

6. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R.Z. (2007). Aktivitas Enzim Kitinase dan Protease pada Cendawan Nematofagus (*Duddingtonia flagrans* dan *Saccharomyces cerevisiae*). Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dari Veteriner.
- Amelia, G; R. Handayani; I. Saskiawan; T. Khusniati, dan A. Choliq. (2005). Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim Amilase dan Protease Mikroba dari Terasi Asal Kalimantan Timur. Pusat Penelitian Mikrobiologi, LIPI. Bogor.
- Angka, Sri Lestari dan Suhartono, Maggy T. (2000). Bioteknologi Hasil Laut. Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, Institut Pertanian Bogor.
- Beer, Edwin J, DE and Sherwood, Marrion B. (1945). The Paper Disc Agar-Plate Method For The Assay Of Antibiotic Substances. The Wellcome Research Laboratories, Tuckahoe. New York.
- Berges, John A. and Falkowski, Paul G. (1996). Cell-Associated Proteolytic Enzymes From Marine Phytoplankton. *J. Phycol* 32, 556 – 574 (1996).
- Betts, M. J and Russell, R.B. (2003). Amino Acid Properties and Consequences of Substitutions. John Wiley & Sons, Ltd.
- Bollag, D.M., S. J. Edelstein. (1991). Protein Methods. Switzerland. Willey-Liss Inc.
- Chaplin, M.F and Bucke, C. (1990). Enzyme Technology. Cambridge University Press.
- Erlania. (2010). Pemanfaatan Mikroalgae sebagai Sumber Pangan Alternatif dan Bahan Fortifikasi Pangan. Pusat Riset Perikanan Budidaya.
- Falquet, J. (2006). The Nutritional Aspects of *Spirulina*. Antenna Technologies.
- Ferdian, H. (2006). Potensi Protease *Bacillus subtilis* natto sebagai Pengempuk Daging. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Godfrey, T and West, S. (1996). *Industrial Enzymology* Second Edition. The Macmillan Press Ltd. London.

Habib, M. Hasan B. and Parvin, M. (2008). *A Review on Culture, Production, and Use of Spirulina as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish*. Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO), Rome.

Jawetz, E., Joseph M., and Edward A. (1996). *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerbit EGC. Jakarta.

Kimball, J. W. (1992). *Biologi Jilid 1 Edisi Kelima*. Erlangga, Jakarta.

Lang, W.C., Blatt, D. and Plapp, R. (1979). Proteolytic Enzymes in *Chlamydomonas*. I. A survey on the aminopeptidase pattern in asynchronous vegetative cells of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol*. 20 : 657-65.

Nanni, B.; E. Balestreri; E. Dainese; I. Cozzani and R. Felicioli. (2001). Characterisation of Specific Phycocyanin-hydrolysing Protease Purified from *Spirulina platensis*. *Microbiology Res*. 156, 259-266.

Panggabean, L.M.G. (1998). *Mikroalgae : Alternatif Pangan dan Bahan Industri Dimasa Mendatang*. Oseana, Volume XXIII, Nomor 1, 1998 ; 19-26.

Penner, M. H. (2001). *Expression and Measurement of Enzyme Activity*. John Willey and Son Inc.

Perez-Llorenz, J. Lucas; E. Benitez; J.J. Vergara; and J. A. Berges. (2003). *Characterization of Proteolytic Enzyme Activities in Macroalgae*. British Phycological Society. Taylor and Francis Group.

Sian, L. W. (1992). *Mempelajari Aktivitas Protease Bacillus licheniformis Galur Gisbon NCTC 10341 pada Fermentasi Terkontrol Menggunakan Limbah Cair Tahu*.

Sumardjo, D. (2006). *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Tietze, Harald W. (2004). *Spirulina Micro Food Macro Blessing* Fourth Edition. Harald W. Tietze Publishing, Australia.

Tranggono, S.B. (1995). *Petunjuk Laboratorium Biokimia Pangan*. Pusat antar universitas pangan gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

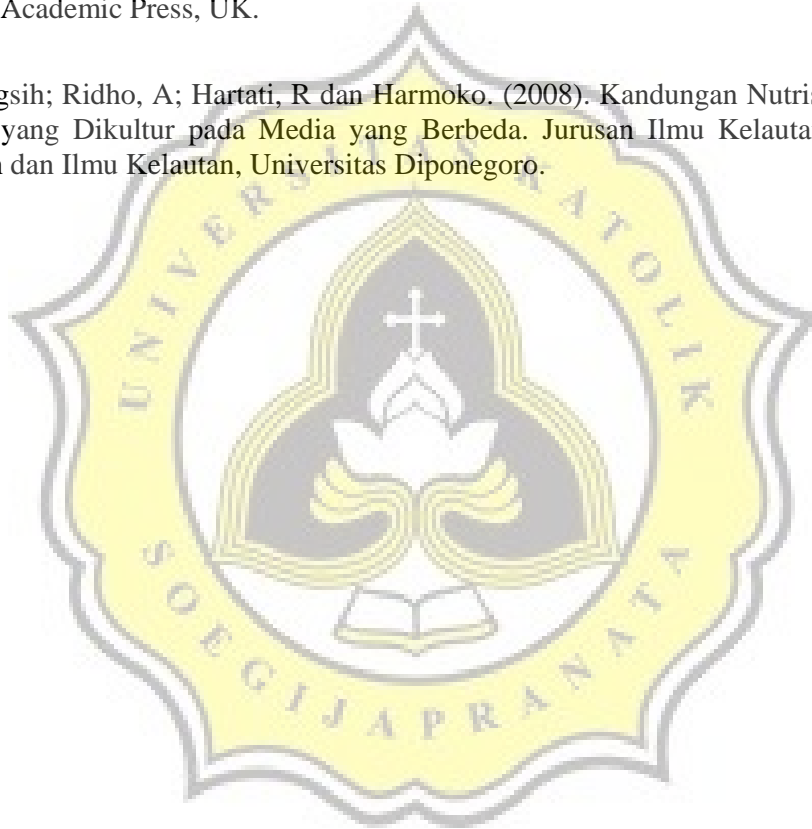
Unlig, H. (1998). *Industrial Enzymes and Their Applications*. A Wiley-Interscience Publication. John Wiley and Sons, Inc.

Walsh, G. (2002). *Proteins Biochemistry and Biotechnology*. John Wiley & Son Ltd, England.

Walter, HE. (1984). Proteinases (proteinases as substrat).Method with haemoglobin as substrate, casein and azocoll as substrate. Di dalam: Bregmeyer J. Graßl M, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol II. VCH Publ.Weinheim: Verlag Chemic.

Whitehurst, Robert J. and Law Barry A. (2002). *Enzymes in Food Technology*. Sheffield Academic Press, UK.

Widianingsih; Ridho, A; Hartati, R dan Harmoko. (2008). Kandungan Nutrisi Spirulina platensis yang Dikultur pada Media yang Berbeda. Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro.



7. LAMPIRAN

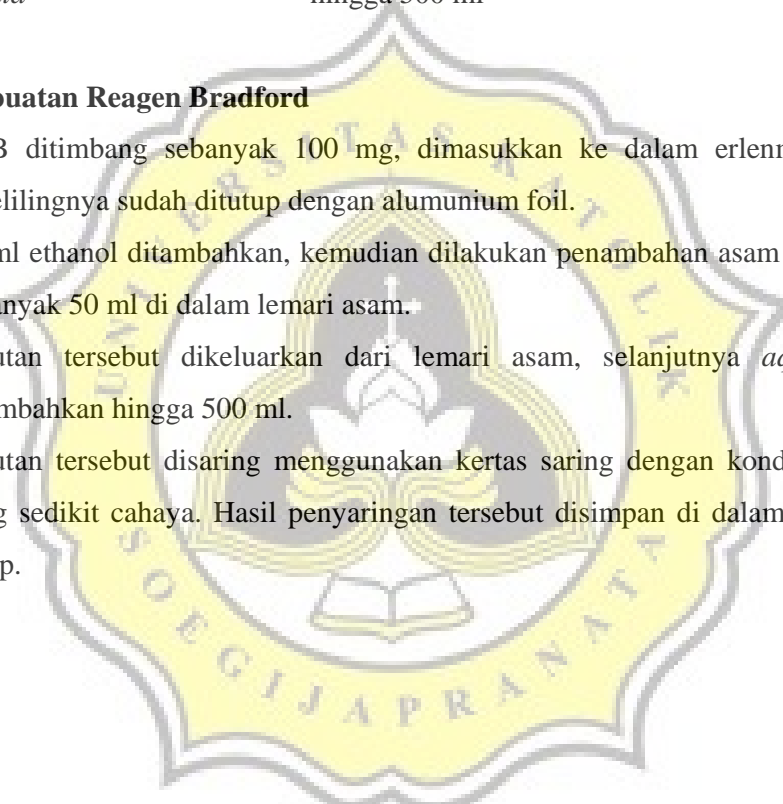
Lampiran 1. Komposisi Reagen Bradford dan Cara Pembuatannya

Komposisi Reagen Bradford

<i>Coomassie Brilliant Blue (CBB)</i>	50 mg
Ethanol	25 ml
Asam fosfor 85%	50 ml
<i>Aquadestilata</i>	hingga 500 ml

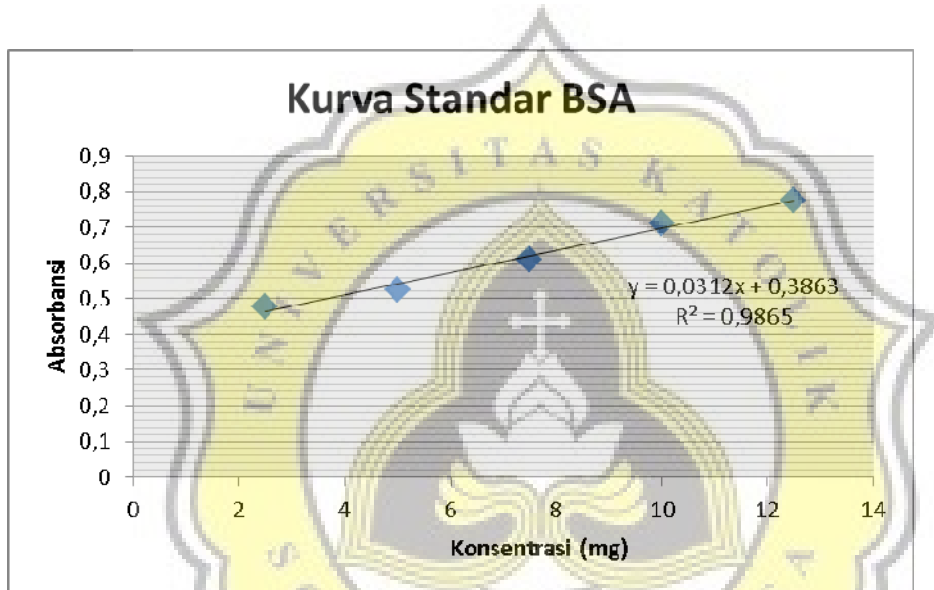
Cara Pembuatan Reagen Bradford

1. CBB ditimbang sebanyak 100 mg, dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sekelilingnya sudah ditutup dengan aluminium foil.
2. 25 ml ethanol ditambahkan, kemudian dilakukan penambahan asam fosfor 85% sebanyak 50 ml di dalam lemari asam.
3. Larutan tersebut dikeluarkan dari lemari asam, selanjutnya *aquadestilata* ditambahkan hingga 500 ml.
4. Larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring dengan kondisi ruangan yang sedikit cahaya. Hasil penyaringan tersebut disimpan di dalam botol kaca gelap.



Lampiran 2. Kurva Standar BSA (*Bovine Serum Albumine*) dan Perhitungan Konsentrasi Protein

Konsentrasi (mg)	Absorbansi
0	0
2.5	0.4792
5	0.5238
7.5	0.6110
10	0.7117
12.5	0.7749
15	0.8092



Perhitungan :

$$Y = 0,8962 \rightarrow y = 0,0312x + 0,3863$$

$$0,8962 = 0,0312x + 0,3863$$

$$0,0312x = 0,8962 - 0,3863$$

$$0,0312x = 0,5099$$

$$x = 16,34 \text{ mg}$$

Tris-HCl \rightarrow 400 ml

$$\text{Konsentrasi protein} = \frac{40000 \text{ } \mu\text{l}}{100 \text{ } \mu\text{l}} \times 16,34 \text{ mg} = 65.368 \text{ mg}$$

$$\text{Konsentrasi protein per gram} = \frac{65368 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = 653,7 \text{ mg/g berat basah}$$

Lampiran 3. Perhitungan Aktivitas dan Aktivitas Spesifik Protease *Spirulina platensis*

$$\text{Aktivitas enzim per unit} = \frac{\text{absorbansi sampel} - \text{absorbansi blanko}}{\text{absorbansi standar} - \text{absorbansi blanko}}$$

$$\text{Aktivitas Protease (1)} = \frac{0,2071 - 0,1811}{0,0746 - 0,1811} = \frac{0,0260}{0,4939} = 0,0521 \text{ aktivitas/unit}$$

$$\text{Aktivitas Protease (2)} = \frac{0,2000 - 0,1811}{0,0746 - 0,1811} = \frac{0,0189}{0,4939} = 0,0375 \text{ aktivitas/unit}$$

$$\text{Aktivitas Protease (3)} = \frac{0,1941 - 0,1811}{0,0746 - 0,1811} = \frac{0,0130}{0,4939} = 0,0258 \text{ aktivitas/unit}$$

$$\text{Aktivitas enzim spesifik} = \frac{\text{aktivitas protease (aktivitas/unit)}}{\text{konsentrasi protein (mg)}}$$

$$\text{Aktivitas enzim spesifik (1)} = \frac{0,0527 \text{ aktivitas/unit}}{0,6137 \text{ mg}} = 0,0861 \text{ unit aktivitas/mg}$$

$$\text{Aktivitas enzim spesifik (2)} = \frac{0,0375 \text{ aktivitas/unit}}{0,6937 \text{ mg}} = 0,0537 \text{ unit aktivitas/mg}$$

$$\text{Aktivitas enzim spesifik (3)} = \frac{0,0258 \text{ aktivitas/unit}}{0,6937 \text{ mg}} = 0,0395 \text{ unit aktivitas/mg}$$

Lampiran 4. Komposisi Media Walne

Komposisi	
<i>Nutrient Solution</i>	per Liter
FeCl ₃ .6H ₂ O	1,3 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,36 g
H ₃ BO ₃	33,6 g
EDTA (Disodium Salt)	45 g
NaH ₂ .PO ₄ .2H ₂ O	20 g
NaNO ₃	100 g
<i>Trace metal solution</i>	per 100ml
CuSO ₄ .5H ₂ O	2 g
ZnCl ₂	2,1 g
CoCl ₂ .6H ₂ O	2 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,9 g
Vitamin	Dalam 100 ml
B ₁	100 g
B ₁₂	5 g

Pemakaian Medium

Medium	per Liter
<i>Nutrient Solution</i>	1 ml
Vitamin	0,1 ml
Air Laut	1 liter

(Widianingsih, 2008).

