

**KARAKTERISTIK GLIKOGEN TEMILOK (*Bactronophorus thoracites*)
BERMUTU RENDAH SEBAGAI KO-PRESIPITAN ASAM DEOKSIRIBONUKLEAT**
*Characteristic of Co-precipitant Glycogen extracted from low quality of whole body
of temilok (*Bactronophorus thoracites*) in the precipitation of deoxyribonucleic acid*

DENNY SYAPUTRA ¹⁾ BUSTAMI IBRAHIM ²⁾ PUTUT TJAHYO WIDODO ³⁾

¹⁾Faculty of Agriculture, Fishery, and Biology, University of Bangka Belitung

²⁾ Department of Aquatic Product Technology, Bogor Agricultural University

³⁾Laboratorium of DNA Forensic, Department of Police Medicine

Abstract

Temilok (*Bactronophorus thoracites*) is one of Teredinidae or family of wood-borer shellfish in fact have a fairly high polysaccharide content, particularly interesting source of glycogen. The object of this experiment is to investigate the impurity contents (nitrogenous compounds and nucleic acids) of extracted glycogen from low quality of temilok based on Nicoletti and Baiocchi glycogen polysaccharide extraction patent method by comprising boiling the whole tissue in an aqueous solution of 40% potassium hydroxide (KOH) and treated with 12% cationic resin Amberlite IR-120 carried out for 16 hours under stirring at room temperature, and the ability of the extracted glycogen as co-precipitant in the precipitation of deoxyribonucleic acid (DNA) of human femur. Nitrogen and nucleic acid content of extracted glycogen were spectrophotometrically measured at 260 nm, 280 nm and 320 nm. Extracted glycogen samples was characterized by determining the glucose content quantitatively using phenol-sulphate method which measured spectrophotometrically at 490 nm. The nitrogen content of extracted glycogen was about 0,8%, yield about 6,5% glycogen characterized as the lowest nucleic acids content i.e 0,07 mg/mL. In order to asses the ability of the extracted glycogen as carrier or co-precipitant of low copy number DNA, we added 20 µL the 2% solution of the extracted glycogen into first step of femur DNA procedure of precipitation. Results revealed that by adding the extracted glycogen solutions, the yield of DNA were not significantly affected at the level of 0,05 though the yield of DNA decreased against blanko about 0,005 ng/µL of 0,0401 ng/µL.

Keywords : temilok, glycogen, co-precipitant, nitrogen content, DNA of femur

PENDAHULUAN

Low copy number DNA atau asam deoksiribonukleat yang dapat dipresipitasi dalam jumlah yang sangat sedikit dengan media etanol atau isopropanol seringkali menjadi masalah di bidang forensik DNA. Penambahan ko-presipitan di dalam prosedur presipitasi DNA membantu mengurangi kehilangan sejumlah DNA hasil ekstraksi. Penggunaan glikogen sebagai ko-presipitan dalam meningkatkan perolehan asam deoksiribonukleat (DNA) mulai dikenal luas. Sumber glikogen yang sangat baik selain tiram dan kerang adalah kerang spesies *Bactronophorus thoracites* atau temilok karena memiliki kadar protein yang rendah dan karbohidrat yang tinggi. Ekstraksi glikogen menggunakan metode alkali panas relatif mudah dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui seberapa rendah mutu ekstrak glikogen yang dihasilkan dari daging temilok utuh yang disimpan pada suhu dingin (4°C)

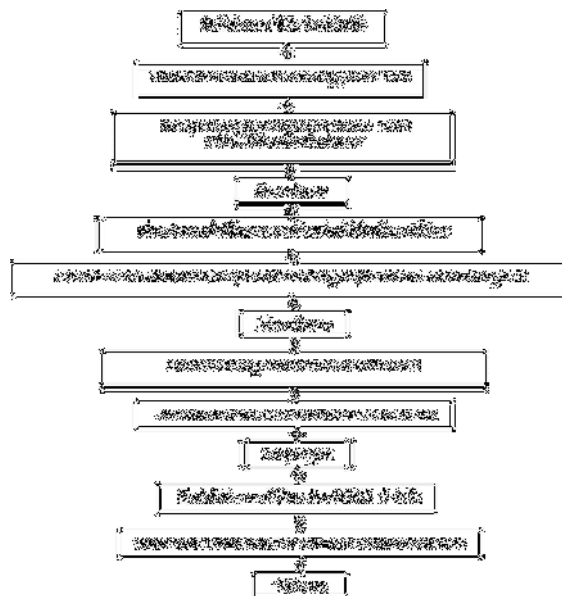
selama 70 hari sebelum digunakan sebagai bahan baku ekstraksi glikogen dengan metode Nicoletti dan Baiocchi (1994). Karakteristik mutu glikogen dalam percobaan ini meliputi rendemen, residu nitrogen dan residu asam nukleat sampel hasil ekstraksi.

METODE

Sampel Bahan Baku

Temilok segar diperoleh dari penjual temilok di Kecamatan Belinyu, Kabupaten Bangka, Provinsi kepulauan Bangka Belitung pada bulan Oktober 2011. Sampel sebanyak 300 g kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik, diikat rapat dan disimpan pada suhu 4°C selama 70 hari. Proses ekstraksi dilakukan berdasarkan metode Nicoletti dan Baiocchi (1994) (lihat Gambar 1).

Ekstrak dengan residu pengotor paling rendah dikarakterisasi kadar glikogennya dengan pereaksi PHESUL (Bennet *et al.* 2007) secara spektrofotometri pada panjang gelombang 490nm. Nilai absorbansi pada panjang gelombang 490nm dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar. Kurva standar dibuat dengan meregresikan nilai x yaitu konsentrasi glukosa (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm) dengan nilai y yaitu absorbansinya, sehingga diperoleh persamaan kurva standar yaitu $y = 0.0041x + 0.022$.



Kapasitas larutan ekstrak glikogen temilok sebagai ko-presipitan diukur dari kemampuan larutan glikogen yang ditambahkan sebagai perangkap DNA femur (tulang paha manusia). DNA femur diekstraksi dengan metode organik (Lennard *et al.* 2007)) sehingga diperoleh 800µL sampel larutan DNA femur. Tahap selanjutnya adalah presipitasi DNA dari larutan. Empat puluh µL sodium asetat 3M (pH 5.2) dan 20µL larutan ekstrak glikogen temilok (20µg glikogen dalam akuabides hingga 1µL) ditambahkan ke dalam 800µL larutan DNA femur (3 ulangan), larutan blanko adalah campuran larutan di atas tanpa penambahan larutan glikogen). Bartram *et al.* (2009) melaporkan bahwa penyinaran larutan glikogen dengan ultraviolet selama 30 menit sebelum pencampuran dengan larutan lain dilakukan untuk menghancurkan kontaminan berupa asam nukleat. Etanol absolut dingin sebanyak 1100 µL ditambahkan dan dikocok dengan inversi selama 5 menit, lalu larutan diinkubasi di dalam *freezer* pada suhu -80°C selama 40 menit, kemudian sentrifus diatur menjadi 4°C. Sampel disentrifus pada 13000rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan dibuang tanpa terambil bagian peletnya, lalu pelet dikering-anginkan di dalam *laminar flow cabinet* pada suhu ruangan selama 20 menit, 50 µL bufer TE ditambahkan sambil diaduk dengan pipet (kemudian sampel di-vortex selama 3 detik), lalu sampel hasil ekstraksi disimpan pada suhu 4°C sebagai stok untuk tahap kuantifikasi dengan Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

Analisis Statistik

Analisis kapasitas ekstrak glikogen sebagai ko-presipitan DNA femur dalam proses presipitasi dimodelkan sebagai *paired comparison design* atau uji perbandingan berpasangan dengan 3 ulangan pada taraf signifikansi 0,05 (Montgomery 2001). Analisis regresi linear sederhana terhadap data residu pengotor dan *yield* DNA femur menggunakan Microsoft Excell (Microsoft Corporation, 2007).

HASIL

Setelah rebusan temilok di dalam KOH 40% didinginkan hingga suhu larutan menjadi 32°C, lalu 150mL etanol 96% ditambahkan ke dalam larutan. Presipitat yang terbentuk berwarna putih dipisahkan dari fase cair dengan penyaringan menggunakan dua lapis kain belacu. Penyaringan dilakukan selama 1 jam dengan menggunakan 2 corong gelas. Setelah penyaringan, presipitat dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 21 jam. Bobot sebelum dan sesudah pengeringan disajikan pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Bobot presipitat (g) sebelum dan setelah pengeringan dalam oven pada suhu 50°C selama 21 jam

Kode Sampel	Bobot Presipitat (g)		Rasio Bobot (%)
	Sebelum Pengeringan	Setelah Pengeringan	
A	89,94	28,35	31,52
B	97,77	28,05	28,69
C	95,61	22,05	23,06
Rataan±SD	94,44±4,04	26,15±3,55	27,76±0,04

Presipitat yang sudah kering kemudian ditambah 200 mL akuades, diaduk selama 1 jam hingga melarut sempurna, pH ketiga larutan diukur sebesar 13. Setelah itu ditambahkan asam asetat glasial hingga pH netral. Larutan yang sudah dinetralkan lalu disaring dengan selebar kertas saring (2 corong/ sampel) selama 12 jam. Sebanyak 12g resin kationik Amberlite IR-120 ditambahkan ke dalam larutan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* berdimensi panjang 3 cm dan diameter 0,5 cm dengan *mixer* Yamato MD-41 pada kecepatan 6 selama 16 jam. Setelah diangkat dari *stirrer* pH larutan diukur kembali (lihat Tabel 2).

Tabel 2. Volume asam asetat glasial (mL) yang ditambahkan dalam penetralan larutan dan pH larutan setelah diaduk selama 16 jam dengan penambahan resin kationik Amberlite IR-120

Kode Sampel	Volume Asam Asetat (mL)	pH setelah stirrer
A	5,00	6
B	4,50	6
C	3,50	7
Rataan±SD	4,33±0,76	6,33±0,58

Setelah resin kationik dipisahkan dari larutan dengan penyaringan, larutan kemudian ditambah dengan etanol 96% dengan volume yang setara. Presipitat yang dihasilkan kemudian disaring dan ditimbang, dimasukkan ke dalam cawan porselen berdiameter ±4cm dan dikeringkan selama 8 hari di dalam desikator vakum gel silika. Bobot ekstrak sebelum dan sesudah pengeringan disajikan pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Bobot sampel hasil ekstraksi setelah pengeringan di dalam desikator vakum gel silika selama 8 hari

Kode Sampel	Bobot sampel hari ke-0 (g)	Bobot sampel hari ke-8 (g)	Rasio Bobot (%)	Rendemen (%)
A	7,95	5,26	66,16	5,26
B	8,29	5,11	61,64	5,10
C	9,43	6,75	71,58	9,23
Rataan±SD	8,56±0,78	5,71±0,91	66,69±1,17	6,53±2,34

Sampel ekstrak yang sudah kering kemudian ditimbang masing-masing 3,05 gram lalu ditambah dengan akuabides hingga volume larutan menjadi 150mL dalam wadah botol kaca dan ditutup. Larutan disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam hingga ekstrak larut seluruhnya. Larutan kemudian dikarakterisasi dengan spektrophotometer pada panjang gelombang 260nm, 280nm, dan 320 nm untuk mengukur residu nitrogen dan asam nukleatnya.

Tabel 4. Absorbansi sampel 2% larutan sampel ekstrak glikogen pada panjang gelombang 260nm, 280nm, dan 320nm

Kode Sampel				Residu N (%)	Residu Asam Nukleat (%)
	A260	A280	A320		
A	0.821	1.191	2.048	0,8955	0,0781
B	0.819	1.186	2.005	0,8909	0,0783
C	0.802	1.155	1.480	0,8650	0,0776
Rataan±SD				0,8838±0,0165	0,0780±0,0003

0,5 mL larutan tiap sampel lalu ditambah dengan 11,25 mL akuabides. Setiap 0,5mL larutan yang terbentuk ditambahkan dengan 1 mL phenol 5% dan 5 mL H₂SO₄ pekat lalu divortex selama 10 detik dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Larutan yang terbentuk pada konsentrasi 800 ppm kemudian diukur konsentrasi glikogennya dengan alat spektrophotometer pada panjang gelombang 490nm. Penghitungan kadar glikogen sampel ekstrak menggunakan kurva standar glukosa dapat dilihat pada Tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Kadar glikogen (ppm) sampel hasil ekstraksi

Kode Sampel	A490	Kadar Glikogen (ppm)
A	3,3319	807,29
B	2,9055	703,29
C	2,9019	702,41
Rataan±SD	3,0464±0,2472	737,67±60,30

BERMUTU RENDAH SEBAGAI KO-PRESIPITAN ASAM DEOKSIRIBONUKLEAT

Characteristic of Co-precipitant Glycogen extracted from low quality of whole body of temilok (Bactronophorus thoracites) in the precipitation of deoxyribonucleic acid

ISSN 1978-652

Sampel ekstrak glikogen di atas kemudian diuji kapasitas ko-presipitannya terhadap DNA femur dengan *yield* DNA (ng/ μ L) sebagai berikut :
Tabel 6 Konsentrasi DNA femur yang terpresipitasi

Kode Sampel	Ulangan ke-			Rataan $\pm$ SD
	1	2	3	
A	$2,56 \times 10^{-2}$	$3,78 \times 10^{-2}$	$3,18 \times 10^{-2}$	$3,17 \pm 0,61 \times 10^{-2}$
B	$3,20 \times 10^{-2}$	$3,05 \times 10^{-2}$	$3,45 \times 10^{-2}$	$3,23 \pm 0,20 \times 10^{-2}$
C	$4,12 \times 10^{-2}$	$2,98 \times 10^{-2}$	$3,83 \times 10^{-2}$	$3,64 \pm 0,59 \times 10^{-2}$
Rataan $\pm$ SD	$3,29 \pm 0,78 \times 10^{-2}$	$3,27 \pm 0,44 \times 10^{-2}$	$3,49 \pm 0,33 \times 10^{-2}$	$3,35 \pm 0,26 \times 10^{-2}$
Blanko	$4,27 \times 10^{-2}$	$2,5 \times 10^{-2}$	$5,27 \times 10^{-2}$	$4,0 \pm 0,01 \times 10^{-2}$

PEMBAHASAN

Orrel dan Bueding (1964) melaporkan bahwa perlakuan suhu lebih dari 50°C mendeградasi ukuran molekul glikogen dan dapat menurunkan bobot molekul glikogen. Dalam penelitian ini dapat dilaporkan bahwa pengeringan presipitat hasil ekstraksi pada suhu 50 °C selama 21 jam menyebabkan sekitar 72% air yang dikandung di dalam presipitat hasil ekstraksi dapat dibebaskan dengan risiko kerusakan molekul glikogen yang lebih kecil. Hal ini sangat penting diperhatikan terutama dengan penggunaan bahan baku yang rendah mutunya supaya rendemen tidak banyak berkurang.

Ekstrak glikogen remis dengan residu nitrogen 0,5% dapat melarut sempurna di dalam air pada suhu 20 °C setelah 3-4 hari hingga konsentrasi 16% (Kerly 1929). Sekitar 28 % ekstrak glikogen kasar diperoleh pada tahap akhir pengeringan. Ekstrak glikogen kasar sebanyak 28 g membutuhkan sedikitnya 200 mL akuades untuk melarutkannya secara sempurna. Kelarutan glikogen terekstrak alkali panas memiliki kelarutan yang tinggi. Hal ini dibuktikan dari hasil pengamatan bahwa hanya dibutuhkan satu jam pengadukan sehingga seluruh glikogen kasar yang terekstrak untuk larut di dalam akuades pada suhu kamar.

Protein sensitif terhadap basa dengan konsentrasi tinggi. Gugus NH_3^+ pada asam amino yang mengandung H^+ diikat oleh ion OH^- yang konsentrasinya tinggi. Protein yang terdenaturasi pada pH di luar titik isoelektriknya masih dapat larut di dalam air (Poedjiadi dan Supriyanti 2006). Perebusan dengan KOH 40% menyebabkan ekstrak kasar masih mengandung ion OH^- yang tinggi. Larutan ini masih mengandung residu alkali dan protein yang relatif tinggi. Hal ini diindikasikan dari nilai pH yang masih tinggi yaitu 13 dan masih relatif lamanya waktu penyaringan yang menandakan adanya partikel selain glikogen yang larut, terutama protein. Penyaringan kedua ini menyebabkan sebagian besar residu nitrogen yang

berasal dari protein dapat dipisahkan dari ekstrak glikogen.

Penetralkan larutan yang mengandung KOH (basa kuat) dengan CH_3COOH (asam lemah) menghasilkan garam CH_3COOK yang dapat mengalami hidrolisis total dan bereaksi dengan pelarut air yang mengakibatkan perubahan konsentrasi ion H^+ dan OH^- sehingga larutan yang terbentuk cenderung bersifat basa (Mulyono 2009). Kondisi ini dapat mengurangi risiko glikogen terhidrolisis namun protein masih larut bersama larutan glikogen. Nicoletti dan Baiocchi (1994) melaporkan bahwa glikogen mudah terdegradasi pada kondisi asam.

Gerakan mekanik menyebabkan protein terdenaturasi (Poedjiadi dan Supriyanti 2006). Konsentrasi Na^+ yang tinggi di dalam larutan yang mengandung protein dapat mendorong terjadinya pengendapan protein di dalam larutan tersebut (Bishov dan Mitchell 1956). Denaturasi protein terjadi selama pengadukan larutan dengan penambahan resin kationik. Kinerja pertukaran kation oleh resin kationik dengan gugus aktif Na^+ sangat efektif membantu pengendapan protein. Kation-kation di dalam larutan sebagian besar terdiri dari ion potasium (K^+), pertukaran ion H^+ dari CH_3COOH yang ditambahkan saat penetralan, maupun NH_3^+ dari asam amino. Ion K^+ dari garam CH_3COOK yang larut di dalam air akan melepaskan ion Na^+ dari resin. Ion Na^+ yang larut ke dalam air mendorong pengendapan protein sekaligus pembentukan kembali sejumlah tertentu asam asetat yang akan terpisah dari glikogen terekstrak setelah larutan dipresipitasi dengan etanol dan disaring. Interaksi lama pengadukan dan banyaknya resin kationik yang ditambahkan efektif dalam menurunkan residu nitrogen maupun asam nukleat yang masih terikat protein (nukleoprotein). Oleh karena itu, penyaringan setelah pengadukan ini sangat efektif dalam mengurangi residu protein di dalam ekstrak glikogen sebelum dipresipitasi dengan etanol 96%.

Vies (1954) melaporkan bahwa kemurnian glikogen ditentukan setelah dikonversi menjadi glukosa dengan kadar sekitar 90-95%. Sahyun dan Alsberg (1930) melaporkan bahwa glikogen memiliki sifat adesif yang sangat kuat terhadap permukaan yang licin seperti kaca, serta memiliki warna opalescence jika dilarutkan ke dalam air. Glikogen terekstrak dari penelitian ini mengandung glukosa dengan kadar sekitar $86,78 \pm 0,07\%$ (Lihat Tabel 5). Rendemen glikogen terekstrak sekitar 6,5% masih relatif rendah jika dibandingkan dengan potensi karbohidrat temilok. Syaputra *et al.* (2007) melaporkan bahwa kadar karbohidrat temilok sekitar 17%. Penelitian ini membuktikan bahwa penyimpanan temilok selama 70 hari pada suhu 4°C mengakibatkan rendemen dan kemurnian glikogen menjadi rendah.

Kapasitas glikogen terekstrak sebagai ko-presipitan DNA femur dapat dilihat dari banyaknya

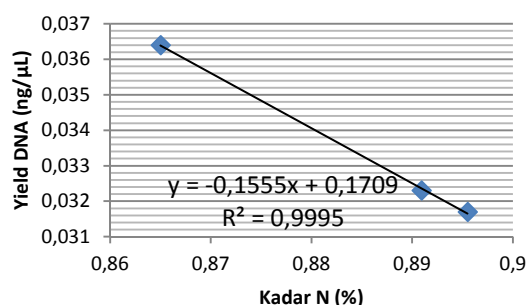
BERMUTU RENDAH SEBAGAI KO-PRESIPITAN ASAM DEOKSIRIBONUKLEAT

Characteristic of Co-precipitant Glycogen extracted from low quality of whole body of temilok (*Bactronophorus thoracites*) in the precipitation of deoxyribonucleic acid

ISSN 1978-652

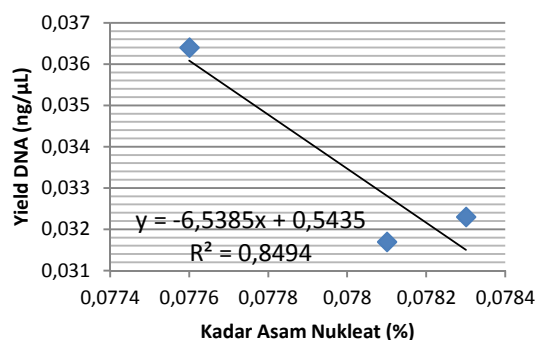
DNA femur yang terpresipitasi dan terkuantifikasi dengan RT-PCR dengan satuan ng/ μ L. Penambahan glikogen terekstrak sebagai ko-presipitan tidak berpengaruh nyata terhadap DNA femur yang terpresipitasi meskipun tampak terjadi penurunan jumlah DNA yang terpresipitasi sekitar 0,005 ng/ μ L. Pemanfaatan temilok yang telah disimpan selama 70 hari pada suhu 4°C terbukti menghasilkan ko-presipitan dengan kapasitas yang cukup tinggi yaitu sekitar 0,0035 ng/ μ L (lihat Tabel 6).

Hubungan antara kadar pengotor dan jumlah DNA femur terpresipitasi dapat dilihat dari gambar berikut ini :



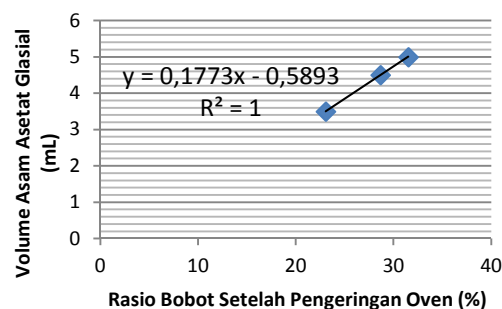
Gambar 2. Hubungan antara residu nitrogen ekstrak glikogen (%) dan jumlah DNA femur yang terpresipitasi (ng/ μ L).

Sebanyak 0,88% residu nitrogen masih terkandung di dalam glikogen terekstrak yang menandakan masih tingginya kadar pengotor. Matsui *et al.* (1996) melaporkan bahwa glikogen murni dalam kondisi alamianya mengandung protein kurang dari 1,1%. Nicoletti dan Baiocchi (1994) melaporkan bahwa dengan metode yang sama menggunakan bahan baku remis *Mytilus gallus provincialis* tanpa perlakuan penambahan resin, residu nitrogen sampel glikogen hanya sekitar 0,18%. Hal ini menandakan bahwa pemanfaatan bahan baku yang mutunya rendah akan menyebabkan tingginya residu nitrogen di dalam glikogen terekstrak.



Gambar 3. Hubungan antara residu asam nukleat ekstrak glikogen (%) dan konsentrasi DNA femur yang terpresipitasi (ng/ μ L).

Gambar 3 di atas memperlihatkan korelasi yang erat antara kapasitas ekstrak glikogen di dalam membantu presipitasi DNA femur dengan residu asam nukleat yang dikandung oleh glikogen terekstrak. Residu asam nukleat dari glikogen terekstrak dapat dilihat di Tabel 4. Hasil ini menegaskan bahwa asam nukleat dalam jumlah tertentu dapat mengganggu atau menurunkan kemampuan ko-presipitan khususnya glikogen dalam membantu proses presipitasi DNA di dalam media etanol. Bartram *et al.* (2009) melaporkan bahwa produk glikogen komersial dengan peruntukan khusus sebagai ko-presipitan DNA mengandung residu asam nukleat tidak lebih dari sekitar 0,0040 mg/mL.



Gambar 4. Hubungan antara rasio bobot ekstrak (jam ke-21 dan jam ke-0 pengeringan oven pada suhu 50°C selama 21 jam) dan volume asam asetat glisial yang ditambahkan dalam penetralan pH larutan ekstrak glikogen kasar.

Dari Gambar 4 di atas kita dapat menjelaskan bahwa volume asam asetat glisial yang ditambahkan sangat dipengaruhi oleh rasio bobot ekstrak glikogen yang dikeringkan di dalam oven pada suhu 50 °C selama 21 jam. Berdasarkan percobaan ini dapat dilaporkan bahwa pengeringan presipitat hasil penyaringan pertama dapat mencapai sekitar 1/4 bobot awal dengan volume asam asetat glisial yang dibutuhkan untuk menetralkan pH larutan (setelah penambahan 200 mL akuades) sebesar 4,33 $\pm$ 0,76 mL.

Dari Tabel 3 kita dapat melihat bahwa penggunaan temilok yang sudah 70 hari disimpan pada suhu 4 °C sebagai bahan baku ekstraksi dengan alkali panas menghasilkan ekstrak glikogen sekitar 1/3 dari kandungan polisakarida daging temilok. Selama 70 hari penyimpanan, sebanyak 2/3 bagian glikogen temilok terhidrolisis secara enzimatik, terutama disebabkan oleh aktivitas enzim pemecah ikatan cabang α -1,4 dan α -1,6 rantai glukosa, baik yang berasal dari enzim di dalam daging temilok maupun yang berasal dari mikroflora alami dan mikroba kontaminasi yang berasal dari perairan payau tempat pencucian temilok sebelum dikemas di dalam kantong plastik.

KESIMPULAN

Temilok segar yang disimpan selama 70 hari pada suhu 4 °C dapat diekstrak glikogennya dengan metode alkali panas disertai dengan perlakuan pengadukan yang ditambahkan dengan resin kationik sebanyak 12% dari bobot awal bahan baku selama 16 jam menghasilkan glikogen terekstrak dengan rendemen sekitar 6,5%, dan residu protein sebesar 0,8%. Ekstrak yang diperoleh terkarakterisasi sebagai glikogen dengan kadar glukosa sekitar 86%, namun kemampuan ekstrak ini sebagai larutan 2% di dalam membantu proses presipitasi (ko-presipitan) DNA tulang paha manusia masih relatif rendah yaitu 0,005 ng/μL lebih rendah daripada rata-rata DNA yang diperoleh tanpa penambahan glikogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas kerjasama dan partisipasi aktif antara peneliti dari Universitas Bangka Belitung dan Institut Pertanian Bogor, serta fasilitas laboratorium DNA Pusat Kedokteran dan Kesehatan Markas Besar Kepolisian NKRI yang dikepalai oleh Bapak Drs. Putut Tjahyo Widodom, DFP., M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams RLP, Knowler JT, Leader DP. 1986. The Biochemistry of Nucleic Acids. 10th Ed. New York : Chapman and Hall.
- Bartram AK, Poon C, Neufeld JD. 2009. Nucleic acid contamination of glycogen used in nucleic acid precipitation and assesment of linear polyacrylamide as an alternative co-precipitant. Short Technical Reports, *Biotechniques* 47:1019-1022.
- Bennet LW, RW Keirs, ED Peebles, PD Gerard. 2007. Methodologies of Tissue Preservation and Analysis of the Glycogen Content of the Broiler Chick Liver. *Poultry Science* 86:2653-2665.
- Bishov SJ dan Mitchell Jr JH. 1956. Sedimentation of milk proteins as a function of certain ions. *Food Technology* 10 (7) :312-315.
- Bueding E, Orrell SA. 1964. A mild procedure for the isolation of polydisperse glycogen from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry* 239 (12):4018-4020.
- Burgos NMG de, C Burgos, CE Coronel, AB de Camusso, T Pignini and A Blanco. 1979. Correlation of lactate dehydrogenase isoenzyme C4 activity with the count and motility of human spermatozoa. *J. Reprod. Fert*, 55:107-111.
- Hastings JRB and Kirby KS. 1966. The nucleic acids of *Drosophila melanogaster*. *Biochem.J* 100:532-539.
- Kerly M. 1929. The Solubility of Glycogen. Department of Physiology and Biochemistry, University College, London.
- Lennard C, D McNevin, S Rogers, K Turnbull, S Walsh, J Ward. 2007. *Training Manual "Biological Criminalistic"*. National centre for forensic study, University of Canberra.
- Matsui M, Kakut M, Misaki A. 1996. Fine structural features of oyster glycogen: mode of multiple branching. *Carbohydrate Polymers* (31) : 227 – 235.
- Montgomery DC. 2001. *Design and Analysis of Experiments*. 5th Edition. John Wiley & Sons, Inc.
- Mulyono HAM. 2009. *Membuat Reagen Kimia di Laboratorium*. Jakarta : Bumi Aksara.
- Nedel F, MCM Conde, IO de Oliveira, SBC Tarquino, FF Demarco. 2009. Comparison between DNA obtained from buccal cells of the upper and lower gutter area. *Braz Dent J* 20 (4): 275-278.
- Nicoletti R and Baiocchi L, penemu; 17 February 1994. Glycogen Polysaccharide. US Patent 5,734,045.
- Orrel SA and Buedding E. 1964. A Comparison of products obtained by various procedures used for the extraction of glycogen. *The Journal of Biological Chemistry* 239(12):4021-4026.
- Palvast P and Velde G van der. 2011. New Threats of an old enemy : The distribution of the shipworm *Teredo navalis* L. (Bivalvia: Teredinidae) related to climate change in the Port of Rotterdam area, the Nederlands. *Marine Pollution Bulletin* 62:1822-1829.
- Poedjiadi A dan Supriyanti FMT. 2006. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta : UI-Press.
- Sahyun M and Alsberg CL. 1930. On rabbit liver glycogen and its preparation. *The Journal of Biological Chemistry* 89 (1):33-39.
- Steel R G D. 1989. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Jakarta : Penerbit Gramedia.
- Syaputra D, B Ibrahim, D Poernomo. 2007. Produk fermentasi ikan dari cacing kapal (*Bactronophorus* sp) segar. *Jurnal Akuatik* 1:12-14.
- Syaputra D. 2007. Upaya peningkatan hasil tangkapan cacing kapal *Bactronophorus* sp. dari ekosistem bakau. *Jurnal Akuatik* 2:1-5.
- Takata H, Kajiura H, Furuyashiki T, Kakutani R, and Kuriki T. 2009. Fine structural properties of natural and synthetic glycogens [abstrak]. *Carbohydrate Research* 344 (5):654.
- Vies J van der. 1954. Two Methods for the Determination of Glycogen in Liver. *Biochem J* 57:410-416. www.biochemj.org/bj/057/0410/0570410.pdf [24 Feb 2011].

- Wanson JC and Tielemans L. 1971. Morphological and biochemical characteristic of glycogen particles isolated from rabbit polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Cell Biology* 49:816-829.
- Yamaguchi H, Kanda Y, Iwata K. 1974. Macromolecular structure and morphology of native glycogen particles isolated from *Candida albicans*. *Journal of Bacteriology* 120 (1):441-449.