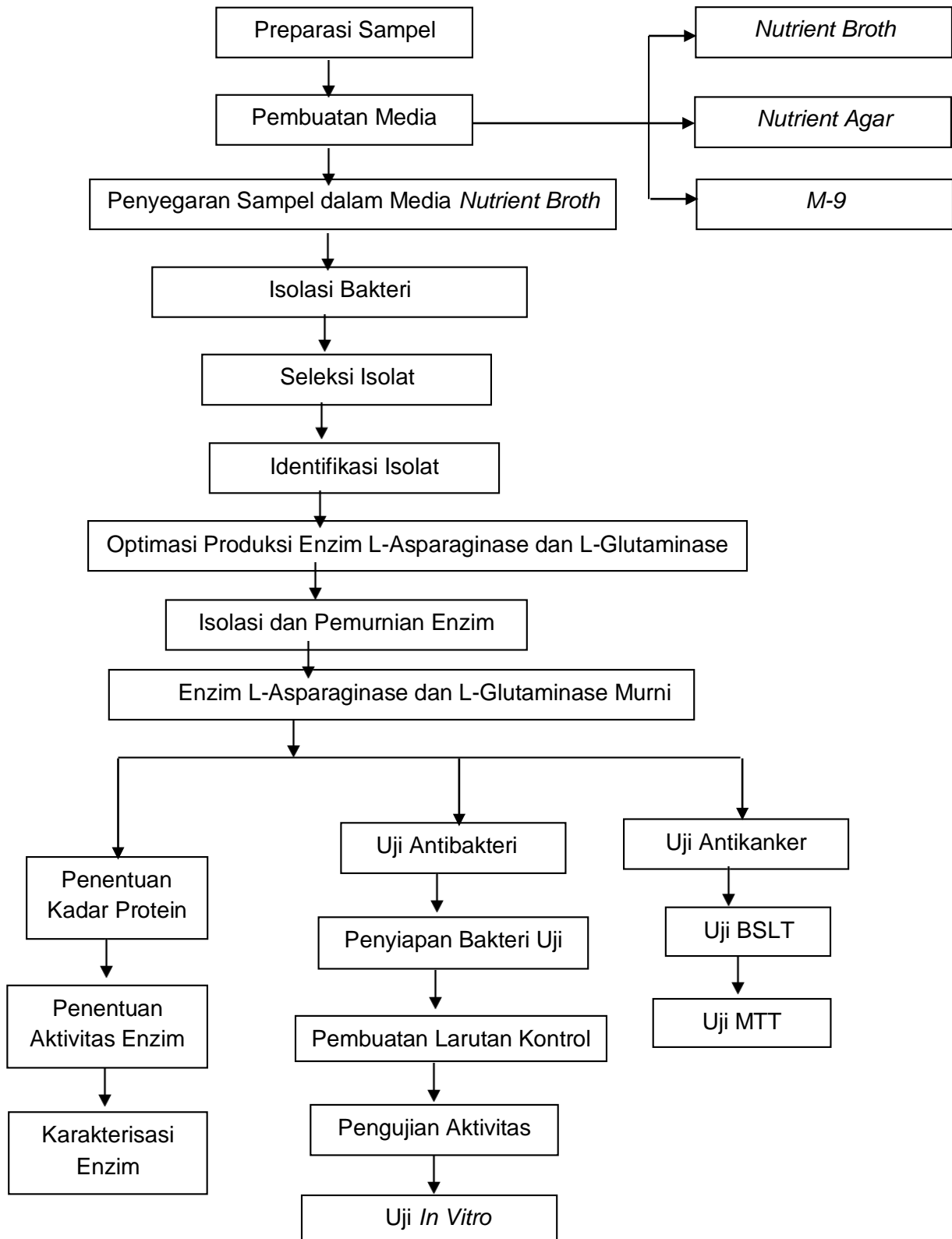
- Pelarut Dan Waktu Operasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 6(2), 50-53.
- Septiningrum, K. dan Moeis, M.R., 2008, *Isolasi dan Karakterisasi Xilanase dari Bacillus circulans*, ITB, Bandung.
- Shah, A. J., Karadi, R. V., and Parekh, P. P., 2010, Isolation, Optimization and Production of L-Asparaginase from Coliform Bacteria, *Asian Journal of Biotechnology*, Vol. 2.
- Shamas-din. A. Kale. J. Leber. B & Andrews. D. W, 2013, Mechanism of Action of bcl-2 Family Proteins, *Cold Spring Harbor Perspective in Biology*, %, a008714.
- Sinha, S., dan Nigam, V. K., 2016, Production and Characterization of L-Glutaminase by *Bacillus* sp., *IJPSR*,7,(4); 1620-1626.
- Sivakumara, K., Sahu, M.K, Manivel P.R., and, Kannan, L., 2006, Optimum Condition for L-glutaminase Production by Actinomycetes Strain Isolated from Estuarine Fish *Chanos*, *Indian Journal of Experimental Biology*, 44, 256-258.
- Sovia. E., dan Reni. E.Y., 2019, *Farmakologi Kedokteran Gigi Praktis*, Deepublish- Budi Utama, Yogyakarta
- Suprobo, C. O., Suprihati, Wuryanti. 2011. Uji Antikanker Isolat Bioaktif L-asparaginase dari Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) terhadap Sel Kanker Serviks. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 14(2):58 – 63.
- Toharisman, A., Suhartono, M.T., Spinder-Barth M., Hwang, J.K., Pyun, Y.R., 2005, Purification and Characterization of a Thermostable Chitinase from *Bacillus licheniformis* MB-2, *World J. Microbiol Biotechnol*, 21(5), 730-738.

- Tyagi, A., Kapoor, P., Kumar, R., Chaudhary, K., Gautam, A., & Raghava, G. P. S. (2013). In silico models for designing and discovering novel anticancer peptides. *Scientific reports*, 3(4), 297–304.
- Wibisana. A., dan Akmalina.R, 2022, Teknologi Bioproses, Unpam Press, Pamulang
- Yip. K & Reed. J, 2008, Bcl-2 family proteins and cancer, *Oncogene*, 27, 6398-6406
- Yudhi, 2009, *Khasiat dan Manfaat Rumput Laut*, (Online), (<http://kir-31.blogspot.com/2009/khasiat-dan-manfaat-rumput-laut.html>, diakses tanggal 01 Juni 2018).
- Yuliana. T. D., Sasputra. I.N., Rante. S.D.T., Artawan. I.M., 2021, Faktor Risiko Kanker Payudara Di Rsud Prof. Dr.W.Z Johannes Kupang Nusa Tenggara Timur Tahun 2017-2019, *Cendana Medical Journal*, Edisi 22, Nomor 2, 265 – 271
- Yulianti, T., Chasanah, E., dan Tambunan, U.S.F., 2012, Screening and Characterization of L-glutaminase Produced by Bacteri Isolated from Sangihe Talaud Sea, *Squalen*, 7 (3), 115-121.
- Yulianti, T. 2012. Menggali potensi endofit untuk meningkatkan kesehatan tanaman tebu mendukung peningkatan produksi gula. *Jurnal Perspektif*, 11(2), 113-123.
- Zainuddin, E. N., dan Malina, A. C., 2009, *Skrining Rumput Laut Asal Sulawesi Selatan sebagai Antibiotik melawan Bakteri Patogen pada Ikan*, Laporan Penelitian Research Grant, Biaya IMHERE-DIKTI, Jakarta.

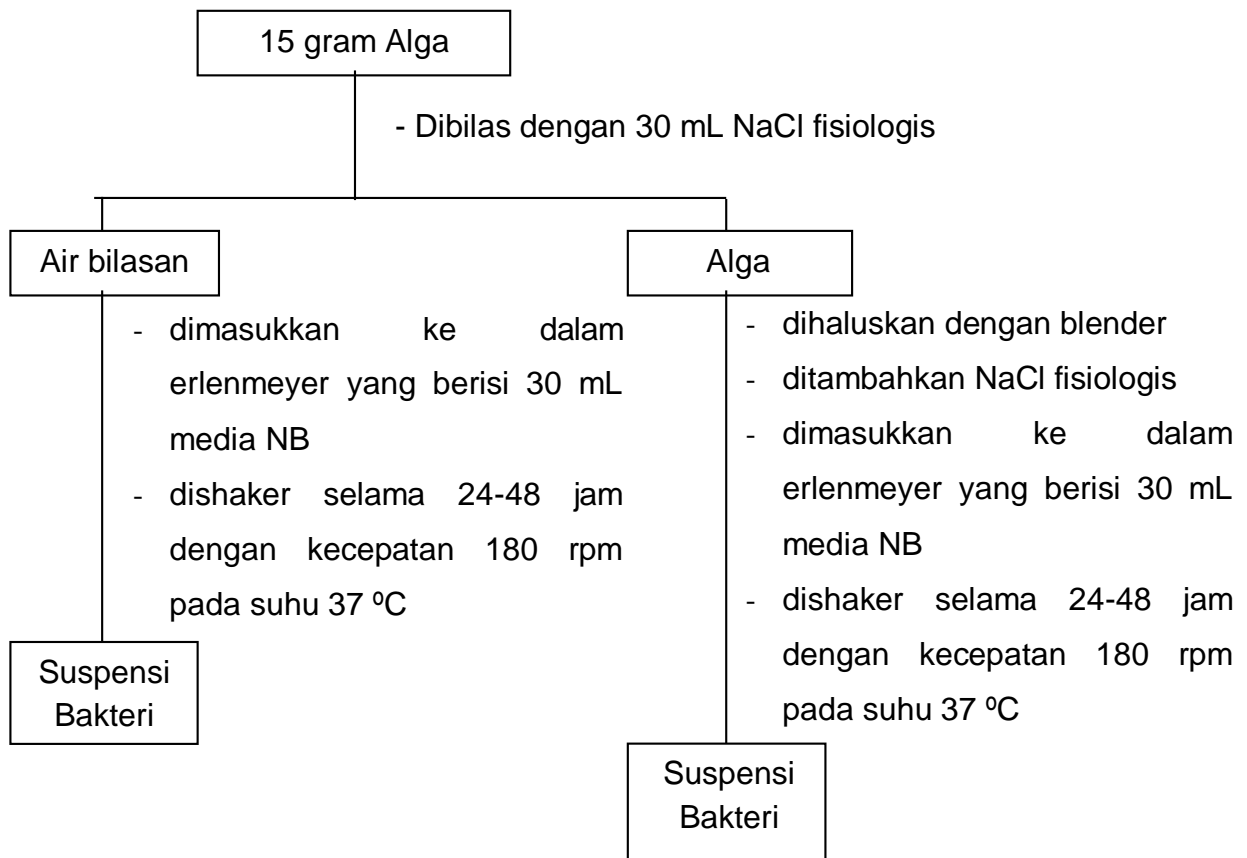
Zhang, J.; Pavlova, N.N.; Thompson, C.B. Cancer cell metabolism: The essential role of the nonessential amino acid, glutamine. *EMBO J.* **2017**, *36*, 1302–1315.

LAMPIRAN

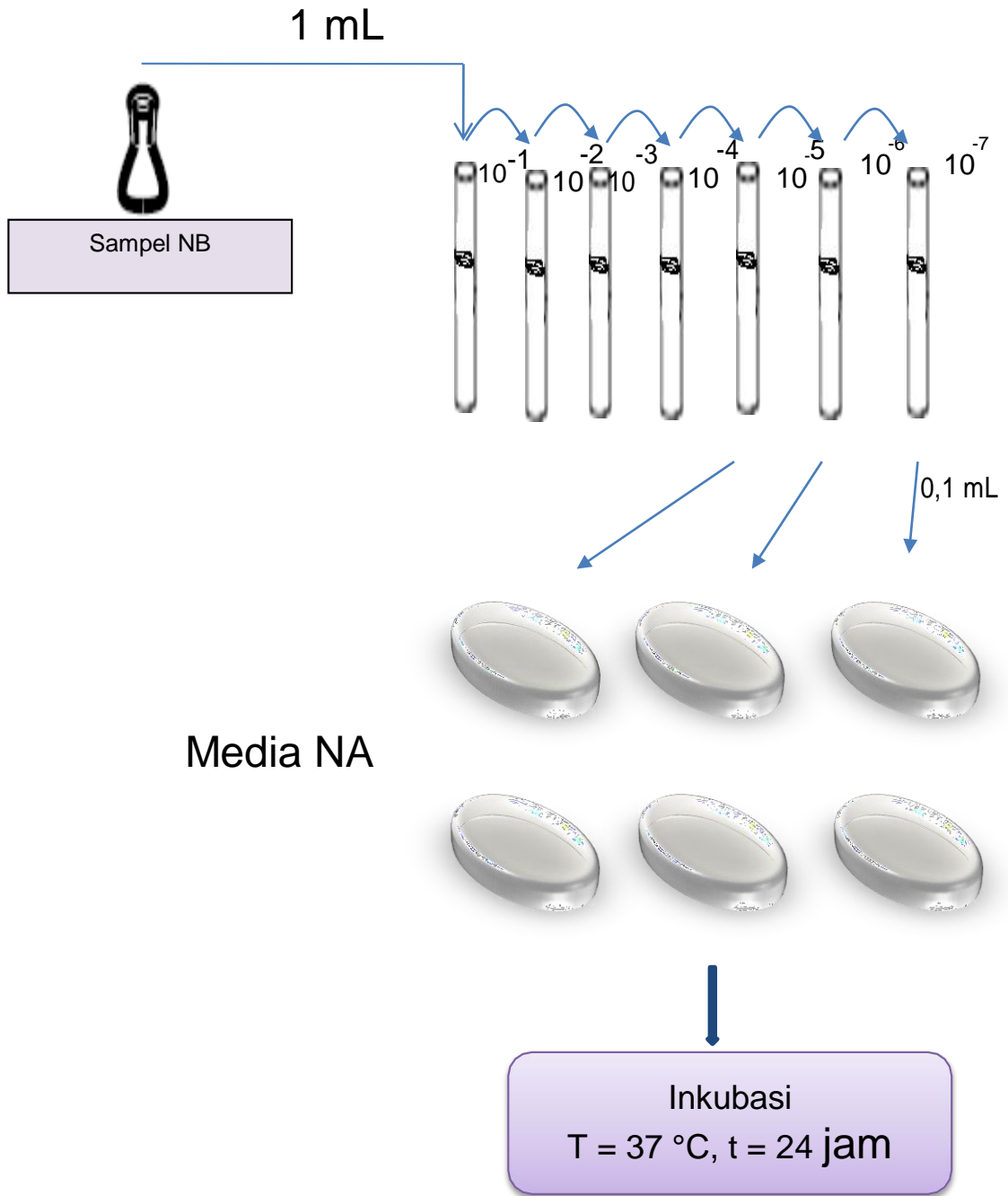
Lampiran 1. Diagram Alir dan Tahapan Penelitian



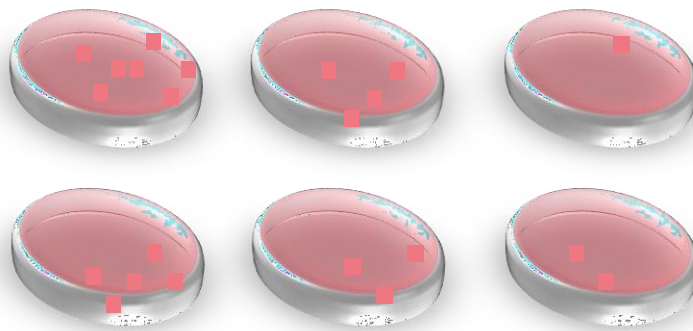
Lampiran 2. Preparasi Sampel



Lampiran 3. Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim L-Asparaginase dan L-Glutaminase



Inkubasi
T = 37 °C, t = 24
jam



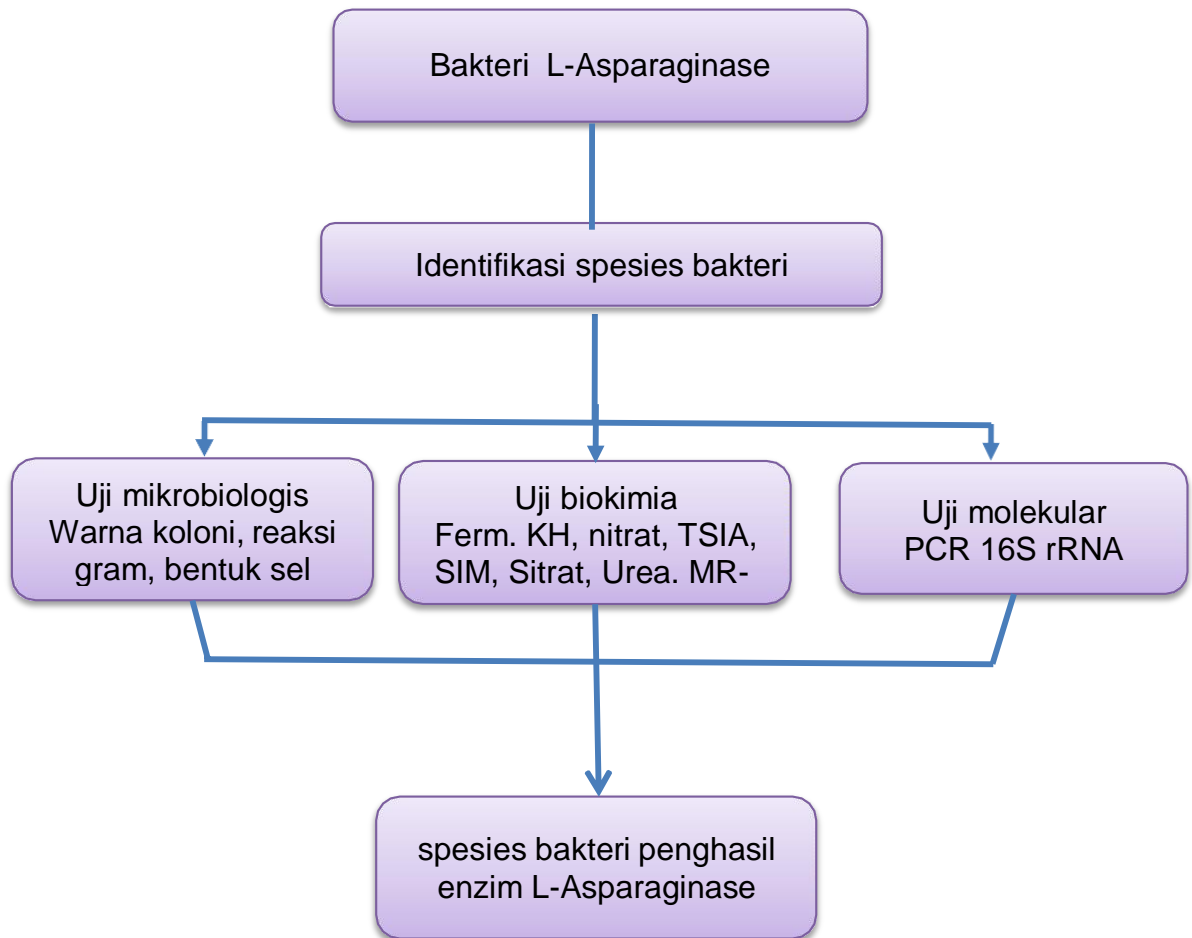
Media
+ 10g/L

Bakteri L-Asparaginase

Ket:

Dilakukan prosedur yang sama untuk memperoleh bakteri L-glutaminase dengan mengganti substrat L-asparagin pada media M-9 menjadi substrat L-glutamin

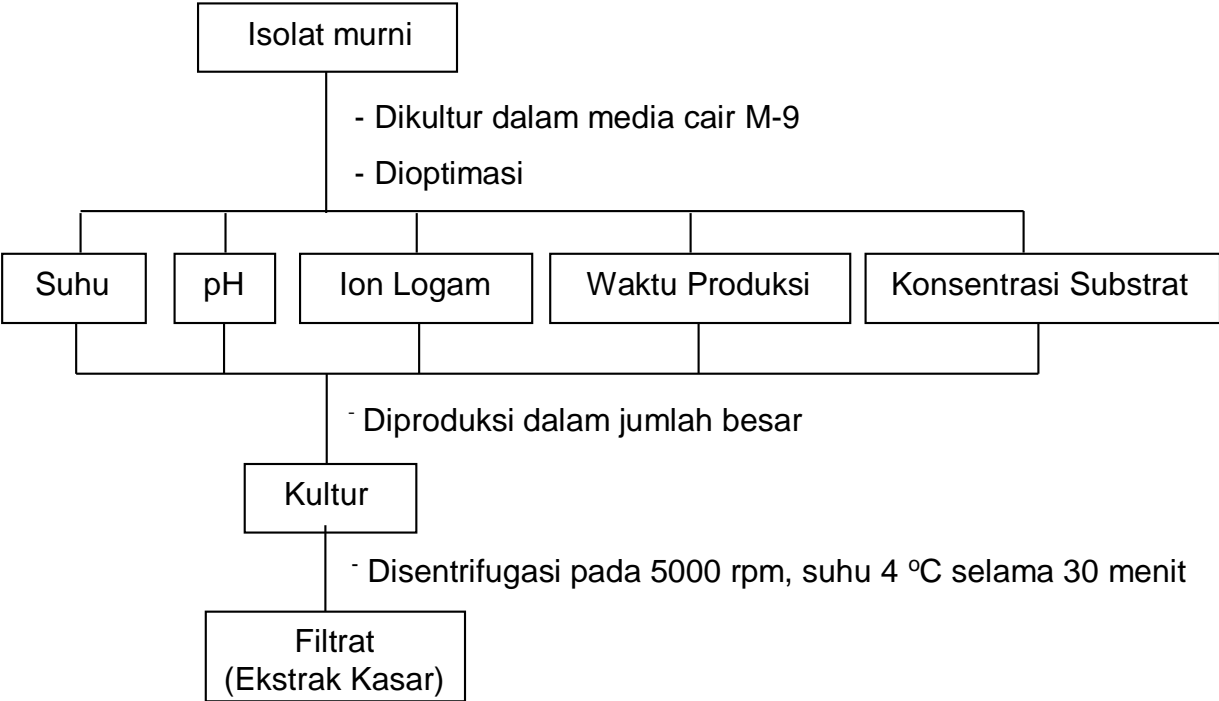
Lampiran 4. Tahapan Identifikasi Bakteri



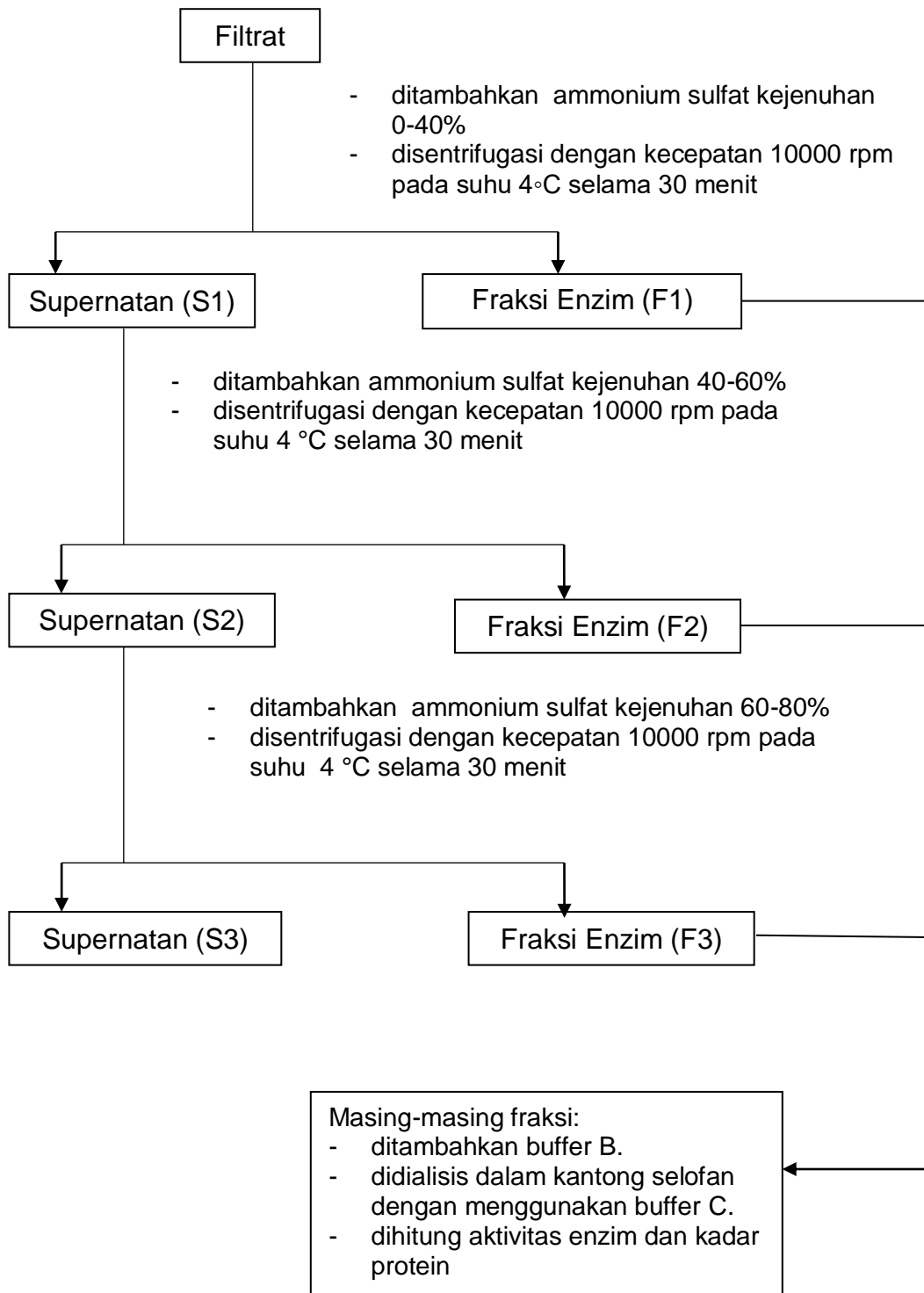
Ket:

Dilakukan prosedur yang sama pada identifikasi bakteri L-glutaminase

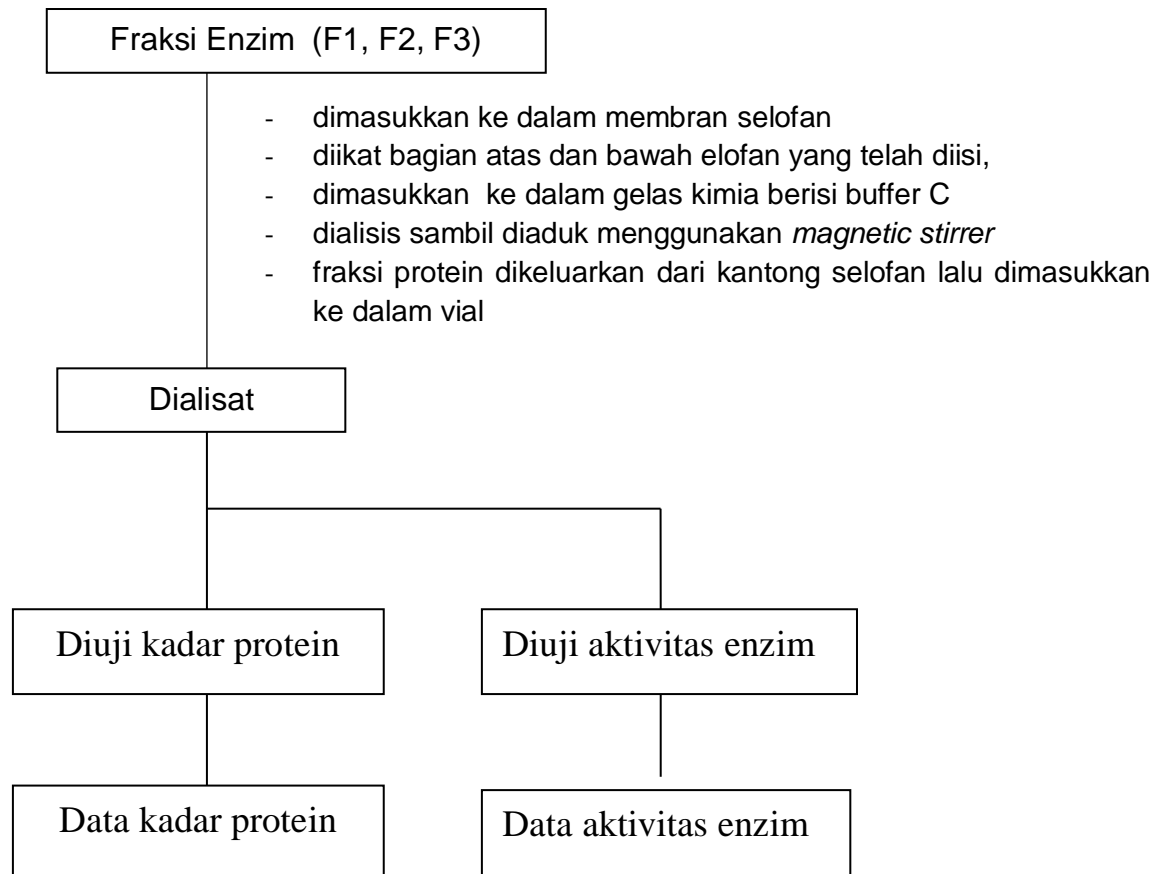
Lampiran 5. Optimasi dan Produksi Enzim



Lampiran 6. Pemurnian Enzim (Fraksinasi Amonium Sulfat)



Lampiran 7. Pemurnian Enzim (Dialisis)



Lampiran 8 Tabel Tingkat Kejenuhan Amonium Sulfat dan Perhitungan Massa Amonium Sulfat untuk Fraksinasi

		S2																
		20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
S1	Garam amonium sulfat yang ditambahkan (gram)																	
0	106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697	
5	79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	305	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	90	123	156	190	226	263	302	342	383	
50							0	30	60	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	210	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	

Lampiran 9. Penentuan Kadar Protein Enzim dengan Metode Lowry

a. Pembuatan Reagen

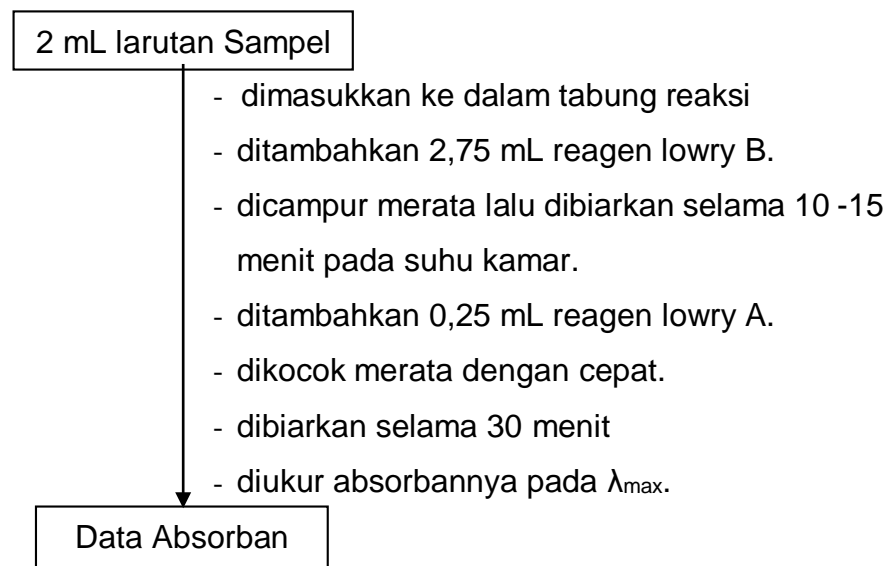
- Lowry A

Pada pembuatan Lowry A yakni dengan pencampuran antara follin ciocalteus dan akuades dengan perbandingan 1:1 dan dibuat sebanyak 100 mL.

- Lowry B

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

b. Penentuan Kadar Protein



Ket:

- Perlakuan yang sama dilakukan untuk larutan blanko dan standar BSA
- Ditentukan kadar protein dari data absorbansi yang didapatkan

Lampiran 10. Pembuatan Larutan Buffer Tris-HCl

- a. Pembuatan larutan buffer A (Tris-HCl 0,1 M pH 8,3; NaCl₂ M; CaCl₂ 0,01 M, β -mercaptoetanol 1%, Triton X-100 0,5%)

Prosedur pembuatan larutan:

1. Ditimbang 6,05 gram Tris (Hidroksimetil) aminometana ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) lalu dilarutkan dengan akuades sampai 125 mL.
2. Ke dalam 125 mL larutan Tris (Hidroksimetil) aminometana 0,4 M ditambahkan HCl 2 M 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 5 mL dan triton X-100 2,5 mL dan dicukupkan volumenya sampai 500 mL dengan akuades.

- b. Pembuatan larutan buffer B (Tris-HCl 0,1 M pH 8,3; NaCl 0,2 M; CaCl₂ 0,01 M)

Prosedur pembuatan larutan:

1. Ditimbang 6,05 gram Tris (Hidroksimetil) aminometana ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) lalu dilarutkan dengan akuades sampai 125 mL.
2. Ke dalam 125 mL larutan Tris (Hidroksimetil) aminometana 0,4 M ditambahkan HCl 0,2 M 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 akuades.

- c. Pembuatan Larutan Buffer C (Tris-HCl 0,01 M pH 8,3; NaCl 0,2 M; CaCl₂ 0,01M)

Prosedur pembuatan larutan:

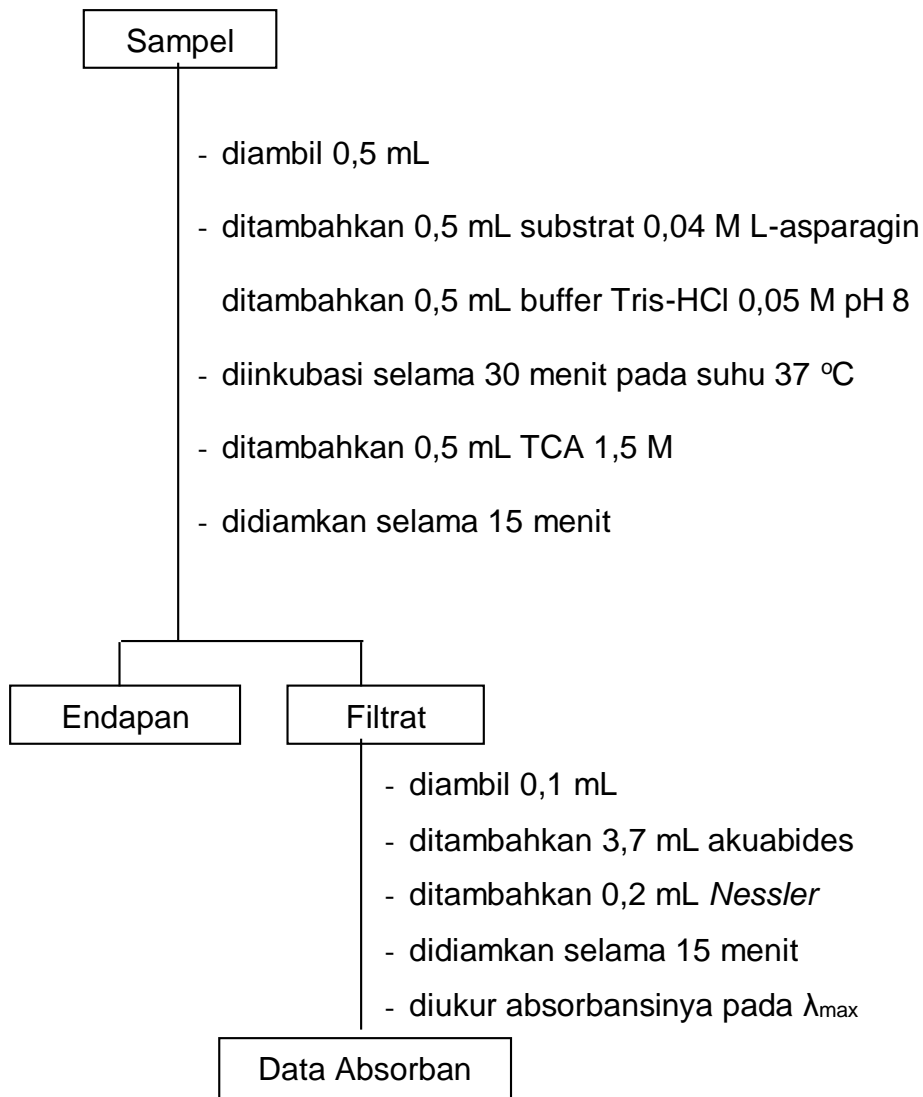
1. Ditimbang 0,605 gram Tris (Hidroksimetil) aminometana (NH₂C(CH₂OH)₃) lalu dilarutkan dengan akuades sampai 125 mL.
2. Ke dalam 125 mL larutan Tris (Hidroksimetil) aminometana 0,04 M ditambahkan HCl 2 M sedikit demi sedikit sambil diatur pHnya sampai mencapai 8,3.
3. Selanjutnya ditambahkan NaCl sebanyak 5,85 gram dan 0,555 gram CaCl₂ dan dicukupkan volumenya sampai 500 mL dengan akuades.

Lampiran 11. Pembuatan Reagen *Nessler*

Pembuatan Larutan *Nessler* dilakukan dengan cara berikut:

1. Ditimbang NaOH sebanyak 16 g kemudian dilarutkan dengan akuades hingga larut lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
2. dilarutkan KI 7 g dalam akuades.
3. dilarutkan HgCl₂ 10 g dalam akuades.
4. Dimasukkan campuran KI dan HgCl₂ ke dalam larutan NaOH dalam labu ukur 100 mL.
5. Ditambahkan aquades hingga garis batas kalibrasi.
6. Dihomogenkan dan disimpan dalam botol reagen berwarna gelap.

Lampiran 12. Penentuan Aktivitas Enzim dengan Metode *Nessler*

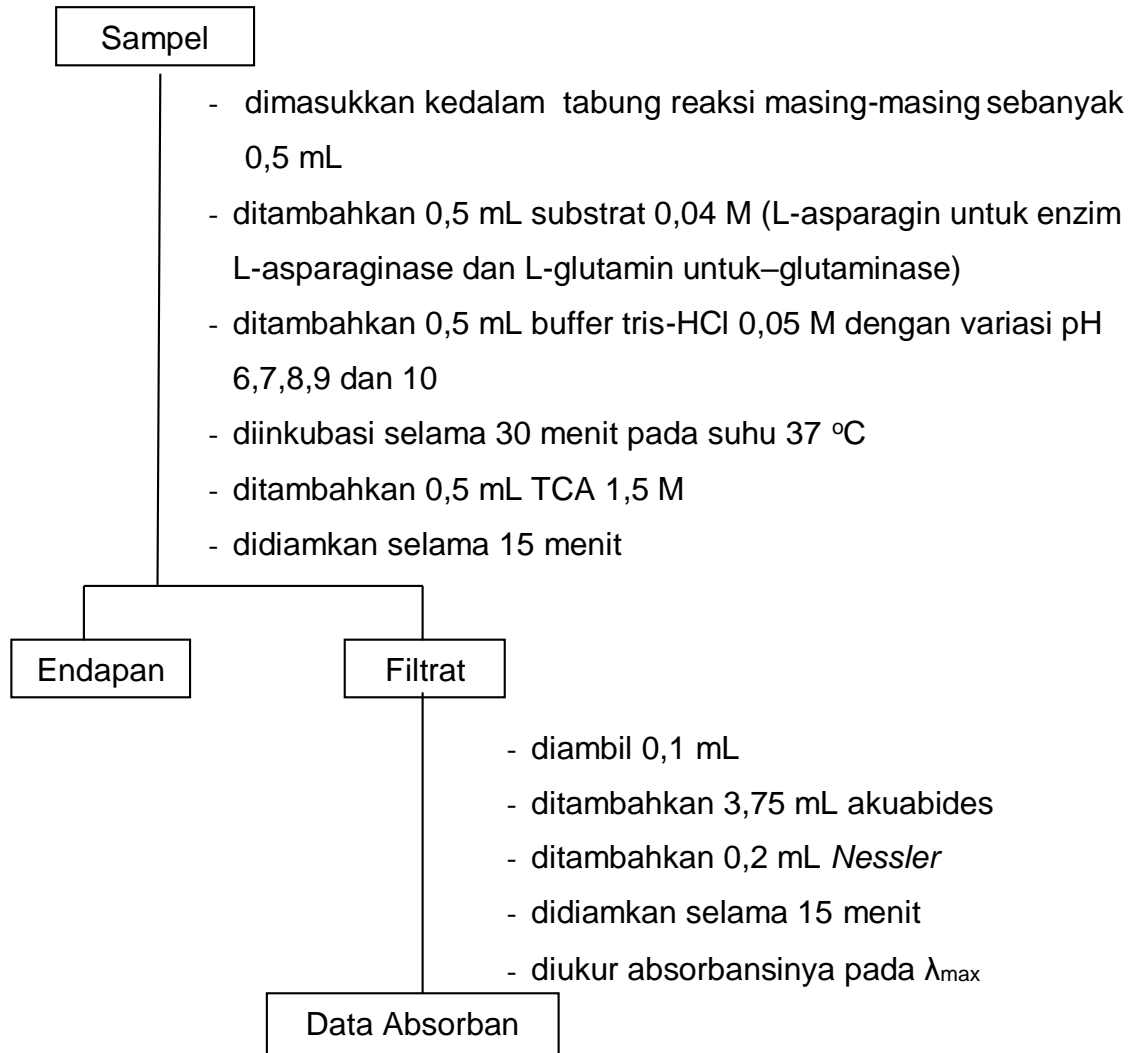


Ket:

- Dilakukan cara yang sama menggunakan standar NH_4Cl (0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10; 0,12 mg/mL)
- Dihitung aktivitas enzim dari data absorbansi yang didapatkan

Lampiran 13. Karakterisasi Enzim L-Asparaginase dan L-Glutaminase

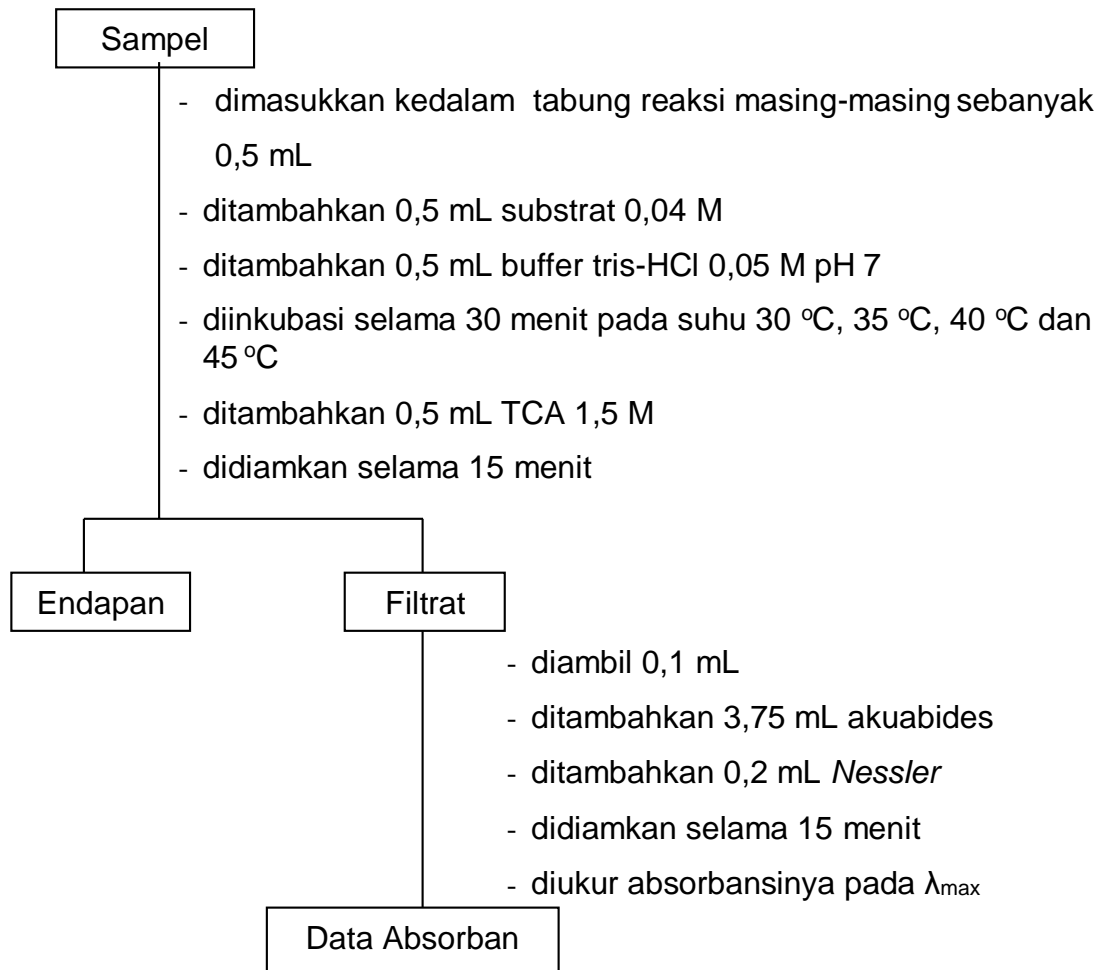
a. Karakterisasi Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim



Ket:

- Dihitung aktivitas enzim dari data absorbansi yang didapatkan

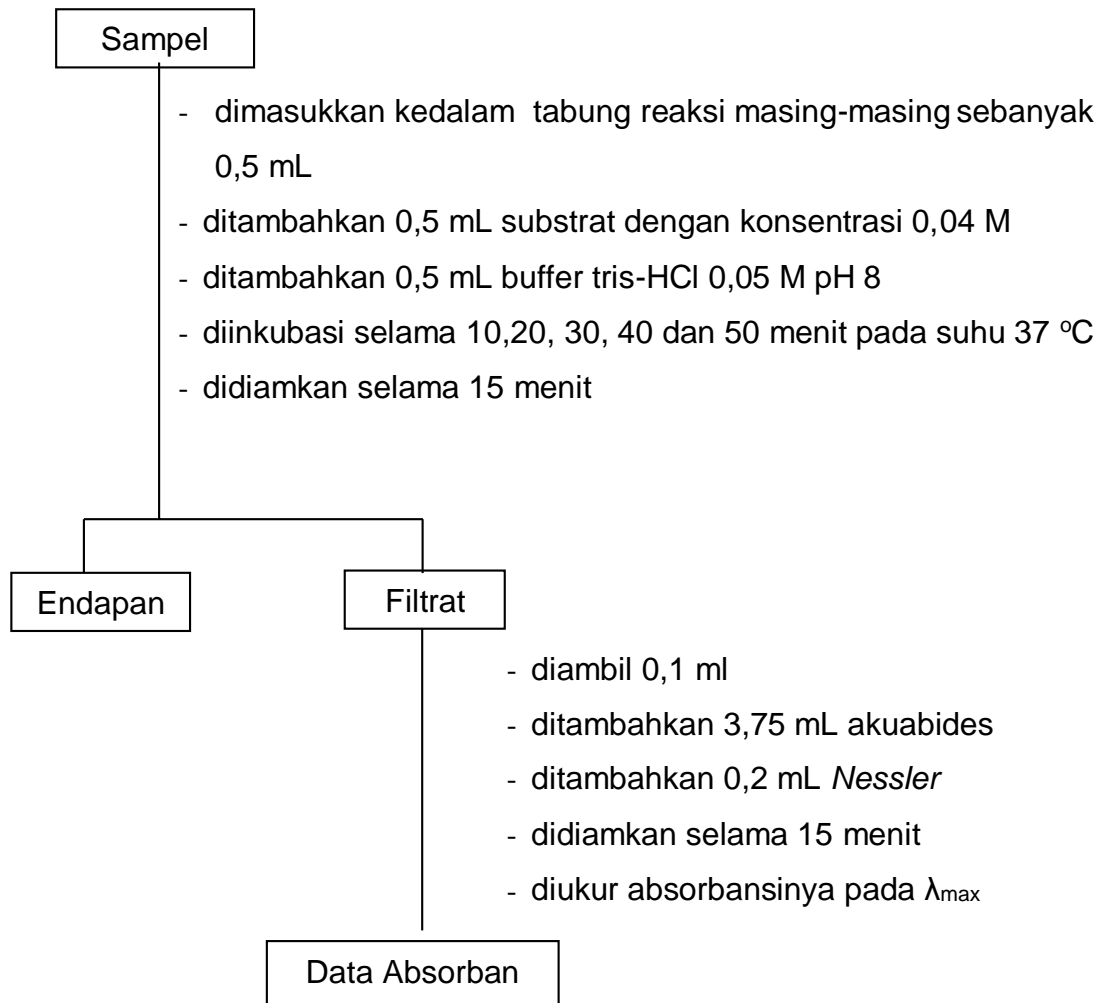
b. Karakterisasi Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim



Ket:

- Dihitung aktivitas enzim dari data absorbansi yang didapatkan

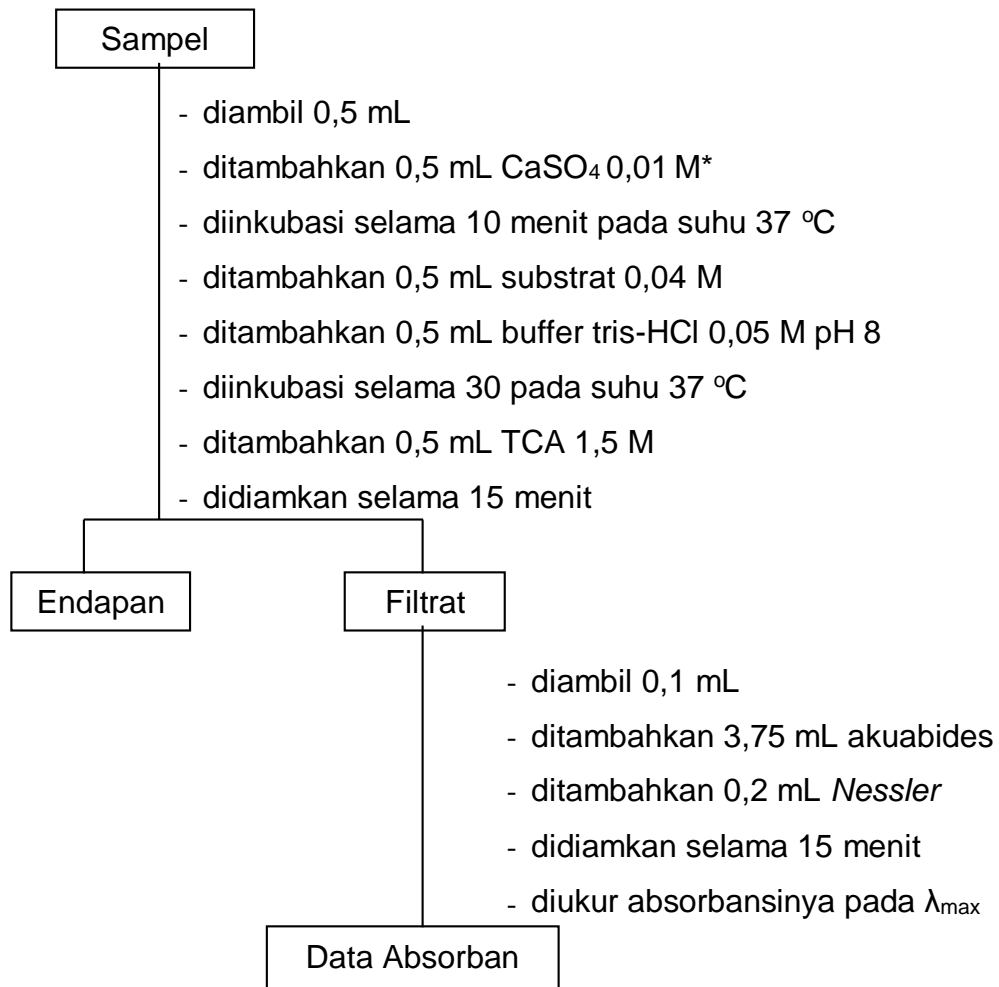
c. Karakterisasi Pengaruh waktu terhadap Aktivitas Enzim



Ket:

- Dihitung aktivitas enzim dari data absorbansi yang didapatkan

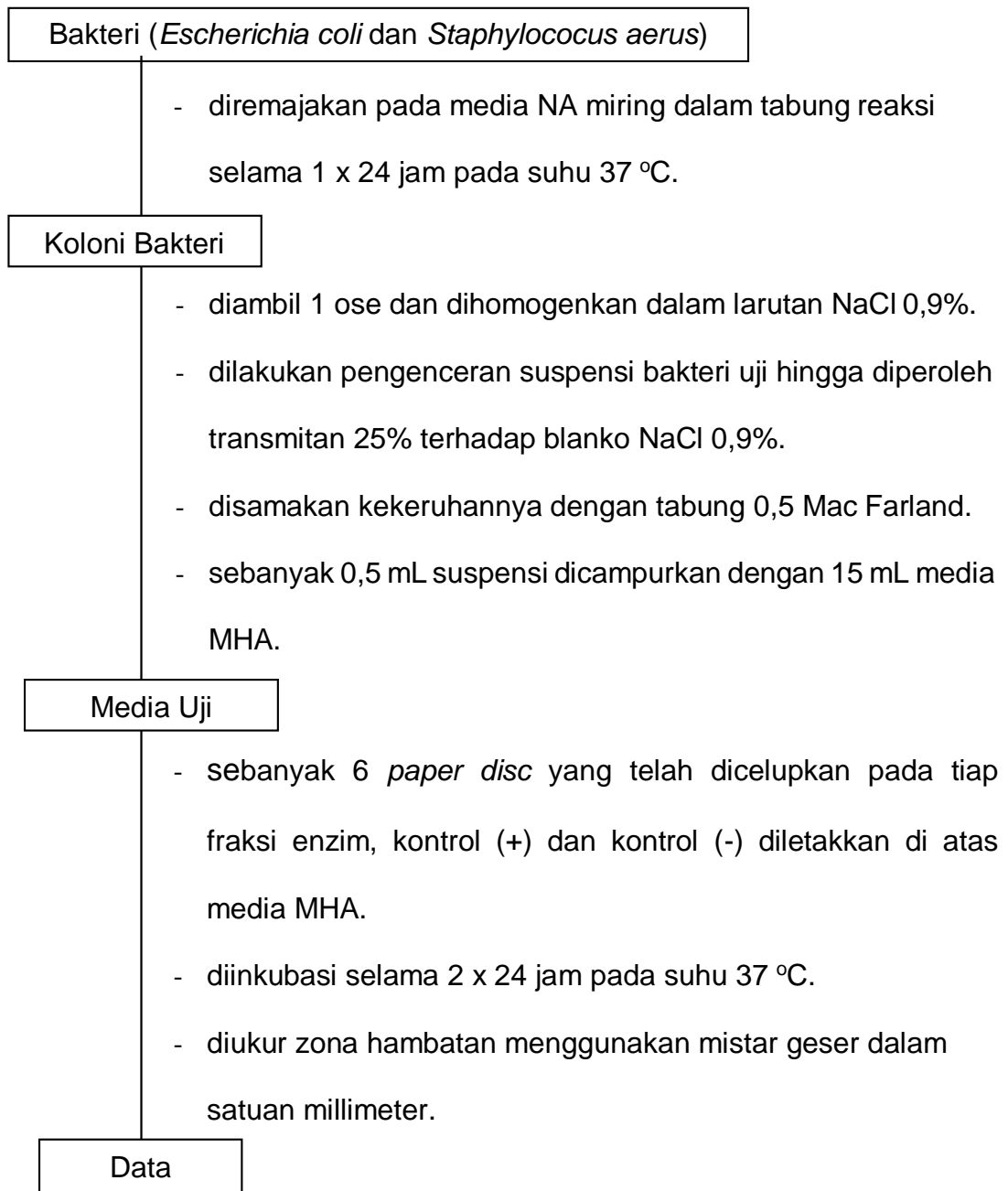
d. Karakterisasi Pengaruh Penambahan logam terhadap Aktivitas Enzim



Keterangan:

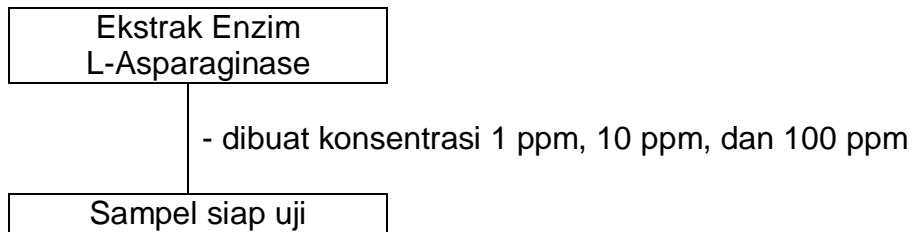
- Perlakuan yang sama dilakukan untuk larutan blanko dan larutan kontrol.
- Perlakuan yang sama dilakukan pada penambahan NaCl, MgSO₄, ZnSO₄, KCl, CuSO₄, CoSO₄ dan MnSO₄ 0.01 M
- Dihitung aktivitas enzim dari data absorbansi yang didapatkan.

Lampiran 14. Uji Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

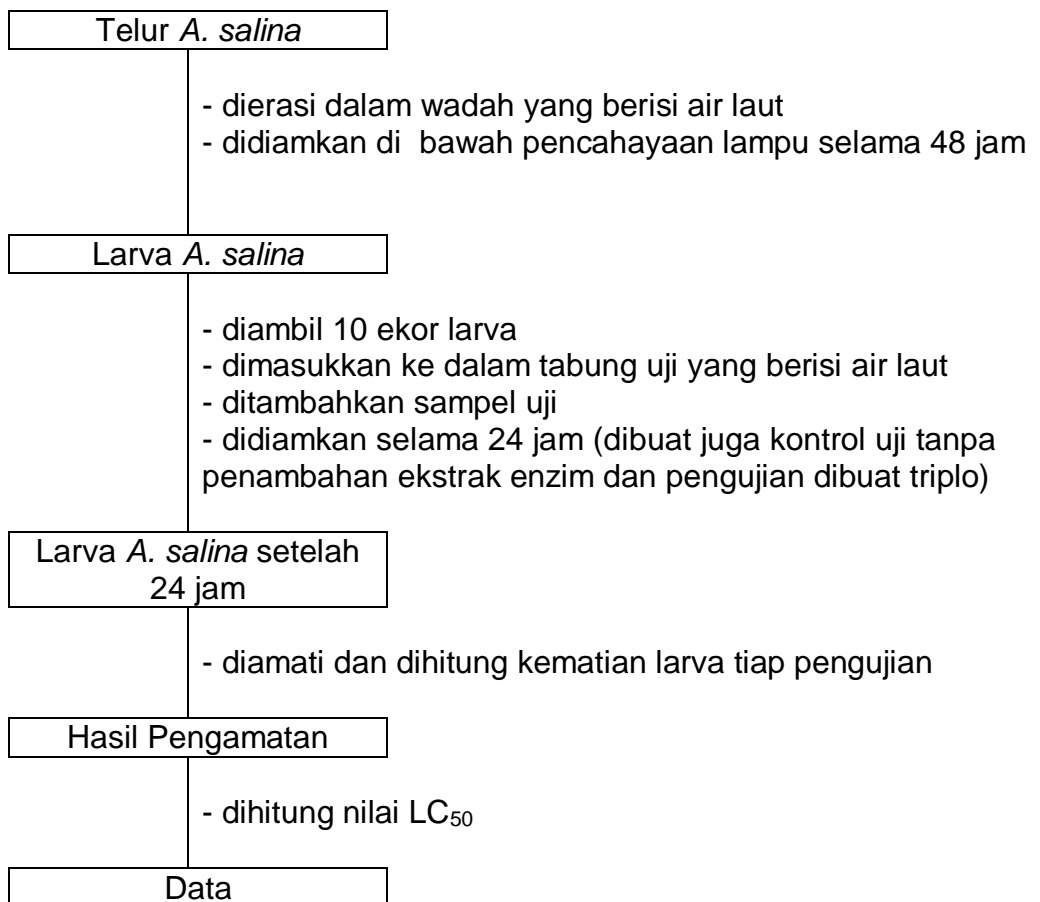


Lampiran 15. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

a. Preparasi Sampel Uji



b. Analisis Sampel



Lampiran 16. Perhitungan Uji BSLT dengan Metode Bliss

- angka mati = \sum larva mati tiap konsentrasi (3 lubang)
- angka hidup = \sum larva hidup tiap konsentrasi (3 lubang)
- Perhitungan \sum mati tiap konsentrasi :
 - 1 $\mu\text{g/mL}$ = angka mati [1]
 - 10 $\mu\text{g/mL}$ = angka mati [1] + angka mati [10],...
 - 1000 $\mu\text{g/mL}$ = angka mati [10] + angka mati [100] + angka mati [1000]
+ angka mati [1]
- Perhitungan \sum hidup tiap konsentrasi :
 - 1000 $\mu\text{g/mL}$ = angka hidup [1000]
 - 100 $\mu\text{g/mL}$ = angka hidup [1000] + angka [100],...
 - 1 $\mu\text{g/mL}$ = angka hidup [1000] + angka hidup [100] + angka hidup [10]
+ angka hidup [1]

$$\text{mortalitas} = \frac{\sum \text{mati}}{\sum \text{mati} + \sum \text{hidup}} \times 100\%$$

- Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y
- Nilai LC_{50} = nilai konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50%
- Nilai LC 50 diperoleh persamaan $y = a + bx$
- Dikatakan toksik bila nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$

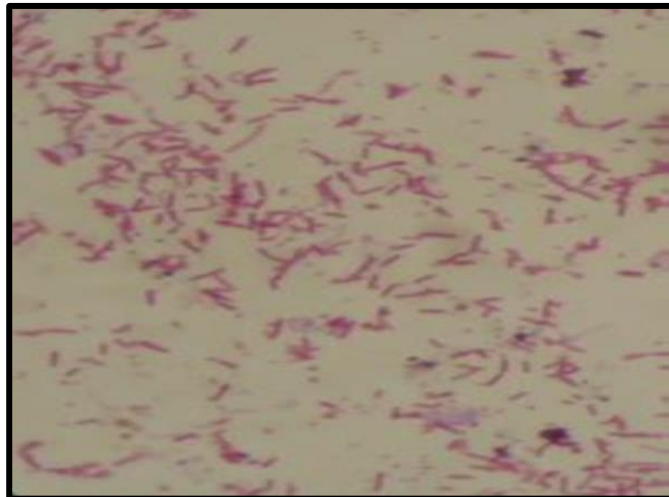
Lampiran 17. Uji Sitotoksitas Enzim L-Glutaminase terhadap Sel Kanker MCF-7

Sel MCF-7 dengan kepadatan 8000 sel/sumuran

- didistribusikan ke dalam sel 96 *well plate*
- diinkubasi selama 48 jam dalam media kultur EMEM
- ditambahkan enzim L-glutaminase dengan konsentrasi 10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{g/mL}$
- diinkubasi selama 48 jam
- ditambahkan 100 μL media EMEM yang mengandung MTT 5 mg/mL
- diinkubasi selama 3 jam pada 37 °C.
- dilarutkan dengan penambahan reagen *stopper sodium dodecyl sulfate* (SDS) 10% dalam HCl 0,01 N
- dibiarkan ditempat gelap selama semalam
- diukur absorbansinya dengan ELISA *reader*

Data

Lampiran 18. Isolat Bakteri penghasil enzim L-glutaminase dari *Eucheuma spinosum*



Lampiran 19. . Hasil pengamatan pertumbuhan isolat-isolat bakteri hasil isolasi

No	Kode Isolat	Karakteristik Pertumbuhan		
		Media NA	Media M-9 Cair	Media M-9 Padat
1	1.1	+	+	++
2	1.2	+	+	+
3	1.3	+	+	++
4	2.1.1	+	+	+++
5	2.2.2	+	+	+++
6	2.3.3	+	+	++
7	Kontrol	-	-	-

- Media NA
 - : Tidak ada pertumbuhan koloni
 - + : Terdapat pertumbuhan koloni
- Media M-9 Cair
 - : Tidak ada perubahan warna (orange/kuning jernih)
 - + : Terdapat perubahan warna dari kuning jernih menjadi kuning keruh
- Media M-9 Padat
 - : Tidak terjadi pertumbuhan bakteri/koloni
 - + : Terjadi pertumbuhan koloni di media tanpa perubahan warna
 - ++ : Terjadi pertumbuhan koloni dan perubahan warna dari kuning keruh menjadi pink/merah disekitar koloni setelah 48jam
 - +++ : Terjadi pertumbuhan koloni dan perubahan warna dari kuning keruh menjadi pink/merah disekitar koloni setelah 24 jam

Lampiran 20. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri Simbion Alga Merah *Eucheuma spinosum* Hasil Isolasi

Nomor	Kode Isolasi	Karakteristik Koloni				Sel Morfologi	
		Membentuk	Tepian	Permukaan	Warna	Reaksi Gram	Bentuk
1	1.1	Bulat	Rata	Cembung	Putih	Negatif (-)	batang
2	2.2	Bulat	Rata	Cembung	Kuning	Negatif (-)	batang
3	Kontrol	-	-	-	-	-	-

Lampiran 21. . Karakteristik Hasil Metabolisme Isolat Bakteri L- glutaminase

Reaksi Biokimia			
Kode Isolat	Pengujian		Hasil Pengamatan
1.1	Pewarnaan Gram	Bentuk Gram	Batang Negatif
	TSIA	Slant	Acid
		Butt	Acid
		H ₂ S	-
		Gas	-
	SIM	Indol	-
		Motility	-
MR-VP	MR	+	
	VP	-	
Sitrat		-	
Urea		-	
Uji Karbohidrat	Glukosa	+	
	Laktosa	+	
	Sukrosa	+	
	Mannitol	+	

Keterangan : Reaksi Biokimia

- Media TSI (Triple Sugar Iron)
 - Slant : tempat menggores sampel/isolat (daerah miring)
 - Butt : daerah bagian dalam/bagian dasar media
 - Asam : media berwarna kuning
 - Basa : (Alkali) media berwarna merah
 - H₂S (+) : terdapat endapan hitam dibagian butt
 - H₂S (-) : tidak ada endapan hitam
 - Gas (+) : bila bagian butt terangkat, atau media pecah
 - Gas (-) : media tidak pecah atau terangkat
- Media SIM (Sulfid Indol Motility)
 - Indol (+) : terdapat cincin merah pada bagian atas media
 - Indol (-) : tidak terdapat cincin merah pada bagian atas media
 - Motility (+) : terlihat pertumbuhan disekitar tusukan dan pada permukaan media
 - Motility (-) : tidak ada pertumbuhan disekitar tusukan

- Media Urea
 - + : media berwarna pink
 - : media berwarna kuning
- Media Sitrat
 - + : media berwarna biru
 - : media berwarna hijau
- Media Karbohidrat/uji gula-gula (Manitol, Glukosa, laktosa dan Sukrosa)
 - + : media berwarna kuning (pembentukan asam)
 - : media berwarna merah
 - Gas + : tabung durham terangkat (ada gelembung gas)
 - Gas - : tidak ada gelembung gas dalam tabung durham
- Uji Katalase
 - : Tidak terdapat gelembung udara disekitar koloni
 - + : terdapat gelembung udara disekitar koloni
- MR-VP (Methyl Red-Voges Prouskauer)
 - MR + : ada cincin merah diatas media/media berwarna merah(asam)
 - MR - : media berwarna kuning
 - VP + : ada cincin merah diatas media/media berwarna merah
 - VP - : media berwarna kuning
 - VP +/- : terdapat kabut putih pada media, media tidak berubah warna

Lampiran 22. Urutan dan hasil pembacaan sequencing Basa Nukleotida Isolat ES 1.1

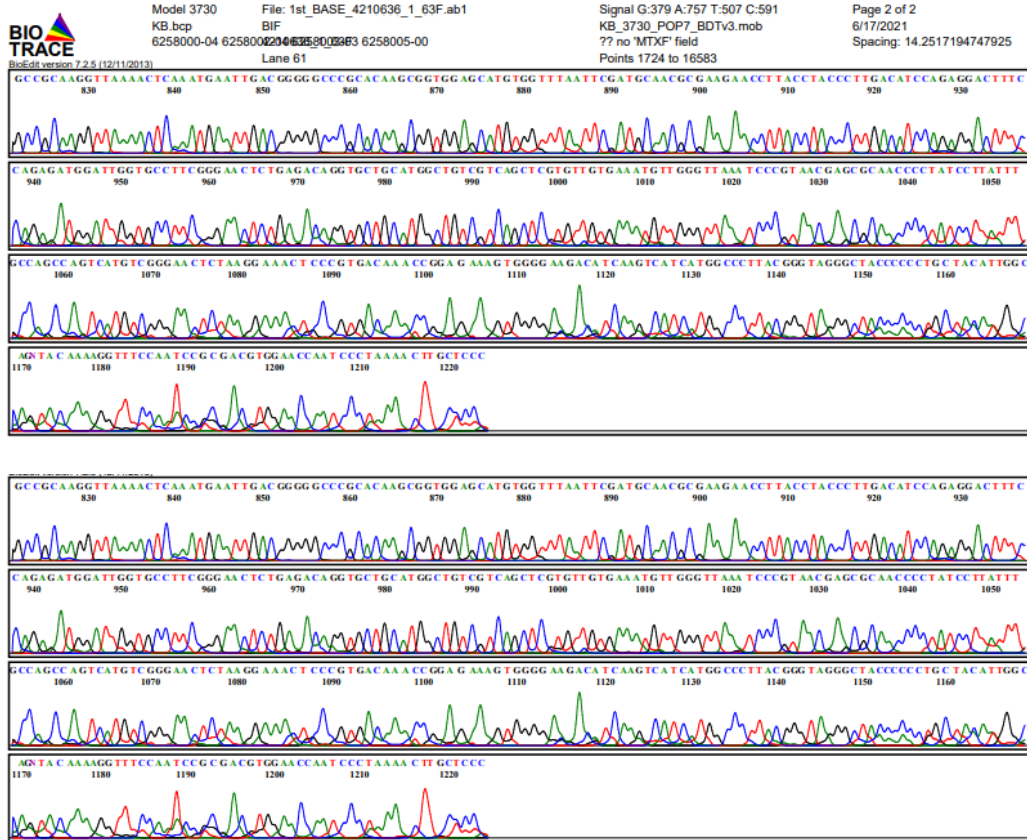
Cobetia marina strain HNS035 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [JN128269.1](#) Length: 1415 Number of Matches: 1

Range 1: 27 to 1243 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

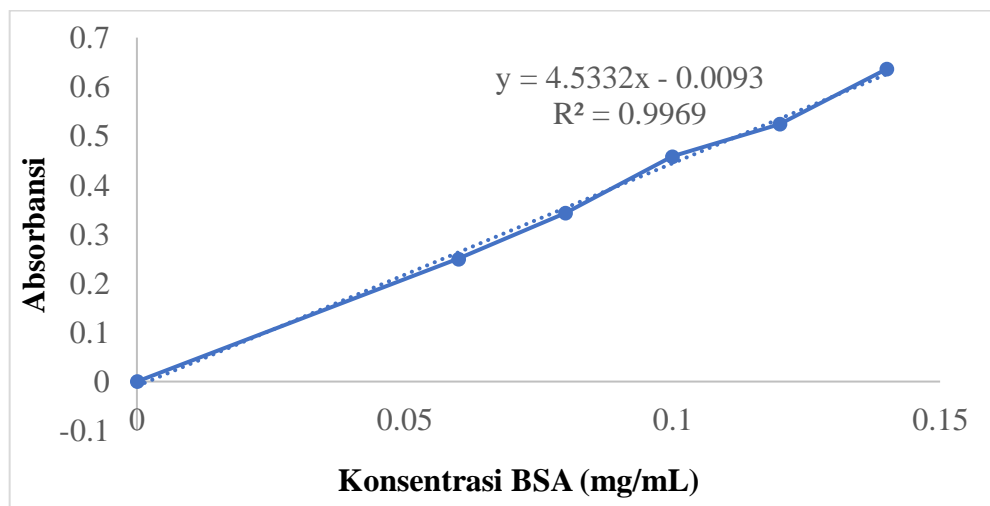
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2113 hits(1144)	0.0	1194/1218(98%)	5/1218(0%)	Plus/Plus
Query 7	CTAGCTTGCTAGGAAGCGTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCATGGGAATCTGCCCGA	66		
Sbjct 27	CTAGCTTGCTAGGAGGCGTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCATGGGAATCTGCCCGA	86		
Query 67	TAGTGGGGGACAACTGGGGAACTCAGGCTAATACCGCATACTCTACGGGAGAAAGC	126		
Sbjct 87	TAGTGGGGGACAACTGGGGAACTCAGGCTAATACCGCATACTCTACGGGAGAAAGC	146		
Query 127	AGGGGATCTTCGGACCTTTCGCTATCGGATGAGCCCATGTCGGATTAGCTTGTGGTGAG	186		
Sbjct 147	AGGGGATCTTCGGACCTTTCGCTATCGGATGAGCCCATGTCGGATTAGCTTGTGGTGAG	206		
Query 187	GTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGG	246		
Sbjct 207	GTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGG	266		
Query 247	GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGC	306		
Sbjct 267	GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGC	326		
Query 307	GAAAGCCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTT	366		
Sbjct 327	GAAAGCCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTT	386		
Query 367	CAGCGAGGAAGAACGCTTGTGGGTTAATACCCCGCAAGAAGACATCACTCGCAGAAGAA	426		
Sbjct 387	CAGCGAGGAAGAACGCTTGTGGGTTAATACCCCGCAAGAAGACATCACTCGCAGAAGAA	446		
Query 427	GCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGA	486		

Lampiran 23. Hasil Sequencing Isolat ES 1.1



Lampiran 25. Kurva Standar *Bovine Serum Albumin* pada λ 630 nm

No	Konsentrasi BSA (mg/mL)	Absorbansi (λ 630 nm)
1	0	0
2	0,06	0,25
3	0,08	0,343
4	0,1	0,458
5	0,12	0,524
6	0,14	0,636



Lampiran 26. Data Hasil Penentuan Waktu Produksi Optimum Protein dari Bakteri Symbion dan *Optical Density*

No	Waktu Fermentasi	OD (λ 650 nm)	Absorbansi (λ 650 nm)	Aktivitas L-glutaminase (U/mL)
1	0	0.321	0.061	0.08
2	6	0.792	0.075	0.26
3	12	0.864	0.068	0.17
4	18	0.88	0.077	0.29
5	24	0.962	0.099	0.57
6	30	1.1	0.106	0.67
7	36	1.204	0.121	0.86
8	42	1.339	0.117	0.81
9	48	1.404	0.136	1.06
10	54	1.411	0.14	1.11
11	60	1.304	0.125	0.91
12	66	0.998	0.101	0.60
13	72	0.721	0.08	0.33

No	Waktu Fermentasi	OD (λ 650 nm)	Absorbansi (λ 650 nm)	Aktivitas L-asparaginase (U/mL)
1	0	0.475	0.057	0.03
2	6	0.624	0.091	0.47
3	12	0.939	0.1	0.59
4	18	0.903	0.12	0.85
5	24	1.284	0.118	0.82
6	30	1.313	0.122	0.88
7	36	1.423	0.145	1.18
8	42	1.433	0.151	1.25
9	48	1.223	0.133	1.02
10	54	0.9	0.111	0.73
11	60	0.694	0.08	0.33

Lampiran 27. Perhitungan Penambahan Ammonium Sulfat pada Tahap Fraksinasi berbagai Tingkat Kejenuhan

Fraksi Enzim	Fraksi (%)	Volume Filtrat (mL)	Bobot Ammonium Sulfat (g)
F0	Ekstrak Kasar	800	0
F1	0-40%	800	180.8
F2	40-60%	800	96
F3	60-80%	770	99.33

Penambahan Ammonium Sulfat:

a. 0-40% = $226 \text{ g} \times 800 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 180.8 \text{ g}$

b. 40-60% = $120 \text{ g} \times 800 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 96 \text{ g}$

c. 60-80% = $129 \text{ g} \times 770 \text{ mL} / 1000 \text{ mL} = 99.33 \text{ g}$

Lampiran 28 Pengukuran Kadar Protein Dialisat Enzim L-Glutaminase

Fraksi Protein	Absorbansi	Kadar Protein (mg/mL)	Faktor Pengenceran	Kadar Protein (S) (mg/mL)
EK	0,987	0,219	100	21,977
F1	0,440	0,099	100	9,911
F2	0,052	0,013	100	1,352
F3	0,086	0,021	100	2,102

Dari hasil regresi kurva larutan standar diperoleh persamaan garis

$y = 4,5332x - 0,0093$. Maka data pada tabel di atas di peroleh dengan cara:

$$X_{EK} = \frac{y - 0,0093}{4,5332} = \frac{0,987 - 0,0093}{4,5332} = 0,219 \text{ mg/mL}$$

$$X_1 = \frac{y - 0,0093}{4,5332} = \frac{0,440 - 0,0093}{4,5332} = 0,099 \text{ mg/mL}$$

$$X_2 = \frac{y - 0,0093}{4,5332} = \frac{0,052 - 0,0093}{4,5332} = 0,013 \text{ mg/mL}$$

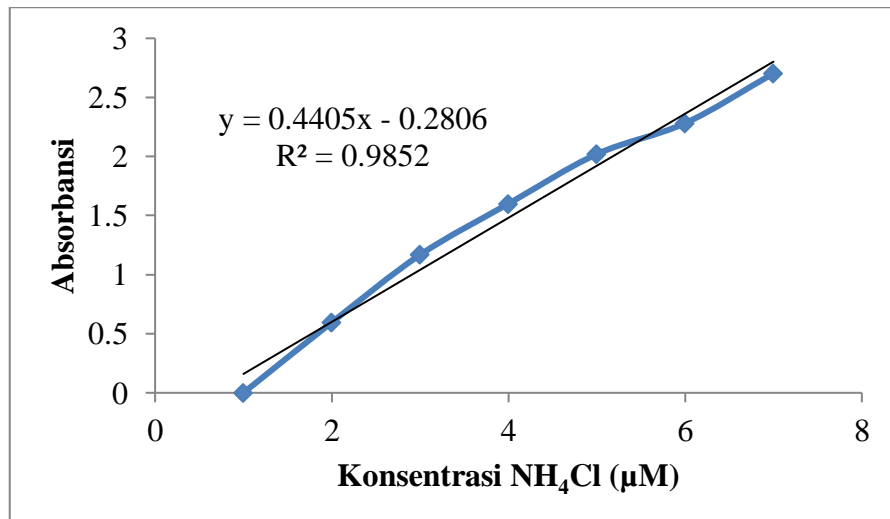
$$X_3 = \frac{y - 0,0093}{4,5332} = \frac{0,086 - 0,0093}{4,5332} = 0,021 \text{ mg/mL}$$

Selanjutnya dikalikan dengan faktor pengenceran (fp = 100), sehingga:

$$\begin{aligned} x &= 0,021 \text{ mg/mL} \times 100 \\ &= 2,102 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Lampiran 29. Kurva Standar NH₄Cl pada λ 390 nm

No	Konsentrasi NH ₄ Cl (mg/mL)	Konsentrasi NH ₄ Cl (μM)	Absorbansi
1	0	0	0
2	0,02	0,374	0,596
3	0,04	0,748	1,168
4	0,06	1,121	1,6
5	0,08	1,495	2,02
6	0,10	1,869	2,282
7	0,12	2,243	2,703



Lampiran 30. Tabel Aktivitas Enzim L-Glutaminase

Fraksi Enzim	Aktivitas L-Glutaminase (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
EK	11,0833	21,977	0,5043
F1	19,0539	9,911	1,9225
F2	15,1323	1,352	11,1925
F3	27,8775	2,102	13,2624

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{y-b}{a} \times \frac{V \text{ total}}{V \text{ analisis}} \times \frac{1}{V \text{ enzim} \times t \text{ inkubasi}}$$

Data absorbansi yang diperoleh, disubstitusikan ke dalam persamaan standar

$y = 0,4405x - 0,2806$, dimana y adalah absorbansi aktivitas enzim

$$X_{EK} = \frac{1,087 - 0,2806}{0,4405} \times \frac{2}{0,1} \times \frac{1}{0,5 \times 30} = 11,0833 \text{ U/mL}$$

$$X_1 = \frac{1,9 + 0,2806}{0,4405} \times \frac{2}{0,1} \times \frac{1}{0,5 \times 30} = 19,0539 \text{ U/mL}$$

$$X_2 = \frac{1,5 + 0,2806}{0,4405} \times \frac{2}{0,1} \times \frac{1}{0,5 \times 30} = 15,1323 \text{ U/mL}$$

$$X_3 = \frac{2,8 + 0,2806}{0,4405} \times \frac{2}{0,1} \times \frac{1}{0,5 \times 30} = 27,8775 \text{ U/mL}$$

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

$$= \frac{27,8775}{2,102} \text{ U/mg}$$

$$= 13,2624 \text{ U/mg protein}$$

Lampiran 31. Karakterisasi Aktivitas Enzim L-Glutaminase

A. Aktivitas Enzim L-Glutaminase terhadap Pengaruh Variasi pH

No	pH	Absorbansi	Aktivitas Enzim (U/mL)
1.	6	0.086	1,2696
2.	7	0.120	1,6029
3.	8	0.180	2,1911
4.	9	0.012	0,5441
5.	10	0.009	0,5147

B. Aktivitas Enzim L-Glutaminase terhadap Pengaruh Variasi Suhu

No	Suhu (°C)	Absorbansi	Aktivitas Enzim (U/mL)
1.	30	0.035	0,5221
2.	35	0.060	0,9147
3.	40	0.050	0,7166
4.	45	0.015	0,5735

C. Aktivitas Enzim L-Glutaminase terhadap Pengaruh Variasi Waktu Inkubasi

No	Waktu (menit)	Absorbansi	Aktivitas Enzim (U/mL)
1.	10	0.005	0,4754
2.	20	0.025	0,6715
3.	30	0.055	0,9656
4.	40	0.040	0,7225
5.	50	0.010	0,5245

D. Aktivitas Enzim L-Glutaminase terhadap Pengaruh Penambahan Variasi Logam

No	Logam	Absorbansi	Aktivitas Enzim (U/mL)	Aktivitas Relatif (%)
1.	Kontrol	0.09	1,3088	100
2.	Ca ²⁺	0,021	0,6323	48,31
3.	Na ²⁺	0,012	0,5441	41,57
4.	Mg ²⁺	0,095	1,3578	103,74
5.	Zn ²⁺	0,05	0,9167	70,04
6.	K ²⁺	0,035	0,7670	58,60
7.	Cu ²⁺	0,030	0,7205	55,05
8.	Co ²⁺	0,130	1,7009	129,95
9.	Mn ²⁺	0,135	1,7500	133,71

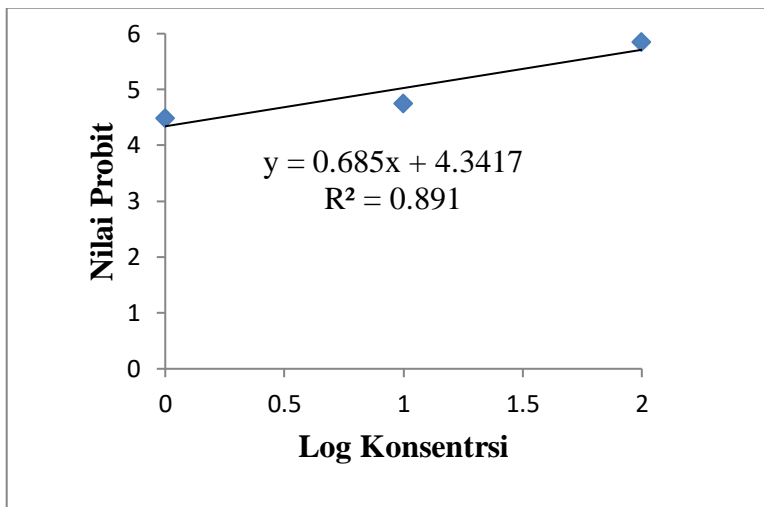
Lampiran 32. Tabel Harga Probit

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

Lampiran 33. Perhitungan LC₅₀

A. Perhitungan LC₅₀ pada Fraksi Ekstrak Kasar

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	30	4,48
1	40	4,75
2	80	5,85



$$y = 0,685x + 4,3417$$

$$x = \frac{y - 4,3417}{0,685}$$

Untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (Y) = 5

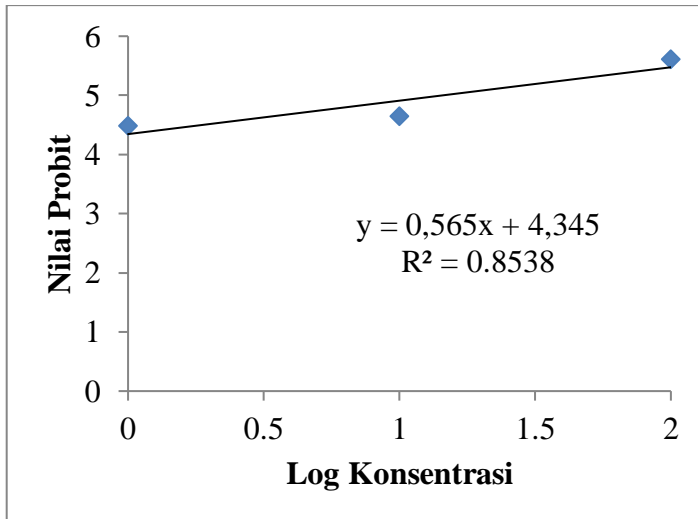
$$x = \frac{5 - 3,468}{1,415}$$

$$x = 1,000455927 = \text{Log LC}_{50}$$

sehingga LC₅₀ = 10,010 ppm

B. Perhitungan LC₅₀ pada Fraksi 0-40%

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	30	4,48
1	36	4,64
2	73	5,61



$$y = 0,565x + 4,345$$

$$x = \frac{y - 4,345}{0,565}$$

Untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (Y) = 5

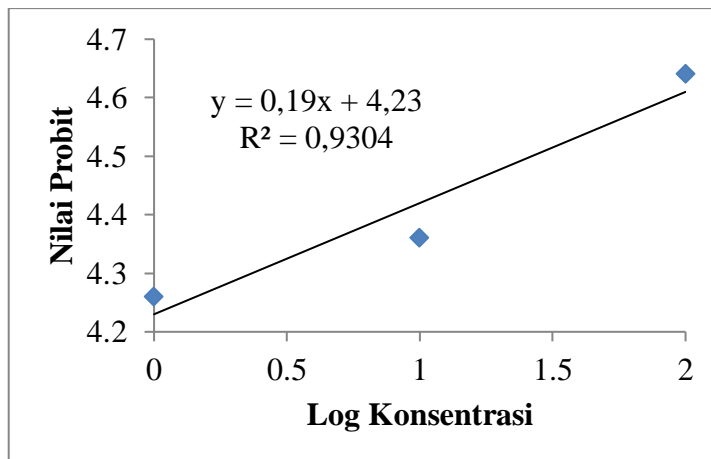
$$x = \frac{5 - 4,345}{0,565}$$

$$x = 1,159292 = \text{Log LC}_{50}$$

sehingga LC₅₀ = 14,43085 ppm

C. Perhitungan LC₅₀ pada Fraksi 40-60%

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	23	4,26
1	26	4,36
2	36	4,64



$$y = 0,19x + 4,23$$

$$x = \frac{y - 4,23}{0,19}$$

Untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (Y) = 5

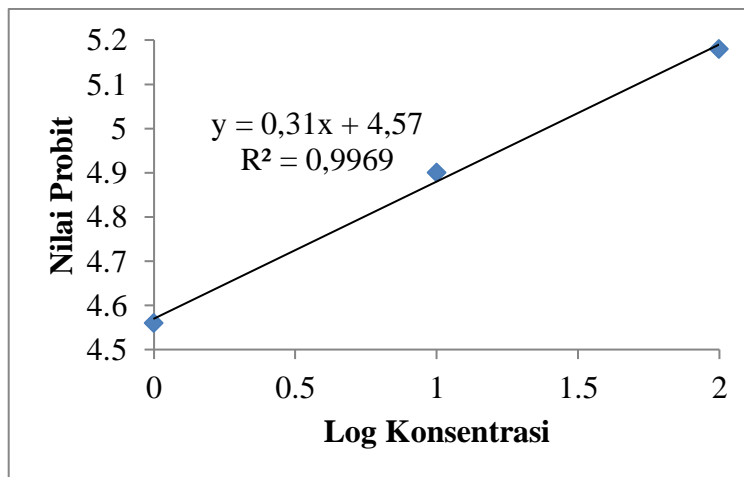
$$x = \frac{5 - 4,23}{0,19}$$

$$x = 4,052632 = \text{Log LC}_{50}$$

sehingga LC₅₀ = 11288 ppm

D. Perhitungan LC₅₀ pada Fraksi 60-80%

Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
0	33	4,56
1	46	4,9
2	57	5,18



$$y = 0,31x + 4,57$$

$$x = \frac{y - 4,57}{0,31}$$

Untuk memperoleh kematian 50% maka nilai probitnya (Y) = 5

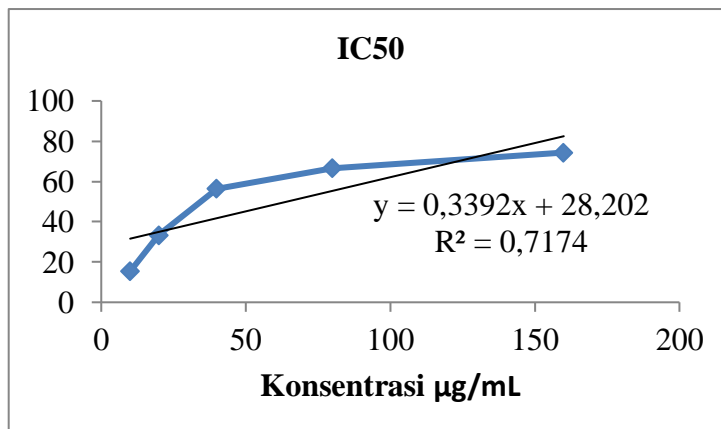
$$x = \frac{5 - 4,57}{0,31}$$

$$x = 1,589615 = \text{Log LC}_{50}$$

sehingga LC₅₀ = 38,87008 ppm

Lampiran 34. Perhitungan IC₅₀

Konsentrasi (µg/mL)	Viabilitas Sel %	% Aktivitas
10	84,62	15,38
20	66,67	33,33
40	43,59	56,41
80	33,33	66,67
160	25,64	74,36



$$y = 0,3392x + 28,202$$

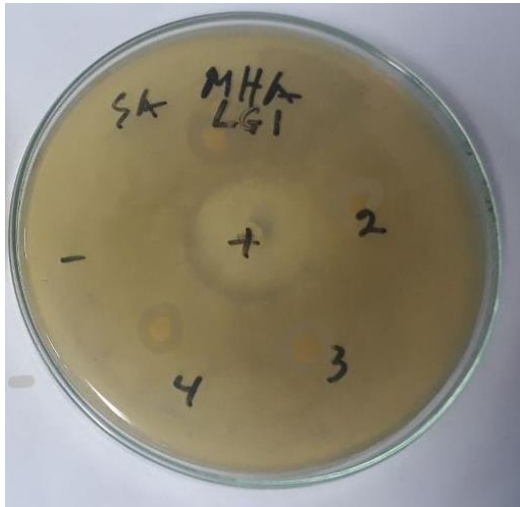
$$x = \frac{y - 28,202}{0,3392}$$

Untuk memperoleh nilai hambat 50% maka nilai (Y) = 50

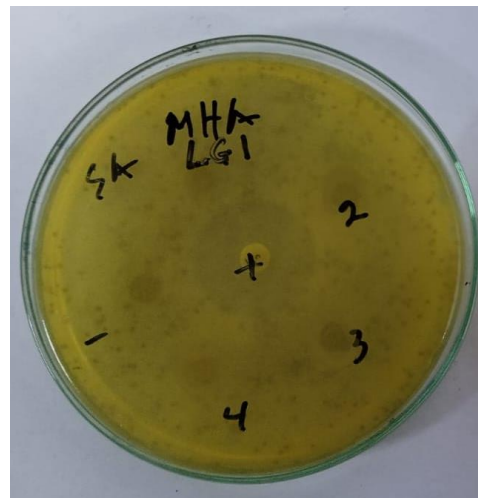
$$x = \frac{50 - 28,202}{0,3392}$$

$$x = 64,2629 \text{ jadi IC}_{50} = 64,2629 \text{ µg/mL}$$

Lampiran 35. Hasil Pengamatan Uji Antibakteri Enzim L-Glutaminase



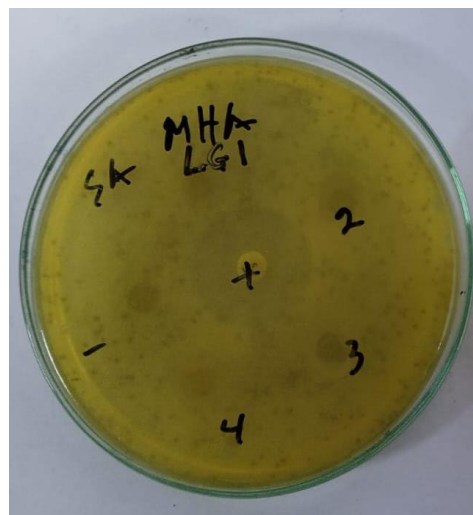
***S. aureus* (24 jam)**



***S. aureus* (48 jam)**



***E. coli* (24 jam)**



***E. coli* (48 jam)**

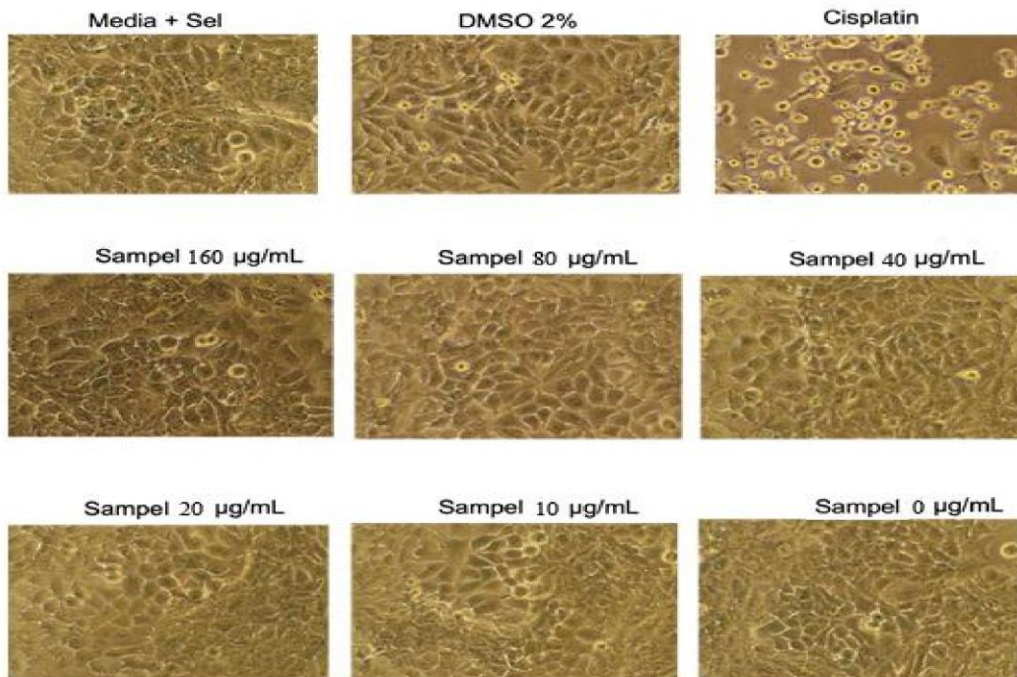
Diameter zona hambatan fraksi enzim L-glutaminase terhadap pertumbuhan *S. aureus* (I) dan *E.coli* (II) pada masa inkubasi 24 jam dan 48 jam

Keterangan: B1 : Fraksi enzim L-glutaminase F1
B2 : Fraksi enzim L-glutaminase F2
B3 : Fraksi enzim L-glutaminase F3
B4 : Ekstrak kasar enzim L-glutaminase

Lampiran 36. Hasil Pengamatan Uji MTT Enzim L-Asparaginase





















Kontrol Media	Media +Sel	Cisplatin	Pelarut	Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
				160	80	40	20	10	0

Well Plate hasil uji MTT enzim L-Asparaginase terhadap Sel MCF-7

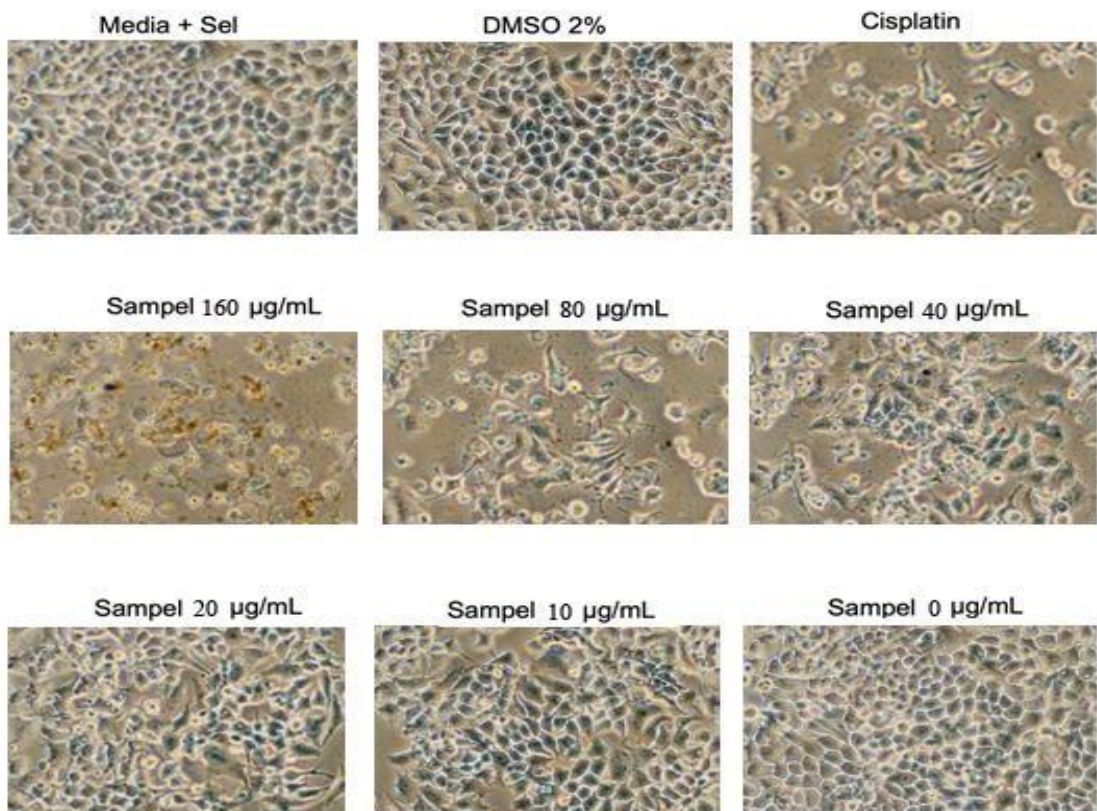


Morfologi Sel MCF-7 hasil uji MTT Enzim L-Asparaginase pada variasi kadar 0, 10, 20, 40, 80, dan 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Lampiran 37. Hasil Pengamatan Uji MTT L-Glutaminase

Kontrol Media	Media + Sel	Cisplatin	Pelarut	Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)					
				160	80	40	20	10	0
									
									

Well Plate hasil uji MTT enzim L-Glutaminase terhadap Sel MCF-7



Morfologi Sel MCF-7 hasil uji MTT Enzim L-Glutaminase pada variasi kadar 0, 10, 20, 40, 80, dan 160 $\mu\text{g/mL}$

Lampiran 38. Klasifikasi Ilmiah Bakteri *Symbion Cobetia marina* dan *Alcanivorax marinus*

Klasifikasi Bakteri Symbion *Cobetia marina* :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Pseudomonadota
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Oceanospirillales
Family	: Halomonadaceae
Genus	: <i>Cobetia</i>
Species	: <i>Cobetia marina</i>

Klasifikasi Bakteri Symbion *Alcanivorax marinus* :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Oceanospirillales
Family	: Alcanivoraceae
Genus	: <i>Alcanivorax</i>
Species	: <i>Alcanivorax marinus</i>

Lampiran 39. Klasifikasi Ilmiah dan Gambar Sampel Alga *Eucheuma spinosum* yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Biliphyta
Divisi	: Rhodophyta
Subdivisi	: Eurhodophytina
Kelas	: Florideophyceae
Subkelas	: Rhodymeniophycideae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Areschougiaceae
Genus	: <i>Eucheuma</i>
Spesies	: <i>Eucheuma spinosum</i>



Lampiran 40. Hasil identifikasi rumput laut oleh PUI-P2RL



**PUSAT UNGGULAN IPTEKS PENGEMBANGAN DAN PEMANFAATAN
RUMPUT LAUT UNIVERSITAS HASANUDDIN (PUI-P2RL-UNHAS)**

Gedung Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
(LPPM) Lantai 5 Universitas Hasanuddin
Jalan Perintis Kemerdekaan Km. 10, Tamalanrea, Makassar 90245
email: pui-p2rl@unhas.ac.id



05 September 2022

Nomor : 023/UN4.PUI-P2RL/AD/IX/2022
Lamp. : -
Hal : Hasil Identifikasi Rumput Laut

Kepada Yth.
Mukriani
Mahasiswa S3 Ilmu Kedokteran UNHAS
di -
Makassar

Dengan hormat,

Berdasarkan Surat Permohonan yang saudara kirimkan kepada Ketua PUI-P2RL-UNHAS untuk melakukan Identifikasi/Determinasi pada sampel rumput laut yang berasal dari Desa Cikoang, Kec. Mangarabombang, Kab. Takalar, Prov. Sulawesi Selatan maka dengan ini kami menyampaikan hasil identifikasi rumput laut tersebut sebagai berikut:

1. Sampel rumput laut adalah jenis *Eucheuma spinosum/ Eucheuma denticulatum*
2. Varietas : Tambalang, warna coklat
3. Karena diambil pada kondisi suhu dan salinitas rendah (musim hujan) maka pigmen yang dominan adalah Phycocyanin

Identifikasi tersebut dilakukan oleh Dr. Irmawati, S.Pi., M.Si sebagai pakar di bidang Taksonomi Alga.

Demikianlah hasil identifikasi yang dapat kami sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas perhatiannya, diucapkan terima kasih.

Ketua PUI-P2RL-UNHAS

PUI-P2RL-UNHAS
Kasmia, STP, MP, Ph.D
NIP. 197408162003122001

Tembusan:

1. Arsip

Lampiran 41. Beberapa dokumentasi kegiatan penelitian Enzim L-Asparaginase dan L- glutaminase



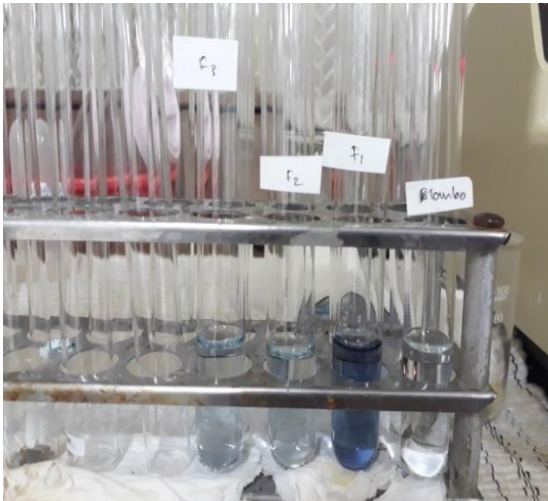
Preparasi Sampel



Proses inkubasi (peremajaan bakteri)



Sentrifugasi hasil Shaker



Pengukuran kadar protein hasil dialisis



Proses shaker optimasi Substrat



Proses Dialisis



Uji aktivitas enzim hasil dialisis



Pengujian toksisitas fraksi enzim L-glutaminase

