

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, H., Wahyudi, A.T., dan Yuhana, M. 2011. Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Jurnal Ilmu Kelautan*. **16**(1): 35-40.
- Alviyulita, M., Hasibuan, P. R. M., dan Hanum, F. 2014. Pengaruh Penambahan Ammonium Sulfat (NH₄)₂SO₄ dan Waktu Perendaman Buffer Fosfat Terhadap Perolehan *Crude* Papain dari Daun Pepaya (*Carica papaya*, L). *Jurnal Teknik Kimia*. **3**(3): 8-12.
- Andriani, Z., Fasya, A. G., Hanapi, A. 2015. Antibacterial Activity of The Red Algae *Eucheuma cottonii* Extract from Tanjung Coast, Sumenep Madura. *Journal of Chemistry*. **4**(3): 93-100.
- Anggadiredja, J. T., A. Zatznika, H. Purwoto., dan S. Istini. 2007. *Rumput Laut Pembudidayaan, Pengolahan, dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Asmi, N., Ahmad, A., Karim, H., Massi, M. N., Natsir, H., Karim, A., Taba, P., Dwyana, Z., and Ibrahim, M. 2020. Antibacterial Effect of Protein Hydrolysates Isolate from Bacteria *Enterobacter hormaechei* Associated with Marine Algae *Sargassum* sp. *Rasayan Journal Chemistry*. **13**(3): 1606-1611.
- Bahry, M. S., dan Pringgenies, D. 2016. Isolasi Bakteri Simbion Moluska Penghasil Senyawa Antibakteri Multi Drug Resistant (MDR). *Prosiding Seminar Nasional Tahun ke-V Hasil-hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*.
- Basir, A., Tarman, K., Desniar. 2017. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Alga Hijau *Halimeda gracilis* dari Kabupaten Kepulauan Seribu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **20**(2).
- Bechinger, B., Gorr, S. U. 2017. Antimicrobial peptides: Mechanism of action and resistance. *Journal Dent Res*. 96:254-260.
- Berdanier, C. D, Dwyer, J., Feldman, E. B. 2006. *Handbook of nutrition and food. Second Edition*. CRC Press: New York
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga: Jakarta.

- Birkemo, G. A., O'Sullivan, O., Ross, R. P., Hill, C. 2009. Antimicrobial activity of two peptides casecidin 15 and 17, found naturally in bovine colostrum. *Journal Appl Microbiol.* 106:233-240.
- Brogden, K. A. 2005. Antimicrobial Peptides: Pore Former Or Metabolic Inhibitor In Bacteria?. *Nature Review Microbiology*, **3**(3): 238-250
- Cappuccino, J. G., dan Sherman, N., 1992, *Microbiology a Laboratory Manual*, Rockland Community College, Suffern: New York.
- Dahlan, A., Wahyuni, S., dan Ansharullah. 2017. Morfologi dan Karakterisasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (UM 1.3A) dari Proses Fermentasi *Wikau maombo* Untuk Studi Awal Produksi Enzim Amilase. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan.* **2**(4): 657-663.
- Davis, W. W. and Stout, T. R. 1971. Disc Plate Methods of microbiological Antibiotic Assay. *Journal Microbiology.* (4): 659-665.
- Dulal, P. 2010. Protein or peptide drugs: Application, problems and solutions. *Biotechnol Soc Nepal.* 2010:1-5.
- Fan, X. Bai, L., Zhu, L., Yang, L., and Zhang, X. 2014. Marine Algae-Derived Bioactive Peptides for Human Nutrition and Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **62**(38): 9211-9222.
- Fatchiyah, 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis.* Erlangga: Jakarta.
- Fosgerau, K., dan Hoffmann, T. 2015. Peptide therapeutics: Current status and future directions. *Drug Discov Today.* 20:122-128.
- Ganiswara, S. G. 2007. *Farmakologi dan Terapi.* Ed. 5. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta.
- Hamida, M. N., Rianingsih, L., dan Romadhon. 2019. Aktivitas Antibakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan.* **1**(2): 11-20.
- Hamzah, M. Z., Simbala, H. E. I., Yudistira, A. 2018. Pengujian Aktivitas Molekuler Menggunakan Gen 16S rRNA Bakteri Simbion Endofit Yang Diisolasi dari Alga Merah (*Galaxaura rugosa*). *Parmacon: Jurnal Ilmiah Farmasi.* **7**(3): 2302-2493.
- Hasnaliza, H., Maskat, M. Y., Wan, A. W. M., Mamot, S. 2010. The effect 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.
- Hendri, Muhammad., Darmanto, J. S., Prayitno, Budi., Radjasa, O. K., and Elvita. 2017. The Isolation of Metabolite Compounds from Seaweed (*Halimeda gracillis*) in the Waters of Teluk Lampung as a Source of Antibacterial Compounds. *International Journal of Marine Science*. 31: 297-307.
- Hollants, J., Laliaert, F., Clerck, O. D., and Willems, A. 2012. What We Can Learn From Shushi: A Review on Seaweed-Bacterial Associations. *FEMS Microbiol Ecol*. 1-16.
- Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., Wu, G. 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal Anim Sci Biotechnol*. 8:1-13.
- Iksan, K. H. 2005. *Kajian Pertumbuhan, Produksi Rumput Laut (Euचेuma cottonii), dan Kandungan Karagenan pada Berbagai Bobot Bibit dan Asal Thallus di Perairan Desa Guraping Oba Maluku Utara*. Tesis tidak dipublikasikan. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Irianto. K. 2006. *Mikrobiologi*. Yrama Widya: Bandung
- Janakidevi, V., Yokesh, B. M., Umrani, R., Kumaraguru, A. K. 2013. Antagonistic Activity of Seaweed Associated Bacteria Against Human Pathogens. *International Journal Cur Microbiol App Sci*, 2(12): 140-147.
- Juliantina, F. R. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *JKKI-Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Kosasi, Cicilia., Lolo, W. A., Sedewi, S. 2019. Isolation and Antibacterial Activity Test from Bacterial Associated With Algae *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh and Biochemically Identification. *Scientific Journal of Pharmacy*. 8(2): 2302-2493.
- Kusumaningtyas, E., Widiastuti, R., Kusumaningrum, H. D., Suhartono, M. T. 2015. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Hidrolisat hasil Hidrolisis Protein Susu kambing dengan Ekstrak Kasar Bromelin. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 26(2): 179-188.

- Lai Y., dan Gallo, R. L. 2009. AMPed up immunity: How Antimicrobial Peptides Have Multiple Roles In Immune Defense. *Trends Immunol.* 30:131-141.
- Lestari, D. dan Giordan, E. 2020. Peptida Bioaktif Kasein Susu Kambing Sebagai Agen Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Agroindustri Halal.* 6(1): 28-38.
- Manninen, A. H. 2009. Protein Hydrolysates In Sports Nutrition. *Nutrition Metabolism.* 6(38):1-5.
- Mantalvao, S. 2016. *Screening of Marine Natural Products and Their Synthetic Derivatives for Antimicrobial and Antiproliferative Properties.* [Dissertation]. Centre for Drug Research Division of Pharmaceutical Bioscience Faculty of Pharmacy University of Helsinki, Finland.
- Mardiah. 2017. Uji resistensi *Staphylococcus aureus* Terhadap Antibiotik, Amoxillin, Tetracyclin dan Propolis. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan.* 8(16): 1-6.
- Mishra, G. K., Sharma, A., Deshpande, K., dan Bhand, S. 2014. Flow Injection Analysis Biosensor for Urea Analysis in Urine Using Enzyme Thermistor. *Applied Biochemistry Biotechnology.* 174(3):998–1009.
- Muchtadi, D. 2010. *Teknik Evaluasi Nilai Gizi Protein.* Alfabeta: Bandung.
- Muharni F, Farida S. Antibacterial activity test of ethanol extract of medicinal plants of musli tribe in Musi Banyuasin district, South Sumatra. *Journal of Indonesian Pharmacy.* 2017; 7(2): 127-135.
- Muthiadin, C. 2015. Purifikasi Antigen Outer Membrane Protein (OMP) dari Isolat *Salmonella enterica* Serovar Typhi. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan.*
- Mycek, M. J. 2001. *Farmakologi: Ulasan Bergambar Edisi 2.* Widya Medika: Jakarta.
- Nasution, U. J., Wijaya, S. M., Wibisana, A., Safarrida, A., Rachmawati, I., Puspitasari, D. J., Naim, S., Mahsunah, A. H., Wulyoadi, S., dan Suyanto. 2018. Pemurnian Enzim Sefalosporin-C Asilase dan Optimasi Proses Kromatografi Penukar Ion. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia.* 5(2): 119-126.

- Natsir, H., Patong, A. R., Suhartono, M. T., and Ahmad, A. 2013. Isolation and Purification of Thermostable Chitinase *Bacillus licheniformis* Strain HSA3-1a from Sulili Hot Springs In Shouth Sulawesi Indonesia. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. **4**(3): 1252-1259.
- Nirmagustina, D. E. dan Wirawati, C. U. 2014. Potensi Susu Kedelai Asam (Soygurt) Kaya Bioaktif Peptida Sebagai Antimikroba. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. **14**(3): 158-166.
- Odinstova, T. I., Vassilevski, A. A., Slavokhotova, A. A., Musolyamov, A. K., Finkina, F. I., Khadeeva, N. V., Rogozhin, E. A., Korostyleva, T. V., Pukhalsky, V. A., Grishin, E. V. 2009. A novel Antifungal hevein-type Peptide from *Triticum kiharae* Seeds With A unique 10-Cysteini Motif. *Journal of FEBS*. 276: 4266-4275.
- Omar, H. H., Shiekh, H. M., Gumgumjee, N.M., El-Kazan, M.M., El-Gendy, A.M. 2012. Antibacterial Activity of Extracts of Marine Algae from the Red Sea of Jeddah, Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology*. **11**(71): 13576-13585.
- Pakidi, C.S., Hidayat, S.S. 2016. Potensi dan Pemanfaatan Bahan Aktif Alga Coklat Sargassum sp. *Jurnal Ilmu Perikanan Octopus*. **5**(2).
- Pelczar, M. J., Chan, dan E, C, S., 2007, *Dasar-Dasar Mikrobiologi, Hadioetomo, ed.* Universitas Indonesia Press: Jakarta.
- Picart, P., Pirttila, A. M., Raventos, D., Kristensen, H. H., Sahl, H. G. 2012. Identification of defensin-encoding Genes of *Piceaglauca*: characterization of PgD5, A Conserved Spruce Defensin With Strong Antifungal Activity. *BMC Plat Biol*. 12:180.
- Prastika, H. H., Ratnayani, K., Puspawati, N. M., and Laksmiwati, A. A. I. A. M. 2019. Penggunaan Enzim Pepsin Untuk produksi Hidrolisat Protein Kacang Gude (*Cajanus cajan* L. Millsp.) yang Aktif Antioksidan. *Journal of Applied Chemistry*. **7**(2): 180-188.
- Radji, M., 2010, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, 96 th ed.* Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Rahmayanti S., Massinai, Arniati., dan Mashoreng, Supriadi. 2019. Kepadatan Bakteri Symbion Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) yang Berasal dari Perairan Puntondo, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan VI. Universitas Hasanuddin: Makassar*.

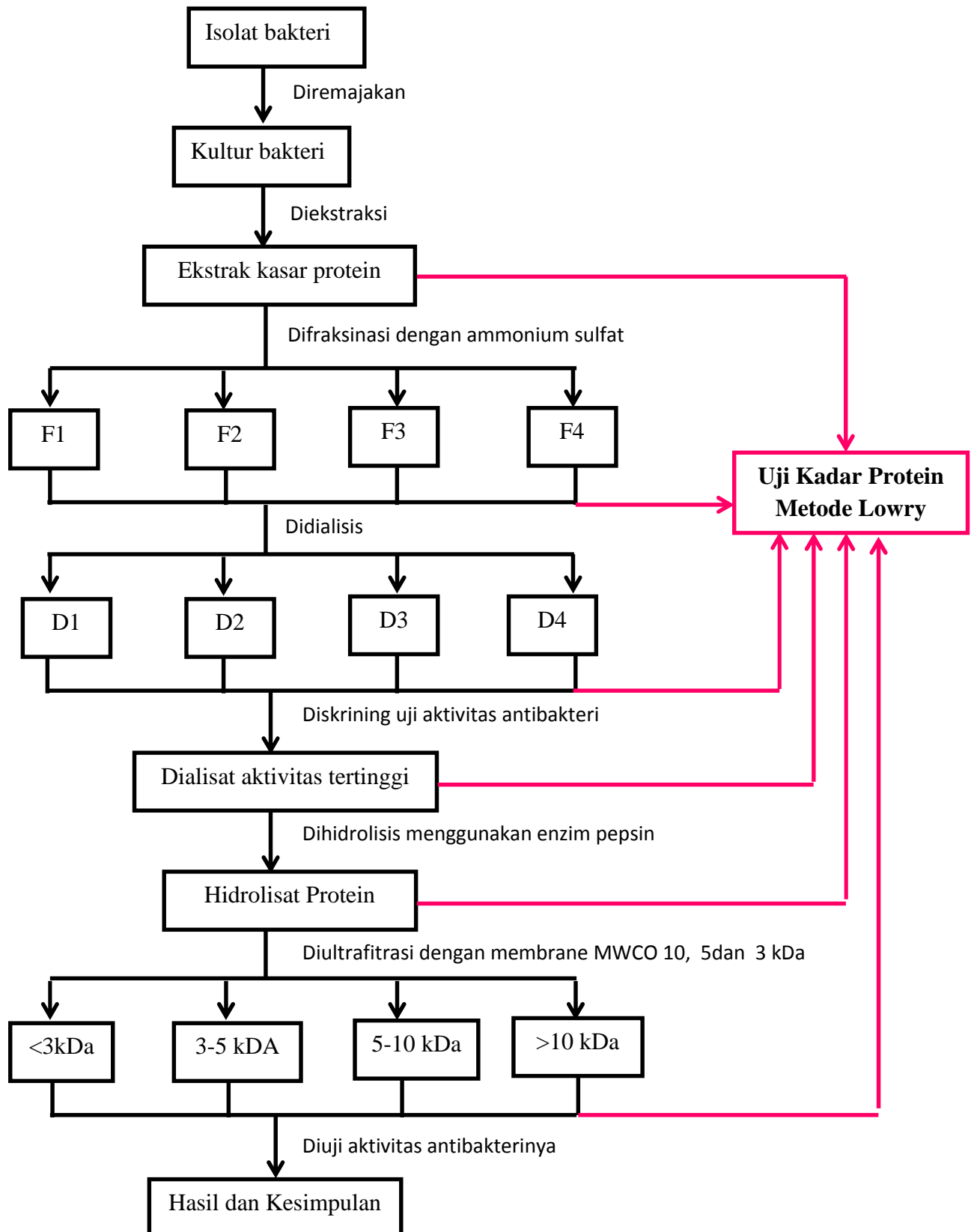
- Reha, W., Noor, A., Ahmad, A., Nafie, N. L., dan Salama, D. 2013. Karakterisasi Protein Aktif dari Spons dan Mikroba Simbiannya Sebagai Usaha Awal Menuju Agen Immunostimulan. *Marina Chimica Acta*. **14**(1): 39-47.
- Ren, Z. H., Yuan, W., Deng, H. D., Deng, J. L., Dan, Q. X., Jin, H. T., Tian, C. L., Peng, X., Liang, Z., Gao, S. 2015. Effects of antibacterial peptide on cellular immunity in weaned piglets. *Journal of Animal Science*. **9**(3):127-134.
- Rori, C. A., Kandou, F. E. F., Tangapo, A. M. 2020. Isolasi dan Uji Antibakteri dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Koli Journal*. **1**(1): 1-7.
- Rusdiana, I. K., Hambali, E., dan Rahayuningsih, M. 2018. Pengaruh Sonikasi Terhadap Sifat Fisik Formula Herbisida yang ditambahkan Surfaktan Dietanolamida. *Jurnal Agoradix*. **1**(2): 34-41.
- Sanchez A, dan Vasquez A. 2017. Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*. **1**(1):29-46.
- Sartika., Ahmad, A., Natsir, H. 2013. Potensi Antimikroba Protein Bioaktif dari Bakteri Symbion Alga Coklat *Sargassum* sp. Asal perairan Pulau Lae-lae. *Jurnal Penelitian Universitas Hasanuddin*, (<http://repository.unhas.ac.id/handle/123456789/10016>, diakses tanggal 27 oktober 2020).
- Scopes, Robert K. 1994. *Protein Purification Principle and Practice Third Edition*. Springer Science Business Media: New York.
- Sedighi, M., Jalili, H., Siadat, S. O. R. and Amrane, A. 2016. Potential Health Effects of Enzymatic Protein Hydrolysates from *Chlorella vulgaris*. *Applied Food Biotechnol*. **3**(3): 160-169.
- Setyati, W. A., Martani, E., Triyanto., Subagiyo., dan Zainuddin, M. 2015. Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimunjawa, Jepara. *Jurnal Kelautan*. **2**(3): 163-169.
- Sihombing, M. C. H., Simbala, M. E. I., dan Yudistira, A. 2018. Isolasi, Identifikasi Secara Molekuler Menggunakan Gen 16S rRNA dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Symbion Endofit Alga *Padina* sp. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **7**(2): 2302-2493.
- Soenardjo, N. 2011. Aplikasi Budidaya Rumput Laut *Euclima cottonii* (Weber van Bosse) dengan Metode Lepas Dasar (Net Bag) Model Cidaun, *Journal Buletin Oseanografi Marina*. **1**: 34-44.

- Strobel, G. 2003. Endophytes as Sources of Bioactive Products. *Journal Microbes Infect*, **5**(6): 535-544.
- Sugrani, A., Natsir, H., Djide, M. N., and Ahmad, A. 2019. 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.
- Sugrani, A., Ahmad, A., Djide, M. N., Natsir, H. 2020. Two Novel Antimicrobial and Anticancer Peptides Prediction from *Vibrio* sp. strain ES25. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **10**(8): 58-66.
- Sunaryo, Y. D. 2012. Optimasi Ekstraksi Kappa Karaginan dari Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Hasi Pemucatan dengan Dua Metode Ekstraksi. Skripsi tidak diterbitkan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Suparmi dan Sahri, A. 2009. Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut Dari Aspek Industri dan Kesehatan. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*. **44**(118):95-115.
- Susanto, E. 2019. *Peptida Bioaktif Sebagai Antioksidan Eksplorasi Ceker Ayam*. Budi Utama: Yogyakarta.
- Susilowati, D. N., Ginanjar, H., Yuniarti, E., Setyowati, M., Roostika, I. 2018. Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng Sebagai Penghasil Senyawa Steroid dan Antipatogen. *Jurnal Littri*. **24**(1): 1-10.
- Tavano, O. L. 2013. Protein Hydrolysis Using Proteases: An Important Tool for Food Biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **90**: 1-11.
- Trianto, A., Ambariyanto, dan Retno, M. 2004. Skrining Bahan Anti Kanker pada Berbagai Jenis Gorgonian Terhadap L1210 Cell Line. *Indonesian Journal Marine Sciences*. (3): 120 - 124.
- Vandanjon, L., Johannsson, R., Derouiniot, M., Bourseau, P., and Jaouen, P. 2007. Concentration and Purification of Blue Whiting Peptide Hydrolysates by membrane processes. *Journal of Food Engineering*. **83**(4): 581-589.
- Wang, C., Zhang, Y., Zhang, W., Yuan, S., Ng, T., Ye, X. 2019. Purification of an Antifungal peptide from seeds of *Brassica oleraceae* var. *gongyldes* and Investigation of Its Antifungal Activity and Mechanism of Action. *Molecules*. **24**(1337): 1-15.

- Wang, X., dan Zhang, X. 2016. Isolation and Identification of Antiproliferative Peptides from *Spirulina Platensis* Using Tree-Steep Hydrolysis. *Journal of The Science of Food and Agriculture*. **97**(3): 918-922.
- Wang S, Zheng X, Yang Q, Qiao S. 2016. Antimicrobial Peptides As Potential Alternatives to Antibiotics In Food Animal Industry. *International Journal Mol Sci*. 17:1-12.
- Wisuthiphaet, N., Kongruang, S. 2015. Production of protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolisis. *Journal of Medical and Bioengineering*. **4**(6): 466- 470.
- Wulandari, W., dan Rahayu, T., 2015, Aktivitas Antibakteri Isolat *Actinomycetes* dari Sampel Pasir Gunung Merapi dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Bioeksperimen*, **1**(2), 53–59.
- Yulia, Rahma., Putri, R., Wahyudi, R. 2019. Study of Community Knowledge of Antibiotic Use in Puskesmas Rasimah Ahmad Bukittinggi. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. **2**(2):43-48.
- Yulianti., Asmawati., Yuniati., dan Manguntungi, B. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah dari Pantai Luk, Sumbawa terhadap *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biota*. **3**(1): 1-11.
- Zasloff, M. 2002. Antimicrobial Peptides of Multicellular Organisms. *Journal of Nature*. 415:389-395.
- Zheng, L., Han, X., Chen, H., Yan, X., 2005. Marine Bacteria Associated with Marine Microorganism: The Potential Antimicrobial Resources. *Annals of Microbiology*, **55**(2): 119-124.

LAMPIRAN

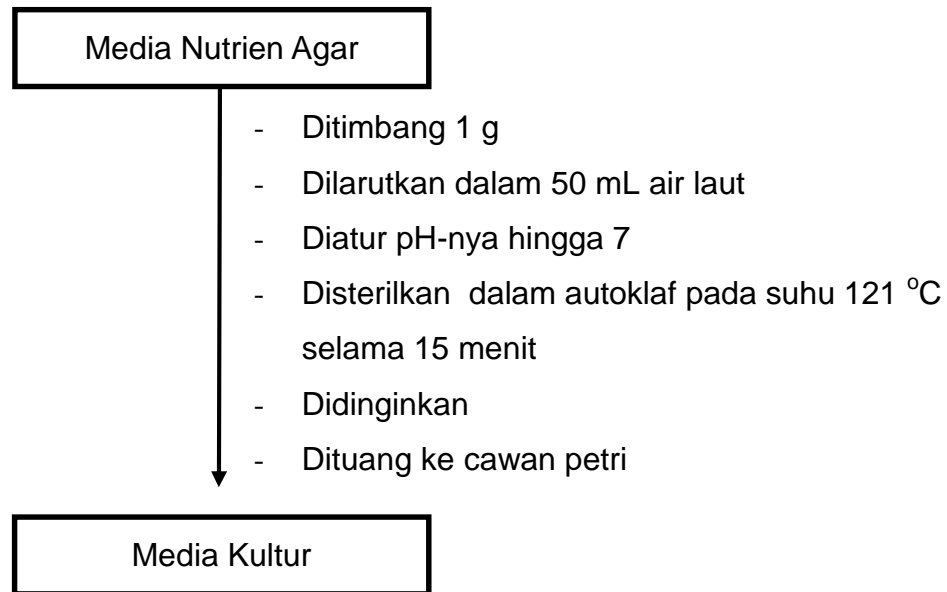
Lampiran 1: Tahapan Penelitian



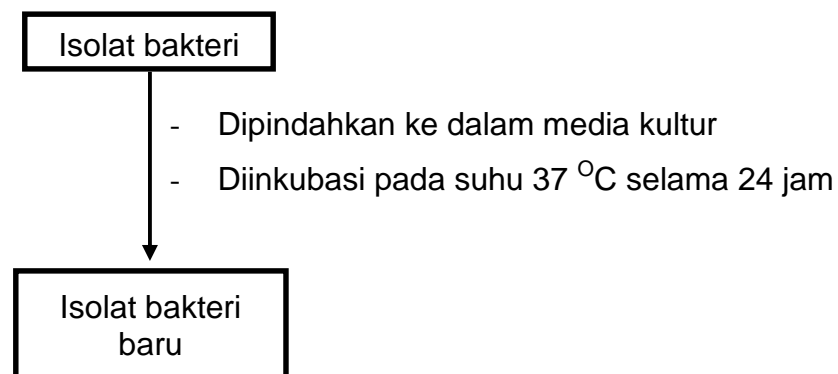
Lampiran 2: Skema Penelitian

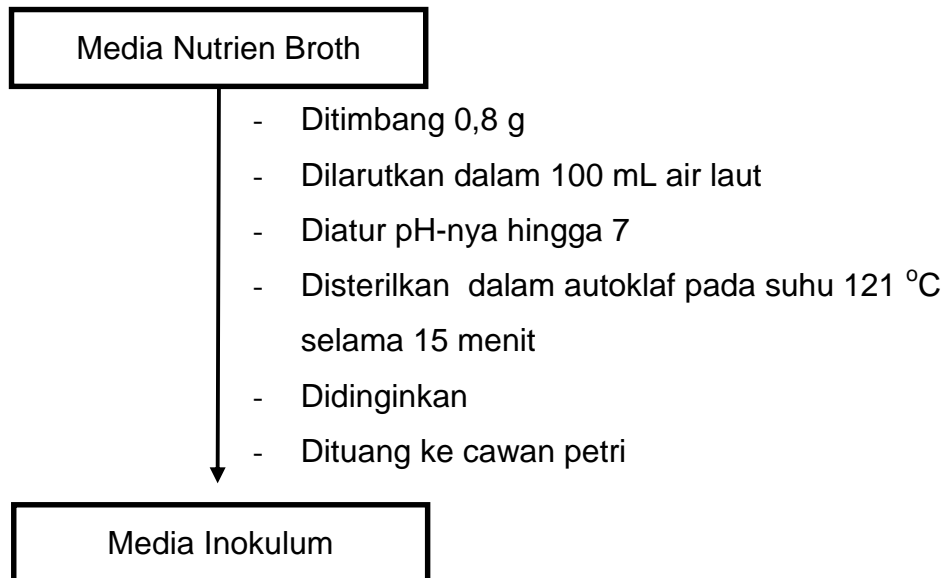
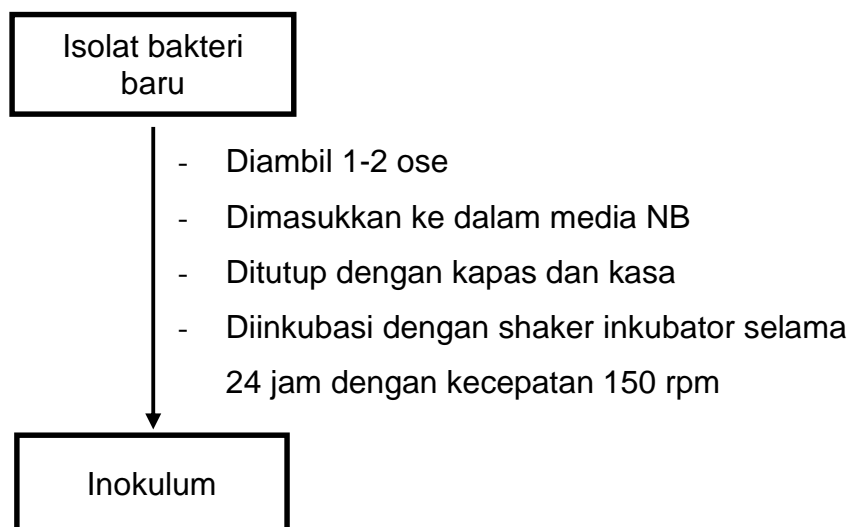
1. Pembuatan Media

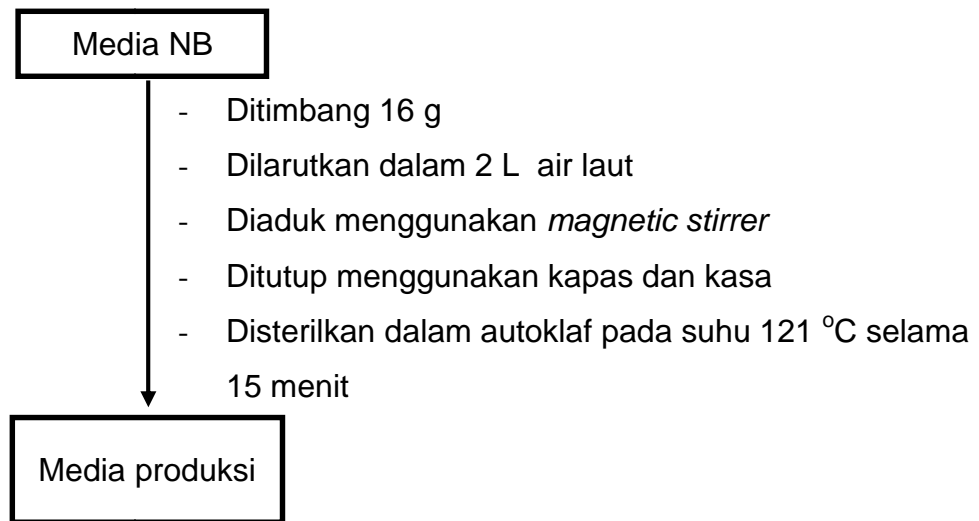
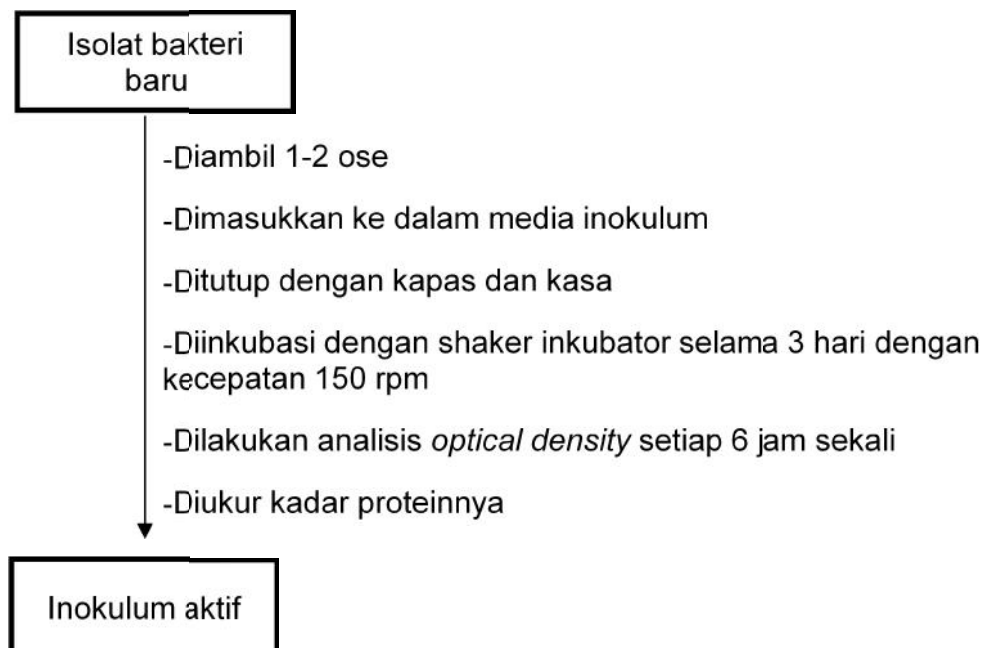
a. Media Kultur

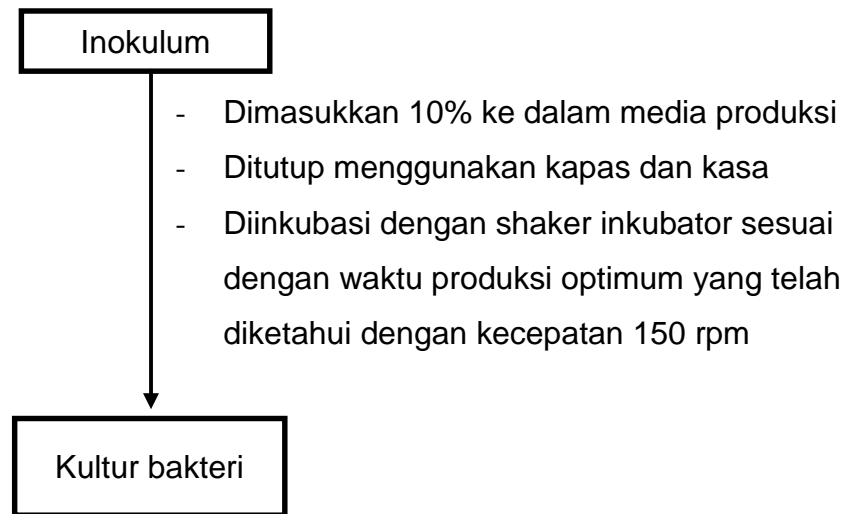
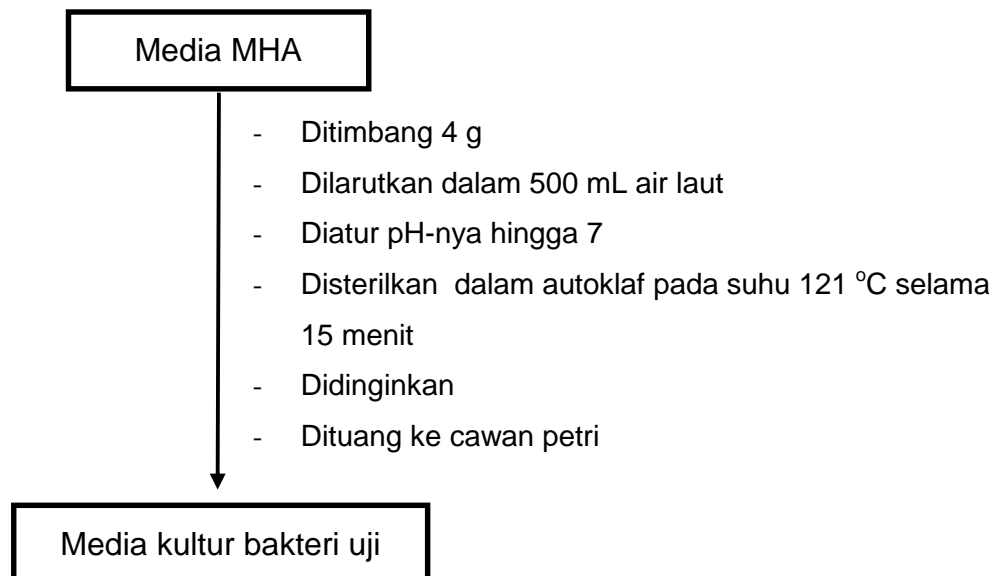


b. Pemindahan Isolat ke kultur baru

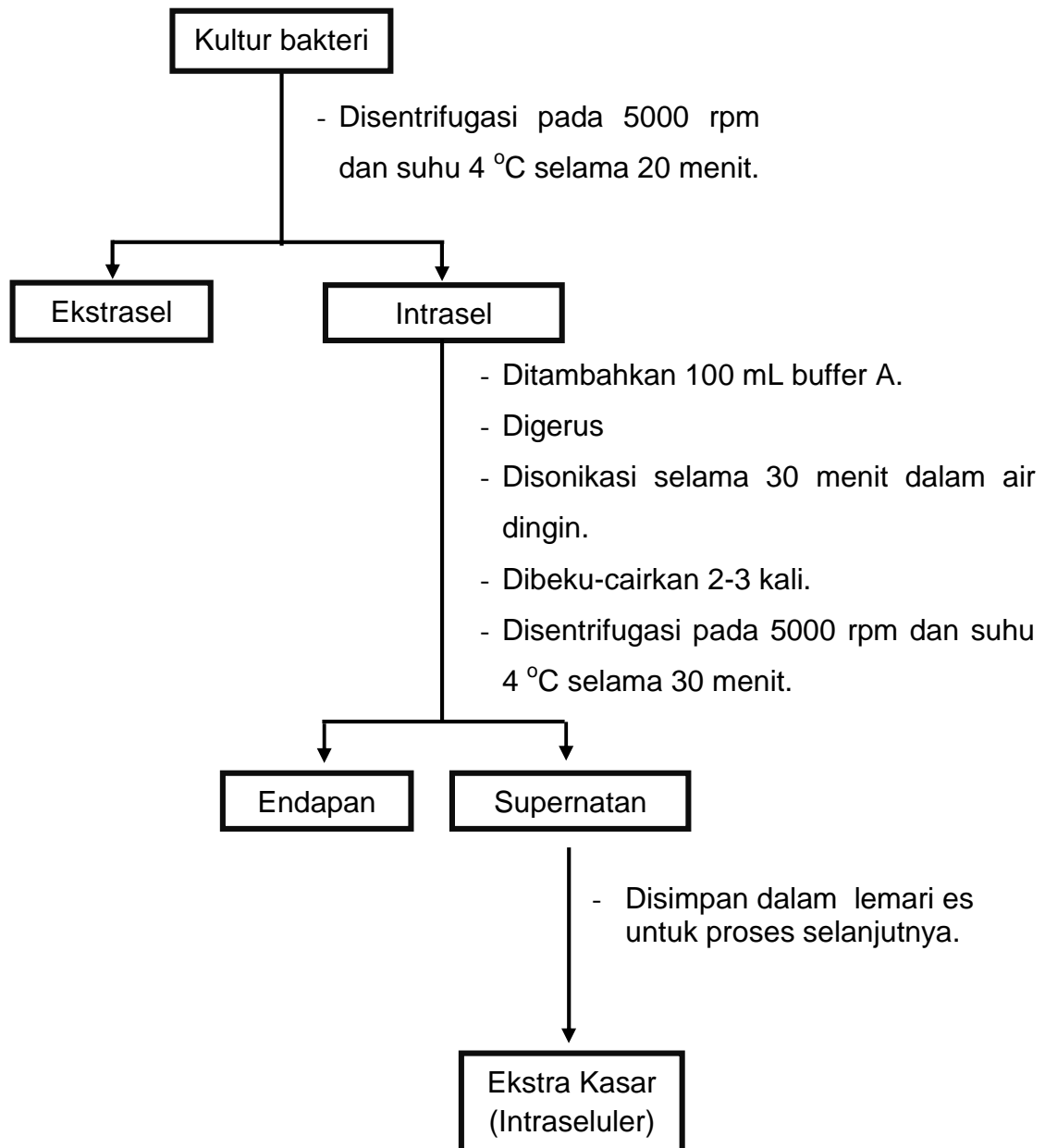


c. Media Inokulum**d. Penyiapan Inokulum**

e. Media Produksi**f. Penentuan waktu produksi optimum dan pengukuran waktu OD**

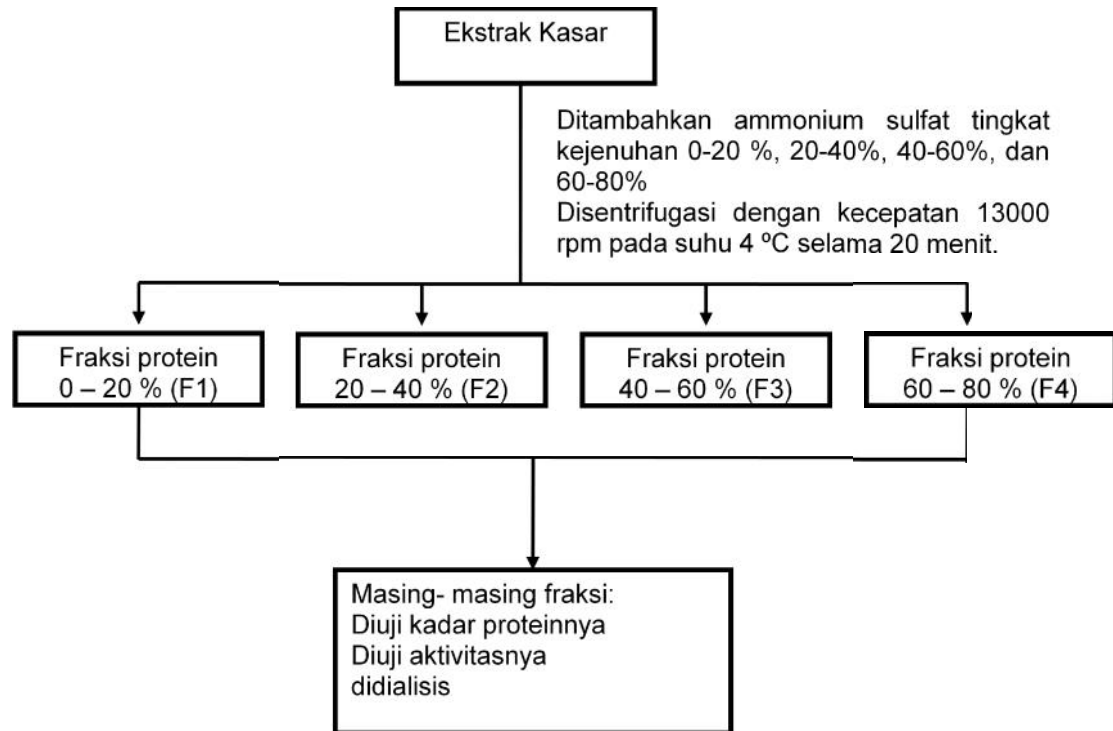
g. Produksi bakteri dalam jumlah besar**h. Media Muller Hinton Agar**

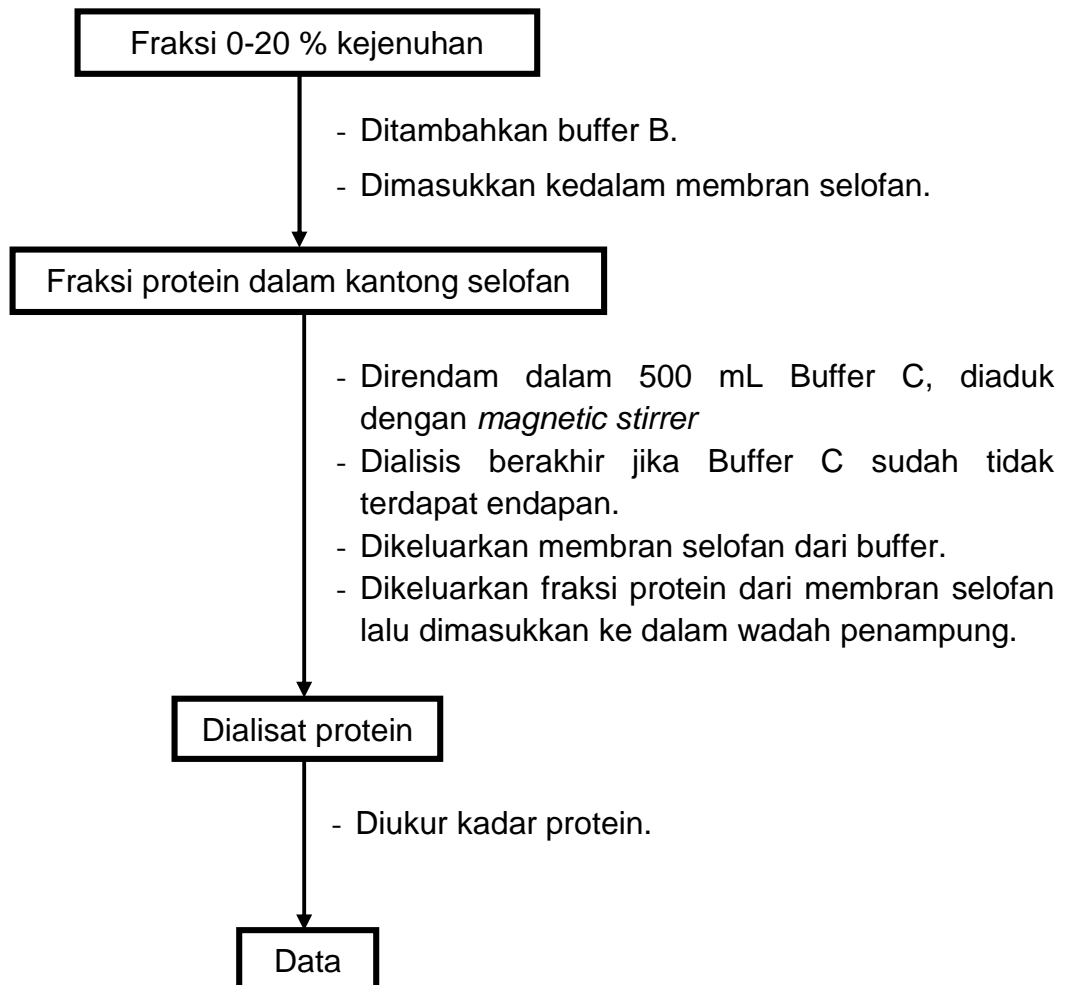
2. Isolasi Protein



3. Pemurnian protein

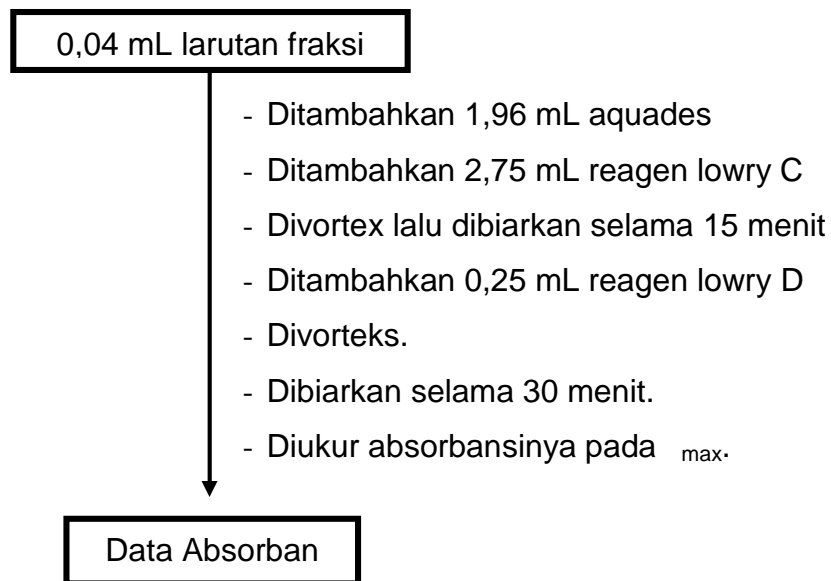
a. Bagan kerja fraksinasi protein bioaktif dengan amonium sulfat



b. Bagan kerja dialisis

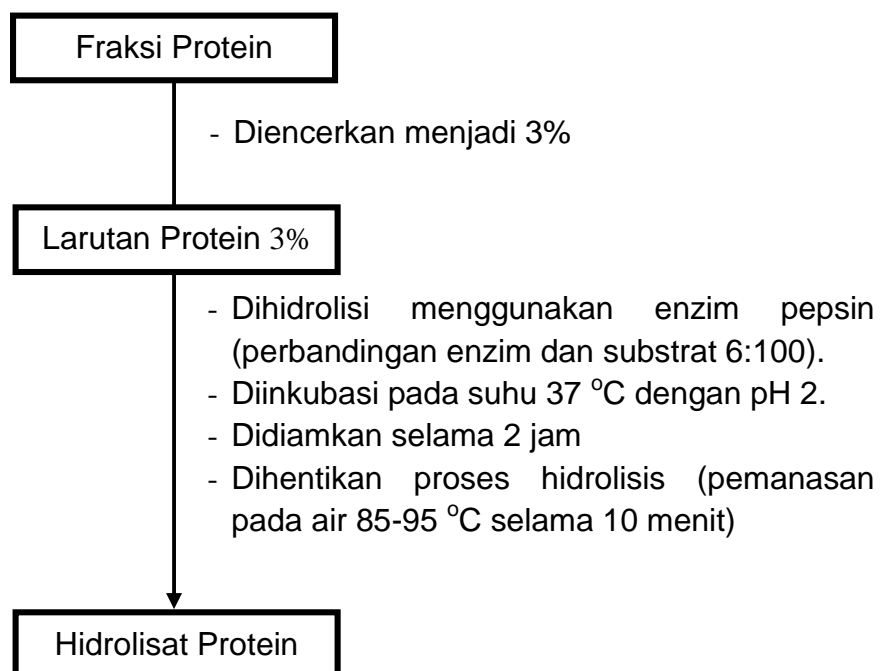
Keterangan: Perlakuan yang sama dilakukan untuk F2, F3 dan F4

4. Penentuan kadar protein

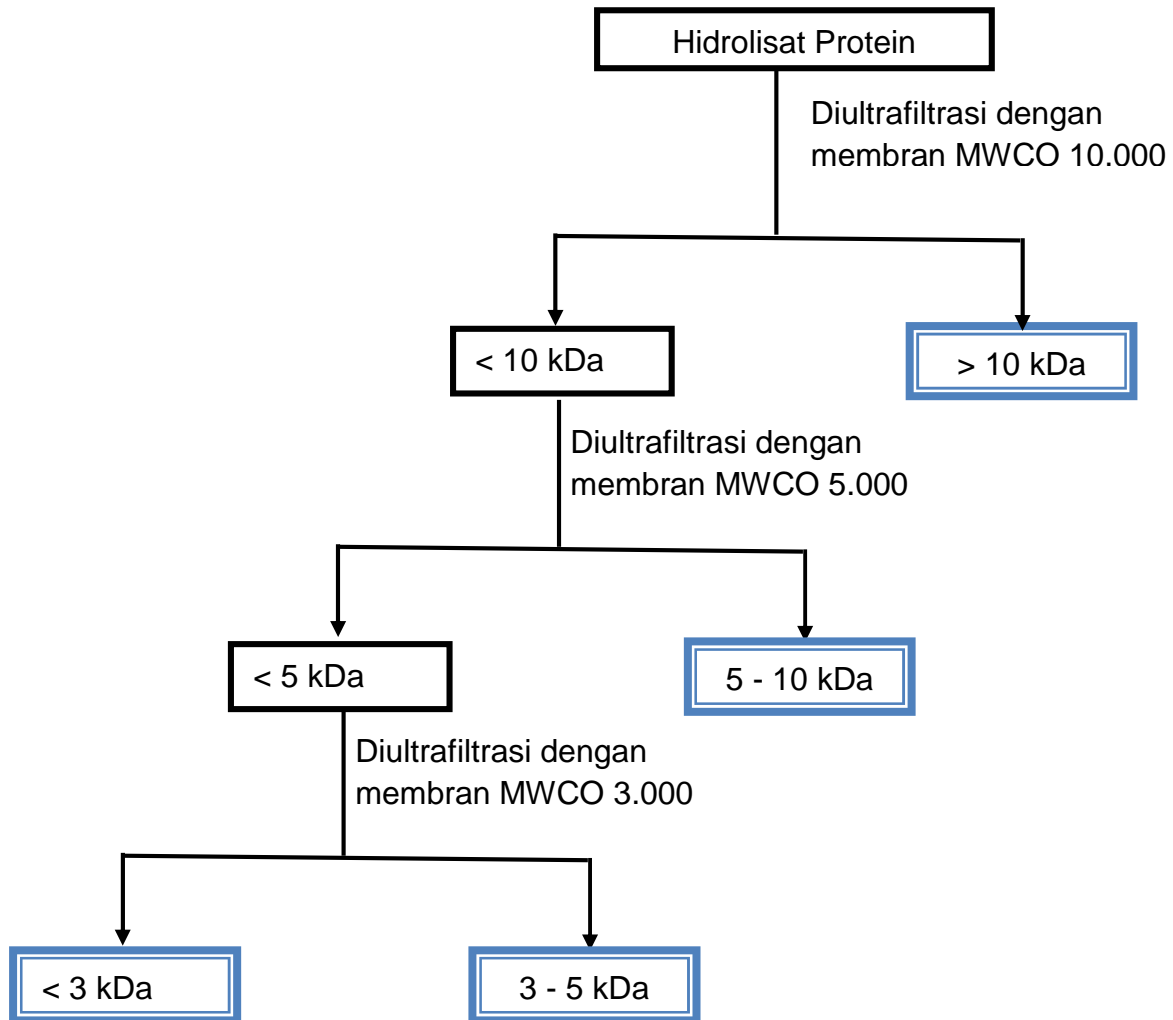


Keterangan: Perlakuan yang sama untuk setiap fraksi (F2, F3, dan F4), ekstrak kasar, blanko dan larutan standar BSA

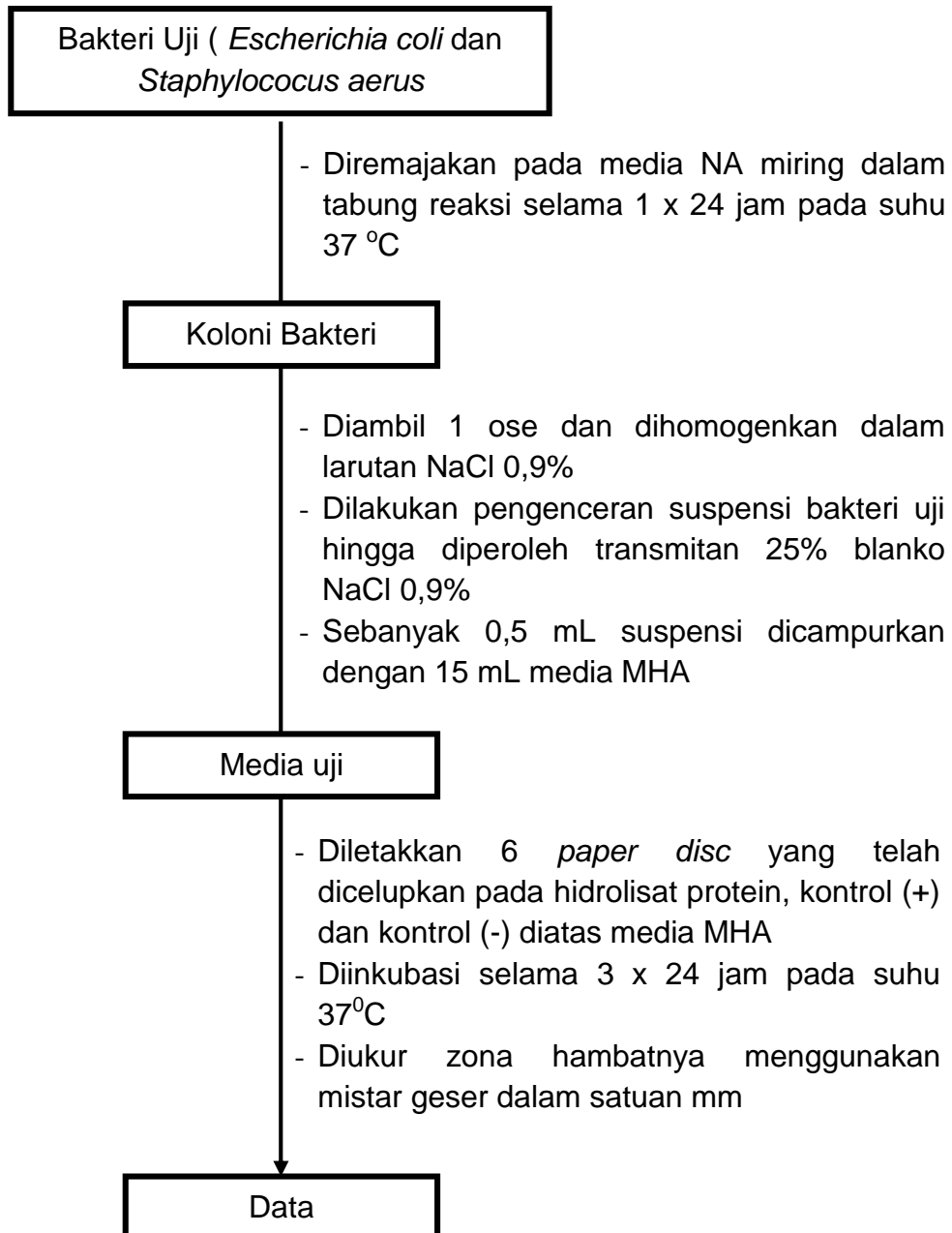
5. Hidrolisis protein



6. Ultrafiltrasi Hidrolisat Protein



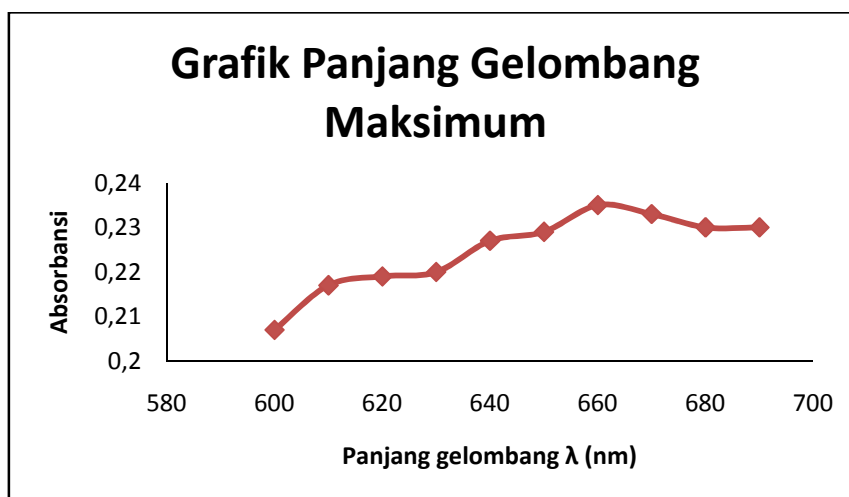
7. Bagan kerja uji antibakteri dengan metode difusi agar



Lampiran 3: Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

Tabel 11. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

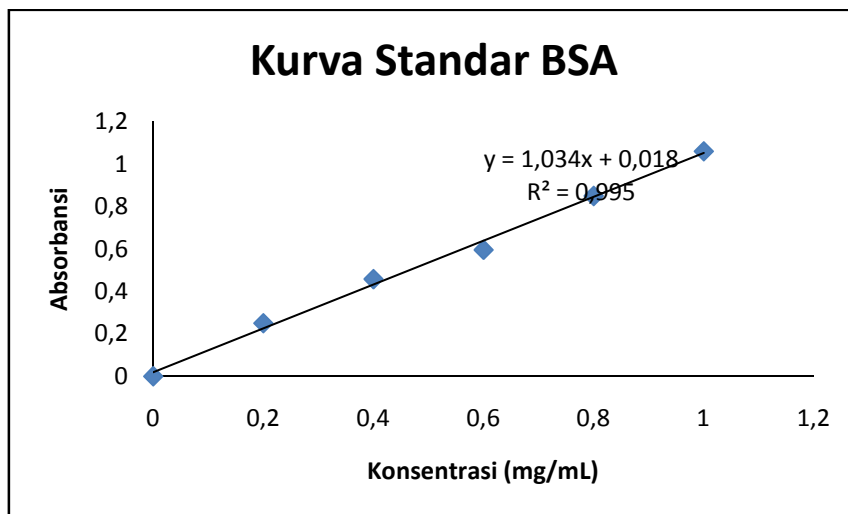
Panjang Gelombang	Absorbansi
600	0,207
610	0,217
620	0,219
630	0,22
640	0,227
650	0,229
660	0,235
670	0,233
680	0,23
690	0,23



Lampiran 4: Kurva Standar Bovine Serum Albumin pada 660 nm

Tabel 12. Konsentrasi Larutan Standar BSA

Konsentrasi BSA (mg/mL)	Absorbansi
0	0
0,2	0,25
0,4	0,458
0,6	0,596
0,8	0,85
1	1,06



Lampiran 5: Penentuan Waktu Produksi Optimum dan Optical density (OD) Bakteri Endofit dan Eksofit

1. Bakteri Eksofit Simbion (*Enterobacter*)

Tabel 13. Penentuan Waktu Produksi Optimum dan OD Bakteri Eksofit

Waktu Fermentasi	OD	Absorbansi	Kadar Protein (mg/mL)
0	0,261	0,145	6,141199
6	0,298	0,229	10,20309
12	0,319	0,287	13,00774
18	0,326	0,371	17,06963
24	0,421	0,68	32,01161
30	0,428	0,699	32,93037
36	0,362	0,46	21,37331

Contoh perhitungan kadar protein :

Data absorbansi yang diperoleh disubstitusikan ke dalam persamaan

regresi $y = 1,034x + 0,018$

Jika $y = 0,699$, maka:

$0,699 = 1,034x + 0,018$

$$x = \frac{0,699 - 0,018}{1,034}$$

$$x = 0,658607$$

Selanjutnya, kadar protein dikalikan dengan faktor pengenceran (Fp):

$$\text{Kadar protein} = x \cdot Fp$$

$$= 0,658607 \cdot 50$$

$$= 32,9307 \text{ mg/mL}$$

2. Bakteri Endofit Simbion (*C. Freundii*)

Tabel 14. Penentuan Waktu Produksi Optimum dan OD Bakteri Endofit

Waktu Fermentasi	OD	Absorbansi	Kadar Protein (mg/mL)
0	0,24	0,144	6,092843
6	0,302	0,209	9,235977
12	0,316	0,297	13,4913
18	0,321	0,35	16,05416
24	0,399	0,579	27,12766
30	0,41	0,583	27,32108
36	0,394	0,411	19,00387

Contoh perhitungan kadar protein :

Data absorbansi yang diperoleh disubstitusikan ke dalam persamaan

$$\text{regresi } y = 1,034x + 0,018$$

Jika $y = 0,699$, maka:

$$0,699 = 1,034x + 0,018$$

$$x = \frac{0,699 - 0,018}{1,034}$$

$$x = 0,658607$$

Selanjutnya, kadar protein dikalikan dengan faktor pengenceran (Fp):

$$\text{Kadar protein} = x \cdot Fp$$

$$= 0,658607 \cdot 50 = 32,9307 \text{ mg/mL}$$

Tabel 16. Penambahan Amonium Sulfat Pada Masing-masing Fraksi

Bakteri Simbion	Fraksi Protein	Kode Fraksi	Volume (mL)	Massa Amonium Sulfat (gram)
	0-20%	FA1	40	4,24
Endofit (<i>C. Freundii</i>)	20-40%	FA2	37	4,181
	40-60%	FA3	37	4,44
	60-80%	FA4	36	4,644
Eksofit (<i>Enterobacter</i>)	0-20%	FB1	60	6,36
	20-40%	FB2	55	6,215
	40-60%	FB3	50	6
	60-80%	FB4	50	6,45

Contoh perhitungan penambahan amonium sulfat:

$$Ma = \frac{V \text{ (mL)}}{1000 \text{ mL}} \times \text{massa amonium sulfat tingkat kejenuhan}$$

Keterangan:

Ma = Massa amonium sulfat yang ditambahkan

V = volume fraksi

$$Ma = \frac{40 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 106 \text{ gram}$$

$$Ma = 4,42 \text{ gram}$$

Lampiran 7: Perhitungan Derajat Hidrolisis

1. Derajat Hidrolisis Bakteri Endofit Simbion *C. freundii*

Tabel 17. Perhitungan Derajat Hidroisis Bakteri Endofit Simbion *C. freundii*

Kode Hidrolisat	Waktu Hidrolisis (menit)	Protein Terlarut 10% TCA				Protein Total				DH (%)
		Abs	KP (mg/mL)	Fp	KPs (mg/mL)	Abs	KP (mg/mL)	Fp	KPs (mg/mL)	
HA1	0	0,12	0,0986	50	4,9323	0,418	0,3868	50	19,3423	25,5
HA2	30	0,237	0,2117	50	10,5899	0,42	0,3887	50	19,4391	54,48
HA3	60	0,371	0,3413	50	17,0696	0,532	0,4971	50	24,8549	68,68
HA4	90	0,544	0,5087	50	25,4352	0,648	0,6092	50	30,4642	83,49
HA5	120	0,438	0,4061	50	20,3094	0,632	0,5938	50	29,6905	68,403

Keterangan: KP = Kadar protein, KPs = Kadar protein sebenarnya, Fp=Faktor pengenceran, DH = Derajat hidrolisis

Contoh perhitungan derajat hidrolisis:

$$DH (\%) = \frac{\text{Protein Terlarut 10\% TCA}}{\text{Total protein}} \times 100\%$$

$$DH (\%) = \frac{25,4352}{30,4642} \times 100\%$$

$$DH (\%) = 83,49 \%$$

2. Derajat Hidrolisis Bakteri Eksofit Simbion *Enterobacter*

Tabel 18. Perhitungan Derajat Hidroisis Bakteri Eksofit Simbion *Enterobacter*

Kode Hidrolisat	Waktu Hidrolisis (menit)	Protein Terlarut 10% TCA				Protein Total				DH
		Abs	KP (mg/mL)	Fp	KPs (mg/mL)	Abs	KP (mg/mL)	Fp	KPs (mg/mL)	
HB1	0	0,1	0,0793	50	3,9652	0,4	0,3694	50	18,4719	21,47
HB2	30	0,197	0,1731	50	8,6557	0,52	0,4855	50	24,2747	35,66
HB3	60	0,326	0,2978	50	14,8936	0,554	0,5184	50	25,9188	57,463
HB4	90	0,499	0,4651	50	23,2592	0,611	0,5735	50	28,6751	81,11
HB5	120	0,317	0,2891	50	14,4584	0,6	0,5629	50	28,1431	51,37

Keterangan: KP = Kadar protein, KPs = Kadar protein sebenarnya, Fp=Faktor pengenceran, DH = Derajat hidrolisis

Contoh perhitungan derajat hidrolisis:

$$\text{DH (\%)} = \frac{\text{Protein Terlarut 10\% TCA}}{\text{Total protein}} \times 100\%$$

$$\text{DH (\%)} = \frac{23,2592}{28,6751} \times 100\%$$

$$\text{DH (\%)} = 81,11 \%$$

Lampiran 8: Kadar Protein Tiap Peptida Berdasarkan Perbedaan Bobot Molekul

Tabel 19. Kadar Peptida Masing-masing

Bakteri Simbion	Bobot Molekul (kDa)	Kode Peptida	Absorbansi	Kadar Protein (mg/mL)	FP	Kadar Protein Sebenarnya (mg/mL)
	> 10	UA1	0,554	0,5183	50	25,9187
Endofit	10-5	UA2	0,316	0,2882	50	14,4101
<i>C. freundii</i>	5-3	UA3	0,179	0,1557	50	7,7853
	< 3	UA4	0,127	0,1054	50	5,2707
Eksofit	> 10	UB1	0,538	0,5029	50	25,1451
	10-5	UB2	0,274	0,2476	50	12,3791
<i>Enterobacter</i>	5-3	UB3	0,215	0,1905	50	9,5261
	< 3	UB4	0,119	0,0977	50	4,8839

Contoh perhitungan kadar peptida:

Data absorbansi yang diperoleh disubstitusikan ke dalam persamaan

$$\text{regresi } y = 1,034x + 0,018$$

Jika $y = 0,544$ maka:

$$0,544 = 1,034x + 0,018$$

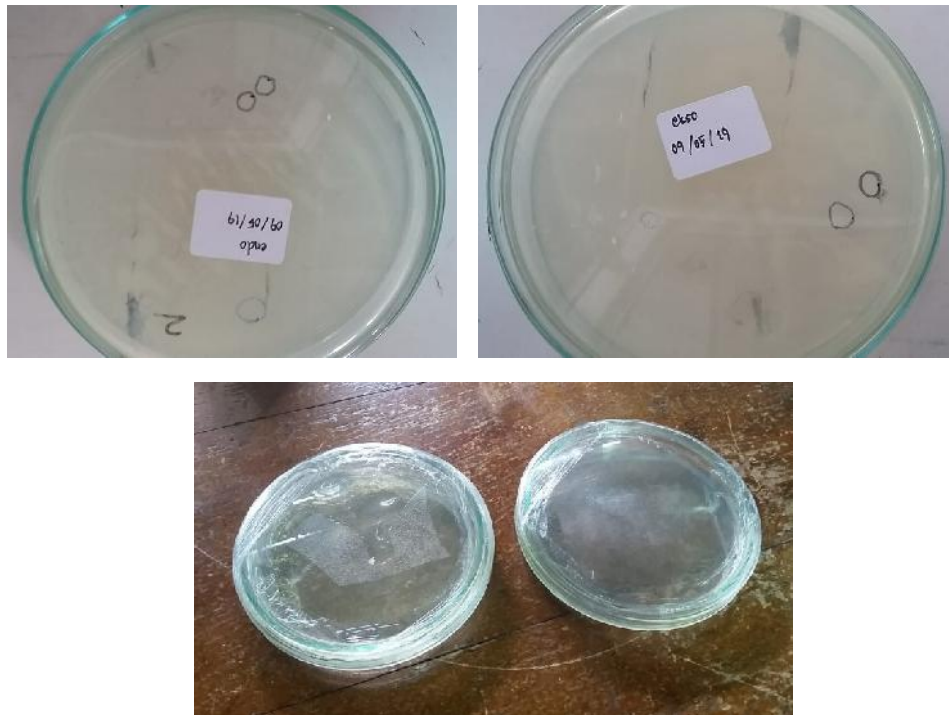
$$x = \frac{0,544 - 0,018}{1,034} = 0,5183$$

Selanjutnya, kadar protein dikalikan dengan faktor pengenceran (Fp):

$$\text{Kadar protein} = x \cdot \text{Fp}$$

$$= 0,5183 \cdot 50 = 25,9187 \text{ mg/mL}$$

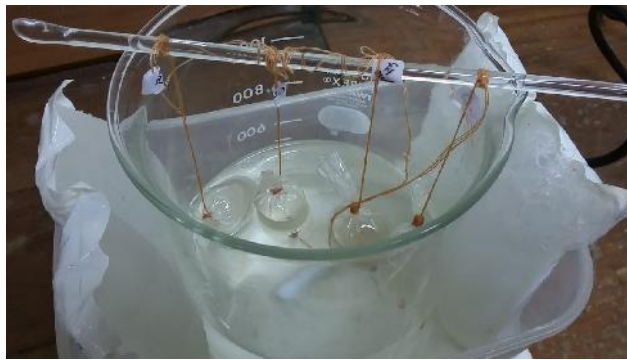
Lampiran 10: Dokumentasi Penelitian



Peremajaan bakteri endofit *C. freundii* dan bakteri eksofit *Enterobacter*

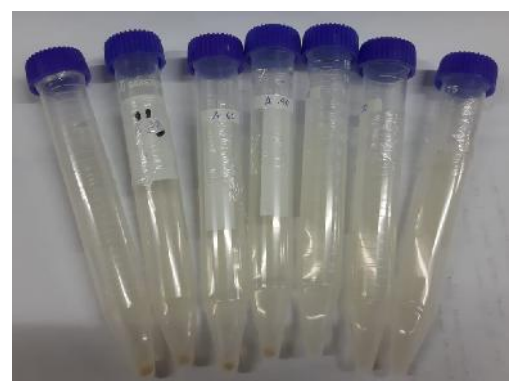
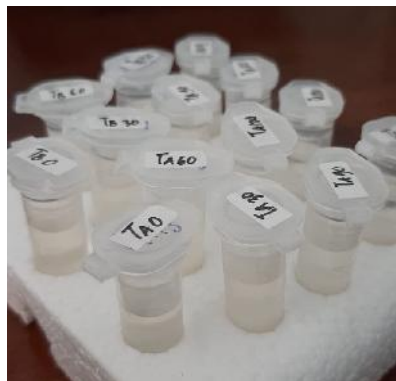


Produksi bakteri endofit *C. freundii* dan bakteri eksofit *Enterobacter*



Isolasi dan pemurnian protein bakteri endofit *C. freundii* dan bakteri eksofit

Enterobacter

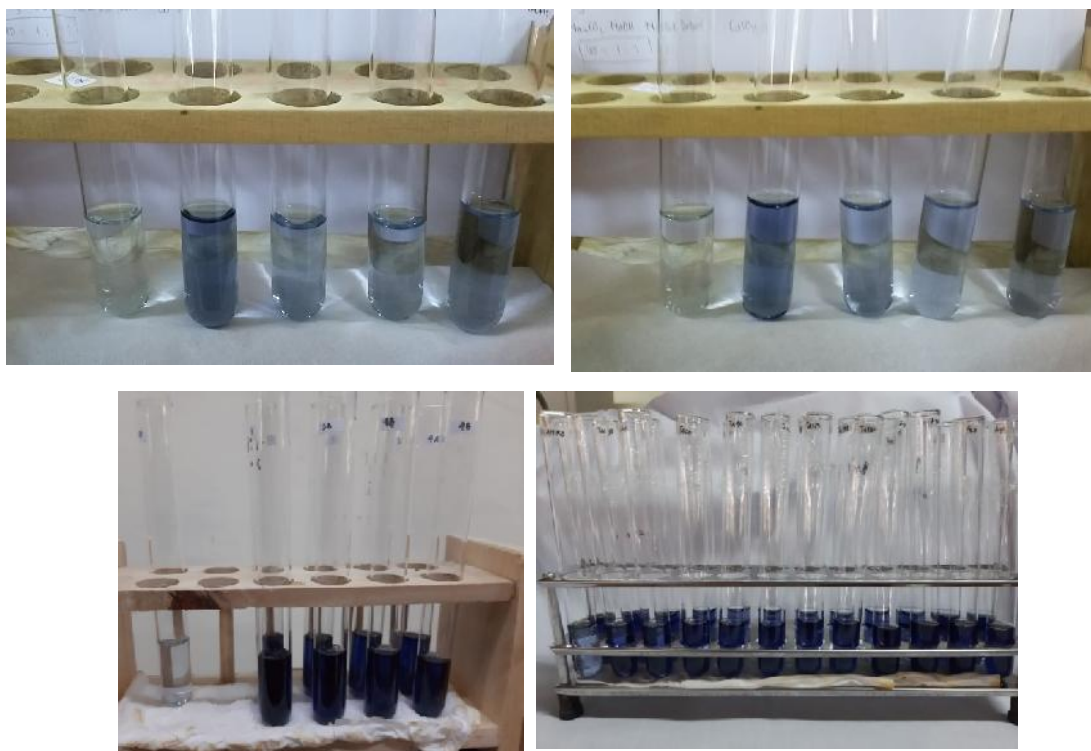


Hidrolisis protein bakteri endofit *C. freundii* dan bakteri eksofit

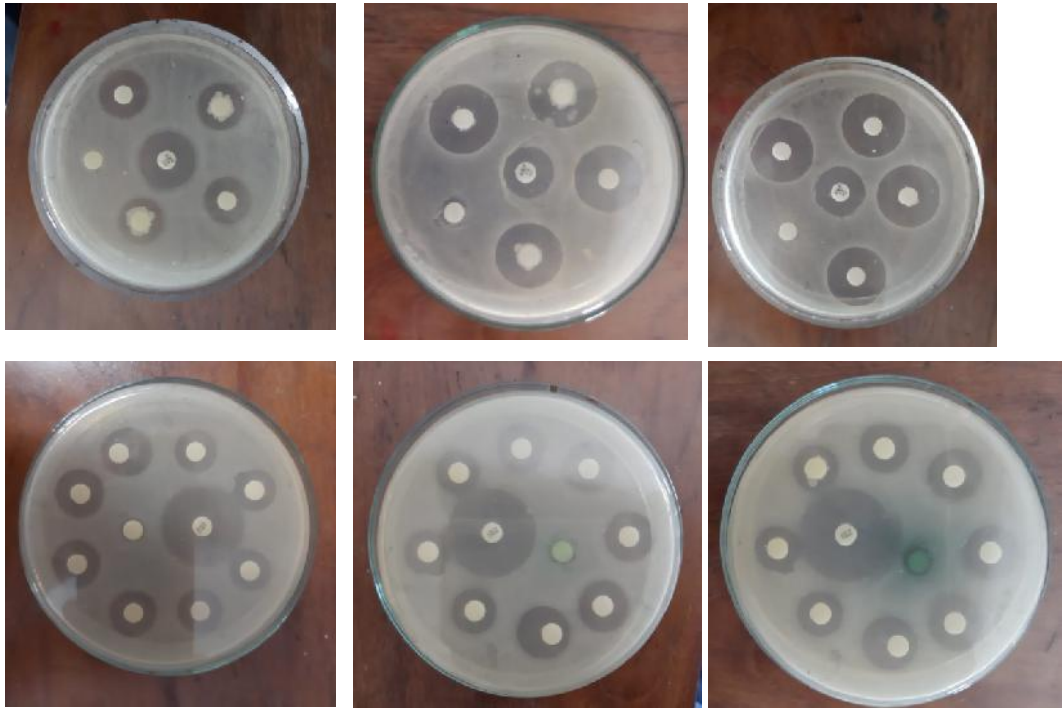
Enterobacter



Ultrafiltrasi hidrolisat protein bakteri endofit *C. freundii* dan bakteri eksofit
Enterobacter



Penentuan kadar protein



Pengujian aktivitas antibakteri