

**ISOLASI, PENAPISAN, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI  
PENGHASIL FUKOIDANASE DARI *Sargassum polycystum***

**(Tesis)**

**Oleh**

**M. DARMAWAN  
NPM 2120041007**



**PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT  
PASCASARJANA  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### ISOLASI, PENAPISAN, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL FUKOIDANASE DARI *Sargassum polycystum*

Oleh :

M. DARMAWAN

Fukoidanase, enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan glikosida antara residu fukosa sulfat dalam fukoidan, banyak ditemukan pada berbagai organisme laut baik bakteri, jamur, maupun invertebrata. Namun sejauh ini kajian pemanfaatan bakteri simbiosis *Sargassum polycystum* sebagai penghasil fukoidanase belum pernah dikaji. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, dan mengidentifikasi bakteri penghasil fukoidanase dari *S. polycystum* secara morfologi, biokimia, dan molekuler 16S rDNA. Isolasi bakteri simbiosis dilakukan dengan 2 metode yaitu sebar (*spread plate method*) dan gores (*streak plate method*). Isolat murni kemudian dilakukan uji aktivitas secara kualitatif dan semi kuantitatif pada media selektif untuk melihat zona bening yang dihasilkan setelah pemberian larutan *cetyl pyridinium chloride* (CPC) 10%. Uji aktivitas selanjutnya dilakukan secara kuantitatif untuk mengetahui aktivitas fukoidanase secara spesifik yang dihasilkan. Hasil penelitian diperoleh 4 isolat bakteri simbiosis dari *S. polycystum* yang memiliki aktivitas fukoidanase terbesar dengan metode CPC yaitu isolat GSD, PTF, PSA, dan GSB. Nilai indeks aktivitas fukoidanase yang didapatkan secara berturut-turut yaitu isolat GSD ( $10,66 \pm 2,26$ ), isolat PTF ( $8,69 \pm 0,36$ ), isolat PSA ( $8,23 \pm 2,64$ ), dan isolat GSB ( $7,92 \pm 0,11$ ). Aktivitas fukoidanase secara spesifik juga menunjukkan bahwa isolat GSD pada waktu produksi fukoidanase 48 dan 72 jam memiliki aktivitas paling besar dibandingkan 3 isolat lainnya yaitu sebesar 0,0072 U/mg dan 0,0083 U/mg. Identifikasi secara morfologi, biokimia, dan molekuler dengan PCR 16S rDNA didapatkan bahwa ketiga isolat dengan aktivitas fukoidanase terbesar merupakan bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD), *Bacillus cereus* (PTF), dan *Brevibacterium sediminis* (PSA) dengan kemiripan 99%. Fukoidanase yang dihasilkan diharapkan dapat digunakan untuk produksi enzim skala industri di Indonesia. Selain itu, pemanfaatan bakteri simbiosis pada alga coklat diharapkan dapat mengurangi eksploitasi terhadap *S. polycystum* dan turut melestarikan ekosistem laut.

**Kata Kunci:** *Fukoidanase, S. polycystum, bakteri simbiosis, rDNA*

## ABSTRACT

### ISOLATION, SCREENING, CHARACTERIZATION, AND IDENTIFICATION OF FUCOIDANASE PRODUCING BACTERIA FROM *Sargassum polycystum*

By

M. DARMAWAN

Fuoidanase, an enzyme that catalyzes the cleavage of the glycoside bonds between sulfated fucose residues in fuoidan, is found in various marine organisms, including bacteria, fungi, and invertebrates. However, studies on the use of the symbiont *Sargassum polycystum* as a fuoidanase producer have not been studied. This study aims to isolate, characterize, and identify fuoidanase-producing bacteria from *S. polycystum* morphologically, biochemically, and molecularly 16S rDNA. Isolation of bacterial symbionts was carried out by 2 methods, namely spread plate method and streak plate method. The pure isolate was then tested qualitatively and semi quantitative on media selection to see the clear zone produced after the administration of 10% cetyl pyridinium chloride (CPC) solution. Subsequent activity tests were conducted quantitatively to determine the specific fuoidanase activity produced. The results showed that 4 isolates of symbiotic bacteria from *S. polycystum* had the greatest fuoidanase activity by CPC method, namely isolates GSD, PTF, PSA, and GSB. The fuoidanase activity index values obtained sequentially were GSD isolates ( $10.66 \pm 2.26$ ), PTF isolates ( $8.69 \pm 0.36$ ), PSA isolates ( $8.23 \pm 2.64$ ), and GSB isolates ( $7.92 \pm 0.11$ ). The specific fuoidanase activity also showed that GSD isolates at 48 and 72 hours of fuoidanase production had the greatest activity compared to the other 3 isolates, namely 0.0072 U/mg and 0.0083 U/mg. Morphological, biochemical, and molecular identification with 16S rDNA PCR found that the three isolates with the greatest fuoidanase activity were *Cytobacillus kochii* (GSD), *Bacillus cereus* (PTF), and *Brevibacterium sediminis* (PSA) bacteria with 99% similarity. The fuoidanase produced is expected to be used for industrial-scale enzyme production in Indonesia. In addition, the use of symbiotic bacteria in brown algae is expected to reduce the exploitation of *S. polycystum* and contribute to the preservation of marine ecosystems.

**Keywords:** Fuoidanase, *S. polycystum*, bacterial symbiont, rDNA

**ISOLASI, PENAPISAN, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI  
PENGHASIL FUKOIDANASE DARI *Sargassum polycystum***

**Oleh**

**M. DARMAWAN**

**Tesis**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar  
MAGISTER SAINS**

**Pada**

**Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut  
Pascasarjana Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT  
PASCASARJANA  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Tesis : **ISOLASI, PENAPISAN, KARAKTERISASI,  
DAN IDENTIFIKASI BAKTERI  
PENGHASIL FUKOIDANASE DARI  
*Sargassum polycystum***

Nama Mahasiswa : M. Darmawan

Nomor Pokok Mahasiswa : 2120041007

Program Studi : Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut

Fakultas : Pascasarjana Multidisiplin



**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.  
NIP. 198408052009121003

Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.  
NIP. 197707132009122002

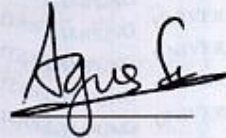
**2. Ketua Program Studi Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut  
Universitas Lampung**

Dr. Supono, S.Pi., M.Si.  
NIP. 197010022005011002

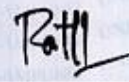
## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

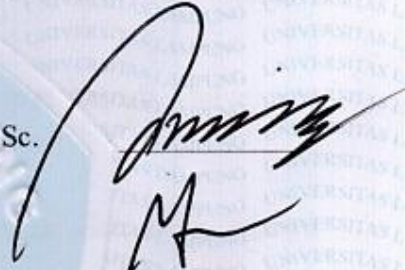
Ketua : Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.



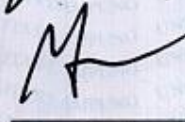
Sekretaris : Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.



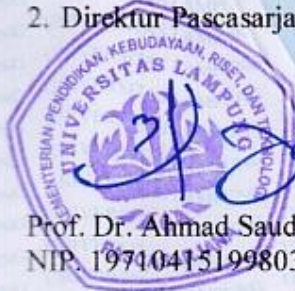
Penguji  
Bukan Pembimbing : Dr. Gregorius Nugroho Susanto, M.Sc.



Anggota : Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.



### 2. Direktur Pascasarjana Universitas Lampung



Prof. Dr. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.  
NIP. 197104151998031005

Tanggal Lulus Ujian Tesis : 25 Januari 2023

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul: "***ISOLASI, PENAPISAN, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL FUKOIDANASE DARI *Sargassum polycystum****" adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya, saya bersedia dan sanggup dituntut sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 25 Januari 2023

Yang membuat pernyataan,



M. DARMAWAN  
NPM 2120041007

## RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Kecamatan Kayuagung, Kabupaten Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan pada 20 September 2000 sebagai anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Bahrin dan Ibu Mai Yani. Penulis menempuh pendidikan formal dari Sekolah Dasar SD Negeri 13 OKU pada tahun 2005-2011, dilanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 13 OKU pada 2011-2014, dan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 4 OKU pada tahun 2014-2017. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang Perguruan Tinggi di Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan memperoleh beasiswa Adaro pada tahun 2020.

Selama menjadi mahasiswa S1 penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Biologi Akuatik tahun ajaran 2018/2019, Teknologi Hasil Perikanan tahun ajaran 2018/2019, Fisiologi Hewan Air tahun ajaran 2019/2020, dan Avertebrata Laut tahun ajaran 2019/2020. Selain itu, penulis pernah aktif dalam organisasi kampus dan mengikuti berbagai kegiatan. Penulis mengemban amanah menjadi pengurus Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (HIMAPIK) Unila Bidang Pengembangan Minat dan Bakat pada tahun 2018-2019. Tahun 2020 penulis berhasil menjadi finalis Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) bidang Penelitian Eksakta dengan judul “Penggunaan Ekstrak Daun *Handeuleum (Graptophyllum pictum)* untuk Meningkatkan Imunitas Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer* Bloch 1790) terhadap Serangan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*”.



Pada Januari-Maret 2020 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Ketapang, Kecamatan Sungkai Selatan, Kabupaten Lampung Utara selama 40 hari. Pada Juni-Agustus 2020, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Benih Ikan (BBI) Natar, Lampung Selatan dengan judul “Teknik Pembenihan Ikan Lele Mutiara (*Clarias gariepinus*) di Balai Benih Ikan (BBI) Natar, Lampung Selatan” selama 40 hari. Pada tahun 2021 penulis menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Perlindungan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dari Infeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dengan Suplementasi Natrium Alginat *Sargassum* sp. dari Perairan Lampung dan Kombinasi dengan Vitamin C”. Tahun 2023 penulis menyelesaikan tugas akhir tesis yang berjudul “Isolasi, Penapisan, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Penghasil Fukoidanase dari *Sargassum polycystum*.”

## *PERSEMBAHAN*

Dengan segala rasa syukur kepada Allah S.W.T atas kenikmatan dan kemudahan yang selalu mengiringi langkah untuk semua hambanya.

Kupersembahkan karya ini kepada : Bapak dan Ibu tercinta, yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a dukungan, motivasi, pengorbanan dan selalu memberikan yang terbaik untuk anakmu. Bagiku, jasa dan pengorbanan kalian tidak akan mampu tergantikan dengan apapun. **Terimakasih**

Seluruh keluarga besar yang telah memberikan do'a dan dukungan selama masa studi. Teman-teman MWPL21 yang telah memberikan kebersamaan dari awal hingga akhir masa studi.

**&**

Almamater tercinta **"UNIVERSITAS LAMPUNG"**

## **MOTTO HIDUP**

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S Al Baqarah: 286)

“Apapun yang menjadi takdirmu, akan mencari jalannya menemukanmu.”

(Ali bin Abi Thalib)

“Jangan pergi mengikuti kemana jalan akan berujung. Buat jalanmu sendiri dan tinggalkanlah jejak.”

(Ralph Waldo Emerson)

“Kamu tidak harus menjadi hebat untuk memulai, tetapi kamu harus mulai untuk menjadi hebat.”

(Zig Ziglar)

“Great things are not done by impulse, but by a series of small things brought together.”

(Vincent van Gogh)

“Kamu tidak bisa kembali dan mengubah masa lalu, maka dari itu tataplah masa depan dan jangan buat kesalahan yang sama dua kali.”

(Anonim)

## SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas kelimpahan rahmat dan karuniaNya yang telah memberikan kesehatan, kekuatan dan kemudahan sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir tesis yang berjudul “Isolasi, Penapisan, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Penghasil Fukoidanase dari *Sargassum polycystum*”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master Sains di Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut, Pascasarjana, Universitas Lampung.

Selama proses penyelesaian studi dan tesis ini, penulis telah memperoleh banyak dukungan dari berbagai pihak terutama kedua orang tua saya, Bapak Bahrin dan Ibu Mai Yani yang telah menjadi orangtua terhebat, terimakasih atas segala kasih sayang, do'a, serta motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Maka dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih juga yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T. selaku Direktur Pascasarjana Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Supono, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Program Studi Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut Universitas Lampung;
3. Bapak Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing, memberikan ilmu dan ide pemikiran, arahan, masukan serta waktunya untuk selalu membimbing penulis dalam menyelesaikan tugas akhir tesis ini;
4. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. selaku Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu guna memberikan bimbingan serta motivasi sejak awal hingga penyelesaian tesis;

5. Bapak Dr. Gregorius Nugroho Susanto, M.Sc. selaku Penguji Utama yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun terhadap tesis ini;
6. Ibu Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan masukan dan saran-saran pada penyusunan tugas akhir ini;
7. Bapak Dr. Ir. Abdullah Aman Damai, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan mulai dari mahasiswa baru sampai bisa menempuh gelar master;
8. Seluruh Dosen dan Staf program studi Magsiter Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut yang penuh dedikasi dalam memberikan ilmu yang bermanfaat serta segala bantuan selama penulis menyelesaikan studi;
9. Ayuk Desi, adek Lina, adek Anggun, dan adek Zahra atas segala doa dan dukungan yang tiada henti sehingga penulis sampai di tahap ini;
10. Teman-teman MWPL 21 Yesica, Ceuceu, Yuna, Ainun, Sahda, Rizka, Bayu dan Bangkit atas doa, bantuan, kebersamaan, canda tawa, dan pengalaman selama menempuh pendidikan ini;
11. Mba Dwi, Mba Tari, dan Mba Yeyen yang telah membantu saya selama penelitian di laboratorium pertanian;

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari bahwa tesis ini masih terdapat banyak sekali kekurangan, akan tetapi penulis berharap tesis ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan keilmuan kita.

Bandar Lampung, 25 Januari 2023  
Penulis,

M. Darmawan

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	.xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	.xvii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	.xviii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	.xix
<b>DAFTAR ISTILAH</b> .....	.xx
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	.xxi
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	.1
1.1 Latar Belakang.....	.1
1.2 Tujuan Penelitian.....	.4
1.3 Kerangka Pemikiran .....	.4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	.6
2.1 Alga Coklat.....	.6
2.2 Fukoidan .....	.8
2.3 Bakteri Pendegradasi Fukoidan.....	.11
2.4 Fukoidanase .....	.12
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	.15
3.1 Waktu dan Tempat .....	.15
3.2 Alat dan Bahan .....	.15
3.3 Prosedur Penelitian.....	.16
3.3.1 Koleksi <i>S. polycystum</i> .....	.18
3.3.2 Ekstraksi Fukoidan.....	.18

3.3.3 Karakterisasi Fukoidan <i>S. polycystum</i> .....	18
3.3.3.1 Total Karbohidrat. ....	18
3.3.3.2 Analisa Kandungan Sulfat. ....	19
3.3.3.3 Analisa <i>Fourier Transformed Infra Red</i> (FT-IR). ....	19
3.3.4 Isolasi Bakteri Simbion Penghasil Fukoidanase .....	19
3.3.5 Uji Aktivitas Fukoidanase Secara Kualitatif dan Semi Kuantitatif... ..	20
3.3.6 Pembuatan Kurva Standar Fukosa.....	21
3.3.7 Produksi Enzim Fukoidanase Ekstrak Kasar.....	21
3.3.8 Uji Aktivitas Fukoidanase Secara Kuantitatif .....	22
3.3.9 Penentuan Kadar Protein Total .....	23
3.3.10 Identifikasi Bakteri Simbion Penghasil Fukoidanase .....	23
3.3.10.1 Identifikasi Morfologi. ....	23
3.3.10.2 Identifikasi Biokimia. ....	24
a. Uji Gram .....	24
b. Uji O/F (Oksidatif/Fermentatif) .....	24
c. Uji Katalase .....	25
3.3.10.3 Identifikasi Molekuler 16S rDNA. ....	25
3.3.11 Analisis Data. ....	26
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	27
4.1.1 Isolasi Kandidat Bakteri Penghasil Fukoidanase .....	27
4.1.2 Karakteristik Fukoidan <i>S. polycystum</i> .....	28
4.1.2.1 Karbohidrat Total dan Sulfat.....	28
4.1.2.2 <i>Fourier Transformed Infra Red</i> (FT-IR).....	28
4.1.3 Uji Aktivitas Fukoidanase.....	29
4.1.3.1 Uji Aktivitas Fukoidanase Kualitatif dan Semi Kuantitatif ..	29
4.1.3.2 Uji Aktivitas Fukoidanase Secara Kuantitatif.....	30
4.1.3.3 Kadar Protein Fukoidanase .....	31
4.1.3.4 Aktivitas Fukoidanase Spesifik.....	32
4.1.4 Identifikasi Bakteri penghasil Fukoidanase .....	33
4.1.4.1 Identifikasi Secara Morfologi dan Biokimia.....	33

4.1.4.2 Identifikasi Secara Molekuler PCR 16S rDNA .....	36
4.2 Pembahasan .....	36
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	46



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran .....	5
2. Morfologi <i>S. polycystum</i> .....	8
3. Diagram alir penelitian .....	17
4. Karakteristik koloni bakteri .....	24
5. Hasil isolasi bakteri simbion <i>S. polycystum</i> .....	27
6. Spektrum FT-IR <i>S. polycystum</i> .....	28
7. Indeks aktivitas bakteri penghasil fukoidanase .....	29
8. Isolat simbion <i>S. polycystum</i> dengan aktivitas fukoidanase terbesar .....	30
9. Aktivitas fukoidanase .....	31
10. Kadar protein fukoidanase .....	32
11. Aktivitas fukoidanase spesifik .....	33
12. Hasil uji Gram isolat bakteri penghasil fukoidanase .....	34
13. Hasil uji O/F isolat bakteri penghasil fukoidanase .....	35
14. Hasil uji katalase isolat bakteri penghasil fukoidanase .....	35

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat penelitian .....	15
2. Bahan-bahan penelitian .....	16
3. Hasil uji morfologi bakteri yang menghasilkan fukoidanase terbesar .....	33
4. Hasil uji biokimia bakteri yang menghasilkan fukoidanase terbesar .....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pengujian statistik.....	61
2. Proses ekstraksi fukoidan dari <i>S. polycystum</i> .....	72
3. Dokumentasi ekstraksi fukoidan dari <i>S. polycystum</i> .....	73
4. Perhitungan pengenceran bahan ekstraksi fukoidan.....	75
5. Pembuatan pereaksi DNS .....	76
6. Kurva standar fukosa dan BSA .....	77
7. Contoh perhitungan aktivitas fukoidanase (U/ml).....	78
8. Contoh perhitungan kadar protein dan aktivitas spesifik (U/mg) .....	79
9. Hasil identifikasi bakteri secara molekuler PCR 16S rDNA.....	80
10. Hasil <i>sequensing</i> dengan 16S rDNA pada isolat GSD, PTF, dan PSA .....	83

## DAFTAR ISTILAH

Fukoidanase	: Enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan glikosida antara residu fukosa sulfat dalam fukoidan.
Fukoidan	: Polisakarida sulfat dengan senyawa penyusun utama fukosa dan sulfat.
Bakteri simbion	: Bakteri yang menempel dan berinteraksi pada alga tetapi tidak berdampak negatif pada salah satu pihak.
Hidrokoloid	: Komponen polimer yang berasal dari sayuran, hewan, atau mikroba yang umumnya memiliki kemampuan menyerap dan mengikat air.
Senyawa bioaktif	: Senyawa aktif yang terkandung baik pada tubuh hewan maupun tumbuhan dengan beberapa manfaat seperti antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker.
Laminarin	: Glukan (polisakarida glukosa) alga coklat yang terbentuk dari proses fosforilasi antara $\beta$ -glukan dengan $\beta$ -linkages.
Iodin organik	: Senyawa organik yang mengandung satu atau lebih ikatan karbon-iodin.
Manitol	: Jenis alkohol gula yang digunakan sebagai pemanis dan obat-obatan.
Mineral	: Nutrisi mikro yang memiliki peran dalam membantu fungsi tubuh agar berjalan dengan optimal.
Ikatan glikosidik	: Sebuah ikatan kovalen yang terbentuk antara molekul karbohidrat dan molekul lain yang dalam hal ini antara dua monosakarida.
Antikoagulan	: Golongan obat-obatan yang digunakan untuk menghambat pembekuan darah.
Sel <i>natural killer</i>	: Komponen sistem imun nonspesifik yang berperan dalam pertahanan tubuh untuk mengenali dan menyingkirkan infeksi virus yang dapat bertransformasi tanpa perlu terpapar sebelumnya.
Angiogenesis	: Proses fisiologis terbentuknya pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang telah ada.
Osteogenesis	: Salah satu penyakit langka yang dapat menyebabkan tulang menjadi rapuh dan lemah sehingga mudah patah.

## DAFTAR SINGKATAN

rDNA	: Ribosomal deoxyribonucleic acid
Fe <sup>2+</sup>	: Ferrum
Co <sup>2+</sup>	: Cobalt
Cu <sup>2+</sup>	: Cupri
Ni <sup>2+</sup>	: Nikel
Mg <sup>2+</sup>	: Magnesium
Zn <sup>2+</sup>	: Zinc
Mn <sup>2+</sup>	: Mangan
Ca <sup>2+</sup>	: Calcium
Ba <sup>2+</sup>	: Barium
Li <sup>2+</sup>	: Lithium
pH	: Potential hydrogen
HCl	: Hydrogen chloride
CaCl <sub>2</sub>	: Calcium chloride
KOH	: Kalium hidroksida
NaOH	: Natrium hidroksida
Na Bisulfit	: Natrium bisulfit
K-Na tartarat	: Kalium natrium tartarat
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrogen peroksida
NaNO <sub>3</sub>	: Natrium nitrat
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	: Magnesium sulfate heptahydrate
NaCl	: Natrium chloride

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rumput laut sudah sejak lama digunakan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan, baik dikonsumsi langsung maupun diolah terlebih dahulu menjadi berbagai jenis pangan olahan. Penelitian Ode dan Wasahua (2014) melaporkan bahwa tumbuhan ini mengandung berbagai senyawa seperti hidrokoloid, bioaktif dan senyawa penting lainnya. Rumput laut telah dimanfaatkan pada berbagai bidang industri dan berhasil dikembangkan secara komersial sebagai bahan makanan, kecantikan, farmasi, pertambangan, dan industri lainnya (Widyastuti, 2009). Pemanfaatan rumput laut sebagai keperluan industri sangat bergantung dengan sifat fisik, sifat kimia, dan senyawa penting di dalamnya. Alga coklat menjadi salah satu jenis rumput laut yang sangat banyak digunakan oleh manusia. Berbagai senyawa aktif dilaporkan terkandung di dalam alga ini seperti fukoidan, alginat, laminarin, iodin organik, manitol, dan mineral (Abraham *et al.*, 2019; Prasetya *et al.*, 2020; Fauzиеe *et al.*, 2021).

Salah satu senyawa aktif pada alga coklat yang banyak dilakukan kajian yaitu fukoidan. Fukoidan merupakan polisakarida kompleks penyusun dinding sel alga coklat yang mengandung sebagian besar L-fukosa sulfat dan beberapa jenis monosakarida seperti galaktosa, mannosa, xilosa, glukosa, dan asam uronat (Garcia-Rios *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2020). Berbagai struktur kimia yang terdapat pada fukoidan dihubungkan oleh ikatan glikosidik  $\alpha$ -(1,2),  $\alpha$ -(1,3),  $\alpha$ -(1,4), dan gugus sulfat (Li *et al.*, 2008; Lim *et al.*, 2016). Struktur kimia dan berat molekul fukoidan pada alga coklat berbeda-beda tergantung dari jenis, waktu panen, dan kondisi lingkungan (Wang *et al.*, 2019). Fukoidan dapat ditemukan pada berbagai jenis rumput laut seperti *Sargassum* sp., *Padina* sp., *Turbinaria* sp., *Cladosiphon*

*okamuranus*, *Kjellmaniella crassifolia*, dan *Undaria pinnatifida*. Polisakarida ini diketahui memiliki berat molekul yang bervariasi dengan rentang luas yaitu 7 kDa (Zvyangintseva *et al.*, 2003), 2379 kDa (Rioux *et al.*, 2009),  $7,71 \times 10^4$  Da (Sinurat *et al.*, 2011), dan  $1 \times 10^5$  kDa (Vo dan Kim, 2013). Berat molekul yang bervariasi dapat mempengaruhi bioaktivitas fukoidan yaitu sebagai antioksidan (0,8-10 kDa) (Yuan dan Macquarrie, 2015), proangiogenik (15-20 kDa) (Marinval *et al.*, 2016), antiobesitas (0,8 kDa) (Lin *et al.*, 2017), antikoagulan (10-77 kDa) (Wang *et al.*, 2019), dan antidiabetes (5-30 kDa) (Wang *et al.*, 2019).

Berbagai kajian pemanfaatan fukoidan telah banyak dilakukan terutama sebagai kandidat obat-obatan baik pada manusia maupun hewan. Penelitian oleh Narayani *et al.* (2019) menemukan bahwa fukoidan *Sargassum cinereum* dengan konsentrasi  $IC_{50}$  250  $\mu$ g/ml dapat memberikan efek antikanker dan apoptosis yang kuat pada sel Caco-2 dengan meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (SOR). Aplikasi fukoidan *S. hemiphylum* pada sel makrofag tikus (RAW264.7) dan sel adenokarsinoma lambung (AGS) juga terbukti secara signifikan dapat mengurangi infeksi *Helicobacter pylori* dengan menurunkan jumlah total bakteri dan menurunkan tingkat interleukin-6 (IL-6) serta *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) (Chen *et al.*, 2022). Menurut Zhang *et al.* (2021), pemberian 50 mg/kg fukoidan *Eclonia cava* pada tikus BALB/c dapat meningkatkan jumlah sel *natural killer* (NK) di limpa dan memiliki efek terkuat pada aktivasi sel NK serta secara efektif mencegah infiltrasi sel karsinoma CT-26 di paru-paru. Fukoidan juga dilaporkan berperan penting selama penyembuhan tulang seperti peradangan (Park *et al.*, 2011), osteogenesis (Kim *et al.*, 2015b; Pereira *et al.*, 2014) dan angiogenesis (Oliveira *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2021).

Sejauh ini ekstrak fukoidan telah sebagian dikomersialkan sebagai bahan makanan fungsional dan obat-obatan (Fitton *et al.*, 2019; Mendez dan Gonzales, 2019) seperti Colidan, Fucoidan 100, dan Fudan 100 sebagai obat lambung. Namun sifat fukoidan yang heterogen dan berat molekul yang besar menjadi hambatan dalam mencapai persetujuan peraturan untuk penggunaan farmasi klinis (Vuillemin *et al.*, 2020; Ramos-de-la-Pena *et al.*, 2022). Saat ini mempersiapkan fukoidan

dengan berat molekul rendah menjadi hal yang penting untuk dikaji. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa terdapat berbagai metode yang dapat dilakukan untuk menghasilkan fukoidan dengan molekul rendah yakni dengan hidrolisis asam (Karlsson dan Singh, 1999), degradasi radikal bebas, degradasi ultrasonik, degradasi suhu tinggi (Shi *et al.*, 2019), dan hidrolisis enzimatis (Hifney *et al.*, 2018; Silchenko *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019). Hidrolisis enzimatis menjadi metode yang paling efektif karena lebih mudah, lebih efisien dan lebih terkontrol. Hidrolisis enzimatis dapat digunakan untuk mempelajari struktural fukoidan dan produksi oligomernya (Kusaykin *et al.*, 2016). Enzim akan bekerja secara spesifik pada satu jenis ikatan dalam molekul polimer dan dapat digunakan untuk depolimerisasi fukoidan.

Fukoidanase merupakan enzim yang dapat mendegradasi fukoidan sehingga molekul menjadi lebih rendah. Enzim ini mengkatalisis pemutusan ikatan glikosida antara residu fukosa sulfat dalam fukoidan. Enzim ini telah ditemukan pada organisme laut seperti bakteri (Silchenko *et al.*, 2013), invertebrata (Silchenko *et al.*, 2014a), dan beberapa jamur (Rodriguez-Jasso *et al.*, 2010). Menurut penelitian Rasin *et al.* (2020), fukoidanase FFA1 rekombinan dari bakteri laut *Formosa algae* KMM 3553<sup>T</sup> mampu mendegradasi fukoidan *Sargassum horneri* dari berat molekul awal 140 kDa menjadi 63 kDa. Zueva *et al.* (2020) menambahkan bahwa fukoidanase *fwf1*, *fwf2*, *fwf3*, dan *fwf4* dari bakteri laut *Wenyingshuangia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup> juga dapat menghidrolisis fukoidan *Fucus evanescens* dengan berat 160 kDa menjadi 88,78 kDa, 98,16 kDa, 106,91 kDa, dan 88,83 kDa. Endo- $\alpha$ (1,3)-fukoidanase Mef2 yang dihasilkan oleh bakteri laut *Muricauda eckloniae* juga dilaporkan dapat menghidrolisis fukoidan *Saccharina latissima* dari berat molekul 350 kDa menjadi 200 kDa (Tran *et al.*, 2022).

Di sisi lain, *Sargassum* sp. dilaporkan memiliki kandungan bakteri simbiosis yang dapat dimanfaatkan sebagai kandidat bakteri pendegradasi fukoidan. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa jenis bakteri yang umumnya bersimbiosis dengan *Sargassum* sp. yaitu bakteri jenis *Bacillus* sp. Bakteri tersebut terbukti dapat mendegradasi polisakarida seperti alginat untuk menghasilkan oligosakarida alginat



(Subaryono *et al.*, 2017). Sejauh ini studi pemanfaatan bakteri simbion alga coklat sebagai kandidat bakteri pendegradasi fukoidan *Sargassum polycystum* belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan kajian terkait pemanfaatan bakteri simbion tersebut sebagai kandidat bakteri penghasil fukoidanase.

## 1.2 Tujuan Penelitian

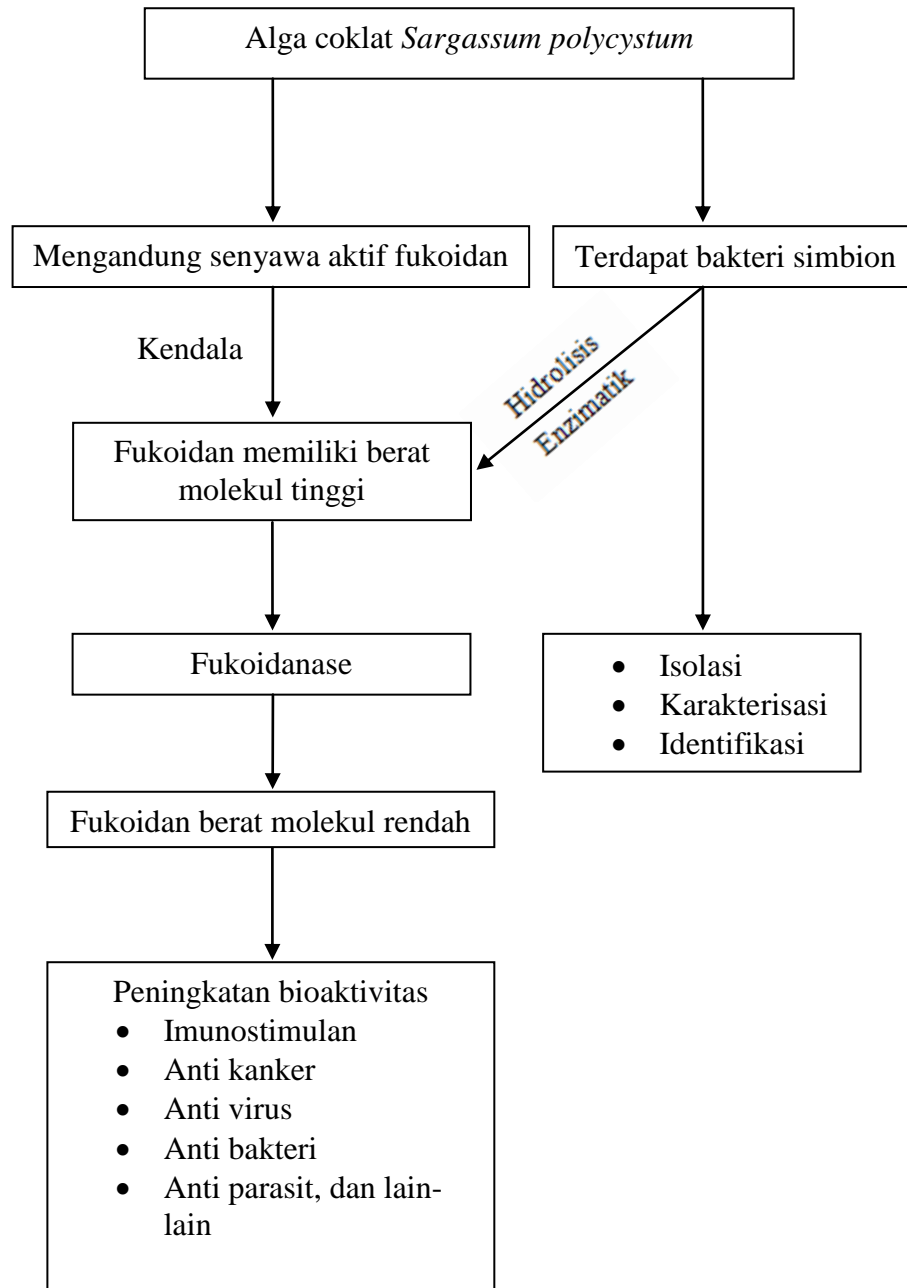
Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, dan mengidentifikasi bakteri penghasil fukoidanase dari *S. polycystum* secara morfologi, biokimia, dan molekuler 16S rDNA.

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Alga coklat *S. polycystum* terkandung berbagai senyawa aktif yang dapat dijadikan sebagai alternatif obat-obatan baik pada manusia maupun hewan. Fukoidan merupakan salah satu senyawa aktif yang banyak dikaji karena memiliki berbagai bioaktivitas. Polisakarida ini banyak ditemukan pada berbagai jenis alga coklat seperti *Sargassum* sp., *Turbinaria* sp., *Padina* sp., *Cladosiphon okamuranus*, *Kjellmaniella crassifolia*, dan *Undaria pinnatifida*. Namun pemanfaatannya sebagai kandidat obat-obatan masih memiliki kendala karena memiliki berat molekul yang tinggi dan berbeda-beda tergantung dari jenis, musim panen, dan kondisi iklim rumput laut yang digunakan.

Hidrolisis enzimatik menjadi metode yang paling efektif dalam mendegradasi fukoidan menjadi senyawa dengan berat molekul yang lebih rendah karena lebih mudah, lebih efisien dan lebih terkontrol. Fukoidanase merupakan enzim yang dihasilkan dari metode ini dengan mengkatalisis pemutusan ikatan glikosida antara residu fukosa sulfat dalam fukoidan. Fukoidanase dapat ditemukan pada beberapa organisme laut seperti bakteri, invertebrata, dan beberapa jamur. Di sisi lain, beberapa alga coklat seperti *Sargassum polycystum* dilaporkan terdapat bakteri simbion yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa bakteri simbion tersebut dapat mendegradasi salah satu polisakarida pada alga coklat. Fukoidanase yang dihasilkan diharapkan dapat menjadi acuan untuk produksi fukoidan dengan berat molekul rendah sehingga meningkatkan

berbagai bioaktivitas didalamnya baik imunomodulator, antikanker, antivirus, antibakteri, antiparasit dan bioaktivitas lainnya. Kerangka pemikiran penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1. Kerangka pemikiran penelitian.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Alga Coklat

Alga merupakan sekumpulan organisme autotrof tanpa organ baik akar, batang, maupun daun sehingga digolongkan sebagai tumbuhan berthalus (Leibo *et al.*, 2016). Berdasarkan ukuran struktur tubuhnya alga digolongkan ke dalam dua golongan besar yaitu makroalga dan mikroalga. Makroalga merupakan alga yang mempunyai bentuk dan ukuran tubuh makroskopis, sedangkan mikroalga merupakan alga yang mempunyai bentuk dan ukuran tubuh mikroskopis (Subagio dan Kasim, 2019). Alga menjadi salah satu sumber devisa negara dan sumber pendapatan khususnya bagi masyarakat pesisir karena sangat banyak dan mudah untuk diperdagangkan di pasar lokal maupun internasional. Pemanfaatan rumput laut sudah sangat luas pada kehidupan sehari-hari, baik sebagai sumber pangan, obat-obatan maupun bahan baku industri (Zeisel dan Steven, 2012). Menurut Indriani dan Sumiarsih (1991) permintaan alga terutama makroalga di pasar internasional terus mengalami peningkatan, namun masih dominan pada jenis *Eucheuma* atau *Kappaphycus* dan *Gracilaria* sp., sementara alga jenis *Chlorophyceae* seperti *Caulerpa* hanya dimanfaatkan dan diperdagangkan secara lokal.

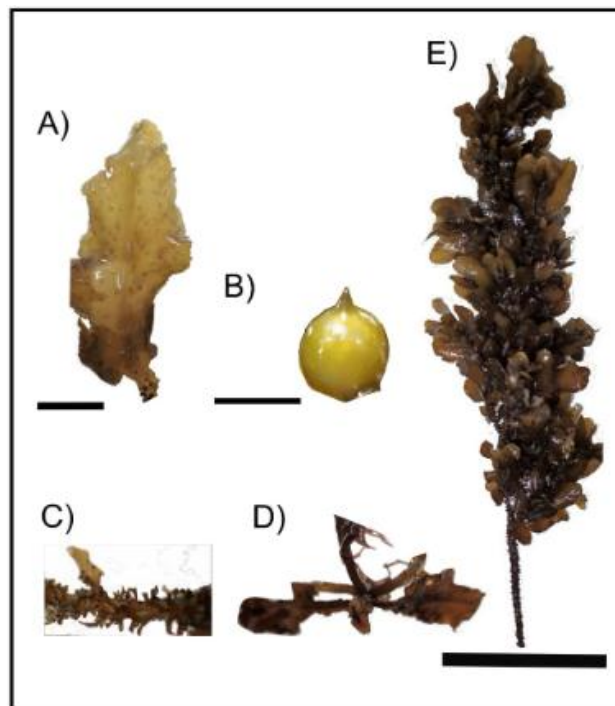
Alga dibagi ke dalam tiga kelas besar, yaitu Rhodophyceae (alga merah), Phaeophyceae (alga coklat), dan Chlorophyceae (alga hijau). Alga merah (Rhodophyceae) mengandung karagenan dan agar, sehingga banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan, kimia dan obat-obatan (Amaranggana dan Wathoni, 2017). Adapun Alga coklat terdapat kandungan polisakarida dan metabolit sekunder yang besar yaitu polifenol, terpenoid, karotenoid, dan oxilipin. Polifenol menjadi kelompok senyawa dengan kandungan metabolit sekunder tertinggi pada alga coklat yang salah satunya adalah florotanin. Florotanin dapat dimanfaatkan bagi kesehatan dan

dapat ditemukan pada alga jenis *Sargassum thunbergii*, *Undaria pinnatifida*, *Ecklonia* sp., *Eisenia bicyclis*, *Ishige okamurae*, *Hizikia fusiformis*, dan *Laminaria japonica*. Senyawa ini memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antimikroba, anti-HIV, antialergi, antiinflamasi, antikanker, antidiabetes, dan antiobesitas (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2019). Selain memiliki potensi biologis dan ekonomis alga juga memiliki peran ekologis untuk menjaga kestabilan ekosistem laut serta sebagai tempat hidup dan berlindung bagi berbagai biota laut.

Alga coklat adalah salah satu makroalga yang paling banyak ditemukan di berbagai wilayah pesisir dan laut Indonesia dan banyak dimanfaatkan oleh manusia. Ada dua tipe substrat utama yang digunakan sebagai tempat hidup alga ini yaitu substrat lunak (lumpur dan campuran (lumpur dan pasir) dan substrat keras (karang mati, karang hidup, dan batuan) (Subagio dan Kasim, 2019). Jenis alga coklat di perairan Indonesia diperkirakan sekitar 28 spesies yang berasal dari enam genus yaitu *Sargassum*, *Padina*, *Dyctyota*, *Hormophysa*, *Turbinaria*, dan *Hydroclathrus*. Genus *Sargassum* telah teridentifikasi sebanyak 14 spesies, *Turbinaria* sebanyak 4 spesies, *Hormophysa* sebanyak 1 spesies, *Padina* sebanyak 4 spesies, *Dyctyota* sebanyak 5 spesies, dan *Hydroclathrus* sebanyak 1 spesies (Ode dan Wasahua, 2014).

Salah satu spesies alga coklat yang banyak didapatkan di perairan Lampung yaitu *Sargassum polycystum*. Penelitian Handayani (2017) dan Asih *et al.*, (2019) juga melaporkan bahwa di beberapa perairan Lampung seperti Teluk Lampung (Pia-bung, Puhawang Barat, Puhawang Timur, Puhawang Kecil, Klagian, Pancur, Limbungan, dan Kalangan) serta Pesisir Barat Lampung banyak ditemukan spesies *S. polycystum*. Spesies alga coklat ini memiliki ciri-ciri tubuh yaitu berwarna coklat, thalus berukuran sekitar 35 cm, *holfast* pipih, bentuk stipe silinder, percabangan *alternate*, sedangkan blade berbentuk panjang cenderung runcing dan bergerigi. Klasifikasi dari *S. polycystum* menurut Widowaty (2018) sebagai berikut:

Divisi : Phaeophyta  
 Kelas : Phaeophyceae  
 Ordo : Fucales  
 Famili : Sargassaceae  
 Genus : *Sargassum*  
 Spesies : *Sargassum polycystum*



Gambar 2. Morfologi *S. polycystum*; a. blade, b. gas bladder, c. stipe, d. holdfast dan e. thalus (Yip *et al.*, 2018).

## 2.2 Fukoidan

Fukoidan dikenal sebagai polisakarida sulfat dengan senyawa penyusun utama fukosa dan sulfat yang dapat merangsang produksi sel-sel imun untuk meningkatkan imunitas (Rahma *et al.*, 2015). Komponen sulfat yang terkandung dalam fukoidan terdiri atas sedikit monosakarida seperti galaktosa, glukosa, xilosa, dan asam uro-*nat* dan yang lainnya mengandung L-fukosa sulfat (Sinurat, 2011). Terdapat banyak bioaktivitas yang terkandung di dalam polisakarida ini yaitu sebagai aktivator sel NK (*natural killer*) yang berfungsi sebagai imunitas alami tubuh (*innate immunity*). Menurut Ale *et al.* (2011a), fukoidan memiliki toksisitas oral yang

rendah, sehingga substitusi senyawa tersebut dalam suatu produk makanan aman untuk dikonsumsi. Senyawa fukoidan pada alga coklat secara alami dapat melindungi alga tersebut dari mikroorganisme berbahaya yang terlarut dalam air laut (Sinurat dan Maulida, 2018).

Fukoidan awalnya dinamakan fukoidin karena mengandung fukosa yang tersulfasi (Fletcher *et al.*, 2017). Tingkat sulfasi pada fukoidan dapat mempengaruhi tinggi rendahnya bioaktivitas dari polisakarida ini, meskipun faktor lain seperti struktur dan berat molekul dari fukoidan juga dapat mempengaruhi (Chizhov *et al.*, 1999). Menurut Choi *et al.* (2013), fukoidan dengan berat molekul yang lebih rendah menunjukkan resistensi yang lebih tinggi terhadap aktivitas transformasi sel daripada berat molekul tinggi. Kemurnian fukoidan dan berat molekul fukoidan mempengaruhi bioaktivitas dalam fungsinya sebagai imunostimulan (Wang *et al.*, 2016). Adapun perbedaan struktur fukoidan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu tempat tumbuhnya fukoidan (arus laut, kecerahan, salinitas, suhu, dan kedalaman), jenis alga, waktu panen, musim, tahap pertumbuhan, dan proses ekstraksi baik jenis pelarut, suhu, maupun waktu ekstraksi (Sinurat dan Kusumawati, 2017).

Polisakarida ini pertama kali diekstraksi pada tahun 1913 dari spesies alga coklat yaitu *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, dan *Fucus vesiculosus* (McDowell, 1990). Fukoidan termasuk polisakarida bermuatan negatif dan sangat higroskopis (Cui *et al.*, 2018). Kandungan fukoidan setiap spesies berbeda-beda tergantung dari jenis, lingkungan perairan dan musim pada saat alga dipanen. Kandungan fukoidan dapat diketahui dengan mengukur tiga komponen utamanya yaitu gula, sulfat, dan asam uronik. Salah satu cara untuk mengkonfirmasi adanya fukoidan pada alga coklat yaitu dengan melihat gugus fungsi sulfat. Adanya polisakarida sulfat merupakan ciri khas dari fukoidan (Sinurat dan Kusumawati, 2017; Sugiono, 2015; Domili, 2018). Polisakarida ini umumnya memiliki dua bentuk yaitu glikosaminoglikan (GAGs) atau F-fukoidan yang tersusun dari ester tersulfasi L-fukosa sebanyak 95% dan U-fukoidan yang tersusun atas 20% asam glukuronat (Ale *et al.*, 2011b). Pemanfaatan fukoidan secara maksimal dapat

meningkatkan potensi alam dan kekayaan hayati maritim di Indonesia (Cumashi *et al.*, 2007; Xue *et al.*, 2013; Atashrazm *et al.*, 2015).

Senyawa aktif yang terdapat pada fukoidan memiliki bioaktivitas sebagai antikanker, antiatherosklerosis, antiinflamasi, antikoagulan, imunomodulator dan antioksidan (Satyarsa, 2019). Menurut penelitian Senthilkumar *et al.* (2013), fukoidan menghambat proliferasi sel kanker dengan menginduksi apoptosis dan sel penangkapan siklus, menghambat angiogenesis dan juga metastasis. Studi lain menunjukkan bahwa fukoidan nanokomposit telah digunakan untuk memperbaiki tulang pada kelinci (Young *et al.*, 2016). Penelitian Han *et al.* (2015) melaporkan bahwa fukoidan dapat digunakan untuk agen terapi yang kuat untuk mengobati penyakit iskemik pada tikus dan juga berfungsi sebagai agen antikanker potensial untuk mengobati kanker usus besar.

Pemanfaatan fukoidan pada bidang akuakultur juga banyak dilakukan dan terbukti dapat dijadikan sebagai pakan fungsional pada berbagai spesies ikan maupun udang. Trailalgar *et al.* (2010) melaporkan bahwa pemberian pakan dengan fukoidan pada juvenile *Marsupenaeus japonicas* secara signifikan dapat meningkatkan bobot tubuh, laju pertumbuhan spesifik, dan retensi protein serta menurunkan rasio konversi pakan. Pemberian fukoidan sebanyak 0,1-0,3% juga dapat meningkatkan pertumbuhan pada *Penaeus monodon* (Sivagnanavelmurugan *et al.*, 2014). Penelitian Nazir *et al.* (2017) melaporkan bahwa penambahan metionin dengan fukoidan menunjukkan efek sinergis dalam meningkatkan pertumbuhan *Labeo rohita* (Nazir *et al.*, 2017).

Studi lain oleh Purbomartono *et al.* (2019) menemukan bahwa suplementasi fukoidan *P. boergesenii* pada pakan dengan dosis 4.000 dan 6.000 mg/kg<sup>-1</sup> efektif untuk meningkatkan imun nonspesifik, ketahanan serta pertumbuhan lele dumbo. Suplementasi fukoidan juga terbukti memiliki bioaktivitas sebagai antivirus dan pemicu respon imun pada udang (Sivagnanavelmurugan *et al.*, 2015; Sinurat *et al.*, 2016; Setyawan *et al.*, 2018). Selain itu, suplementasi fukoidan *Undaria pinnatifida* dengan dosis 10g/kg pakan juga menunjukkan adanya peningkatan per-

tumbuhan baik berat, panjang, dan luas otot serat.pada juvenile *Calcarifer Lates* (Tuller *et al.*, 2014).

### 2.3 Bakteri Pendegradasi Fukoidan

Sejauh ini fukoidan alga coklat telah banyak dimanfaatkan sebagai kandidat obat-obatan karena menunjukkan aktivitas biologis yang kuat, baik sebagai antibakteri, antivirus, antitumor, antikoagulan, dan antioksidan (Prasetya *et al.*, 2020). Namun polisakarida ini memiliki polisulfat dengan berat molekul yang tinggi dan karakteristik serupa satu sama lain, sehingga isolasi polisulfat individu masih sulit dilakukan. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa terdapat berbagai metode yang dapat dilakukan untuk menghasilkan fukoidan dengan molekul rendah yakni dengan hidrolisis asam (Karlsson dan Singh, 1999), degradasi radikal bebas (Wu *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2016), degradasi ultrasonik (Guo *et al.*, 2014), degradasi suhu tinggi (Shi *et al.*, 2019), dan hidrolisis enzimatik (Chen *et al.*, 2019; Hifney *et al.*, 2018; Silchenko *et al.*, 2018).

Efisiensi degradasi fukoidan dengan metode hidrotermal dilaporkan hanya meningkat dari 63% menjadi 73% (Lahrsen *et al.*, 2018a; Morimoto *et al.*, 2014). Adapun degradasi dengan hidrogen peroksida dilaporkan dapat menyebabkan depolimerisasi hingga 87% setelah 8 perlakuan (Lahrsen *et al.*, 2018b). Sementara, hidrolisis enzimatik selama 2 jam oleh fukoidanase dapat mendegradasi fukoidan sebesar 98% (Chen *et al.*, 2019). Dibandingkan dengan metode kimia dan fisik lainnya, hidrolisis enzimatik menjadi metode yang paling efektif karena lebih mudah, lebih efisien dan lebih terkontrol (Chen *et al.*, 2016a; Lahrsen *et al.*, 2018b). Selain itu, fukoidan hasil degradasi enzimatik ternyata lebih bebas dari gangguan sisa reagen berbahaya, sehingga keamanan lebih baik dan dapat diaplikasikan pada makanan fungsional (Lahrsen *et al.*, 2018a). Namun sampai saat ini ketersediaan fukoidanase komersial belum banyak sehingga untuk mendegradasi fukoidan masih sulit (Chang *et al.*, 2010).

Pemanfaatan bakteri laut diketahui dapat digunakan sebagai pendegradasi fukoidan pada alga coklat. Berbagai kajian telah dilakukan pada beberapa jenis alga



coklat untuk dapat mengisolasi polisakarida ini menjadi fukoidan dengan molekul rendah. Penelitian oleh Sakai *et al.* (2004) menemukan bahwa bakteri famili Alteredomonadaceae dari air laut memiliki kemampuan menghasilkan fukoidanase dan mendegradasi fukoidan *Kjellmaniella crassifolia*. Menurut Silchenko *et al.* (2013) bakteri laut *Formosa algae* KM 3553 juga dapat mendegradasi fukoidan *Fucus evanescens* dan *Fucus vesiculosus*. Kim *et al.* (2015a) menambahkan bahwa bakteri laut *Sphingomonas paucimobilis* PF-1 dapat mendegradasi fukoidan *Undaria pinnatifida* menjadi 1000-4000 Da. Selain itu, Nagao *et al.* (2018) juga menambahkan bahwa strain bakteri laut *Luteolibacter alga* H18 dapat mendegradasi fukoidan dari *Cladosiphon okamanus*. Beberapa bakteri laut lainnya juga terbukti dapat menghasilkan fukoidanase yaitu *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp., *Bacillus* sp. HTP2, dan *Pseudoalteromonas* sp. (Sakai *et al.*, 2002; Urvantseva *et al.*, 2006).

#### 2.4 Fukoidanase

Fukoidanase dikenal sebagai enzim yang dapat mengkatalisis pemutusan ikatan glikosida antara residu fukosa sulfat dalam fukoidan. Enzim ini pertama kali didefinisikan pada tahun 1959 dan tergolong ke dalam enzim glikosidase (Kusaykin *et al.*, 2016). Namun efisiensi produsen fukoidanase ini diketahui jauh lebih sedikit daripada laminarinases, amilase, selulase, dan glikosidase lainnya (Kusaykin *et al.*, 2016). Istilah fukoidanase kemudian muncul tahun 1967 pada sebuah artikel tentang isolasi enzim dari hepatopankreas *Haliotus* sp. (Thanassi dan Nakada, 1967). Enzim ini diproduksi oleh organisme laut seperti bakteri (Silchenko *et al.*, 2013), invertebrata (Silchenko *et al.*, 2014a), dan beberapa jamur (Rodriguez-Jasso *et al.*, 2010).

Sejauh ini hanya terdapat beberapa penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi fukoidanase yang telah dilakukan. Hal tersebut dikarenakan struktur fukoidan tergolong kompleks dan umumnya heteropolisakarida sehingga klasifikasi fukoidanase cukup sulit. Klasifikasi berdasarkan kemiripan urutan asam amino merupakan alternatif untuk mengetahui urutan asam amino berdasarkan jenis ikatan terhidrolisis. Pengklasifikasian berdasarkan homologinya disebut sebagai *carbohydrate active enzyme* atau CAZy. Menurut CAZy, hidrolase glikosida (GH) dibagi

menjadi 133 famili, dimana setiap famili mengandung peptida yang serupa dalam urutan asam amino dan dalam struktur sekundernya. Metode ini juga digunakan untuk mengklasifikasi peptida dengan sifat yang tidak diketahui. Selain itu, CAZY dilaporkan dapat memprediksi sifat katalitik, molekuler suatu enzim (Gebler *et al.*, 1992), dan geometri ikatan glikosida yang dibelah (Henrissat *et al.*, 1995).

Terdapat beberapa publikasi terkait sifat fisika-kimia fukoidanase yang terhidrolisis dari bakteri laut. Menurut Kusaykin *et al.* (2016) fukoidanase dari bakteri dapat bekerja maksimal pada kondisi pH netral atau basa sedangkan fukoidanase dari jamur dan moluska lebih optimal pada pH asam. Adapun pH yang optimal untuk aktivitas endo-fukoidanase dari *Lambis* sp. (Silchenko *et al.*, 2014b), *Dendryphiella arenaria* TM94 (Wu *et al.*, 2011a) dan *Fusarium* sp. LD8 (Wu *et al.*, 2011b) berkisar antara 4,9-6. Colin *et al.* (2006) juga menambahkan bahwa fukoidanase dari *Fucobacter marina* SA-0082 terhambat aktivitasnya pada suhu 30°C. Suhu 20-25°C dan pH 7,5 merupakan kondisi yang optimal untuk aktivitas fukoidanase dari *M. fucanivora* SW5<sub>T</sub> (Sakai *et al.*, 2003). Selanjutnya fukoidanase dari bakteri laut *Formosa algae* KMM 3553<sup>T</sup> [fukoidanase dari *Alga formosa* (FFA)] menunjukkan aktivitas maksimum pada kisaran pH yang luas yaitu 6,5-9,1, yang juga menjadi ciri khas dari fukoidanases bakteri laut (Silchenko *et al.*, 2013).

Substrat yang spesifikitas untuk menguji aktivitas fukoidanase juga telah dilaporkan oleh Trang *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa endo- $\alpha$ (1,4)-fukoidanase Fhf2 dari *Formosa haliotis* menunjukkan aktivitas yang tinggi hingga rendah pada fukoidan *F. evanescens*, *F. vesiculosus*, *S. mcclurei*, dan *S. polycystum* sedangkan pada fukoidan *Turbinaria ornata* dan *Saccharina latissima* tidak menunjukkan adanya aktivitas fukoidanase. Penelitian oleh Zhu *et al.* (2021) menambahkan bahwa beberapa logam juga dapat mempengaruhi aktivitas endo- $\alpha$ (1-3)-fukoidanase dari *Alteromonas* sp. SN-1009 dengan substrat fukoidan *Kjellmaniella crassifolia*. Hasil penelitiannya mendapatkan bahwa Fe<sup>3+</sup> mampu meningkatkan aktivitas hidrolisis hampir 100%, Mn<sup>2+</sup> meningkatkan aktivitas sebesar 19,5%, sedangkan Co<sup>2+</sup> dan Cu<sup>2+</sup> sepenuhnya menonaktifkan enzim. Adapun logam Ni<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup> dan Li<sup>+</sup> menurunkan aktivitas masing-masing sebesar 58,8%, 56,0%,

50,6%, 47,7%, 28,9%, 15,6% dan 37,5%, sedangkan  $\text{Fe}^{2+}$  tidak menunjukkan pengaruh yang jelas pada aktivitas endo- $\alpha(1-3)$ -fukoidanase. Fukoidanase memiliki exo- dan endo-enzim, exo-fukoidanase memotong monosakarida dari ujung rantai polisakarida sedangkan endo-fukoidanase membelah di tengah polisakarida (Kim *et al.*, 2010).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Oktober 2022, bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

**Tabel 1.** Alat-alat penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Erlenmeyer	Pencampuran larutan dan bahan, serta menyimpan media.
2.	Tabung eppendorf	Sebagai alat atau wadah sentrifugasi
3.	Timbangan digital	Menimbang bahan yang akan digunakan
4.	pH paper	Mengukur pH pada larutan
5.	Gelas ukur	Menakar volume larutan yang digunakan
6.	Autoklaf	Mensterilkan alat dan bahan uji
7.	Spektrofotometer	Mengukur absorbansi uji
8.	Toples kaca 2 l	Perendaman rumput laut
9.	Kertas Whatman	Penyaring hasil maserasi
10.	Evaporator	Mengevaporasi ekstrak
11.	Cawan petri	Tempat kultur bakteri
12.	<i>Freezer</i> (20°C)	Menyimpan sampel
13.	Oven	Mengeringkan ekstrak
14.	Inkubator	Tempat inkubasi isolat bakteri
15.	Kertas cakram	Sebagai alat uji zona bening
16.	<i>Shaker</i>	Menghomogenkan larutan
17.	Mikropipet	Memindahkan larutan
18.	Vortex	Menghomogenkan larutan
19.	Laminar air flow	Tempat persiapan inokulasi isolat

**Tabel 1. (Lanjutan)**

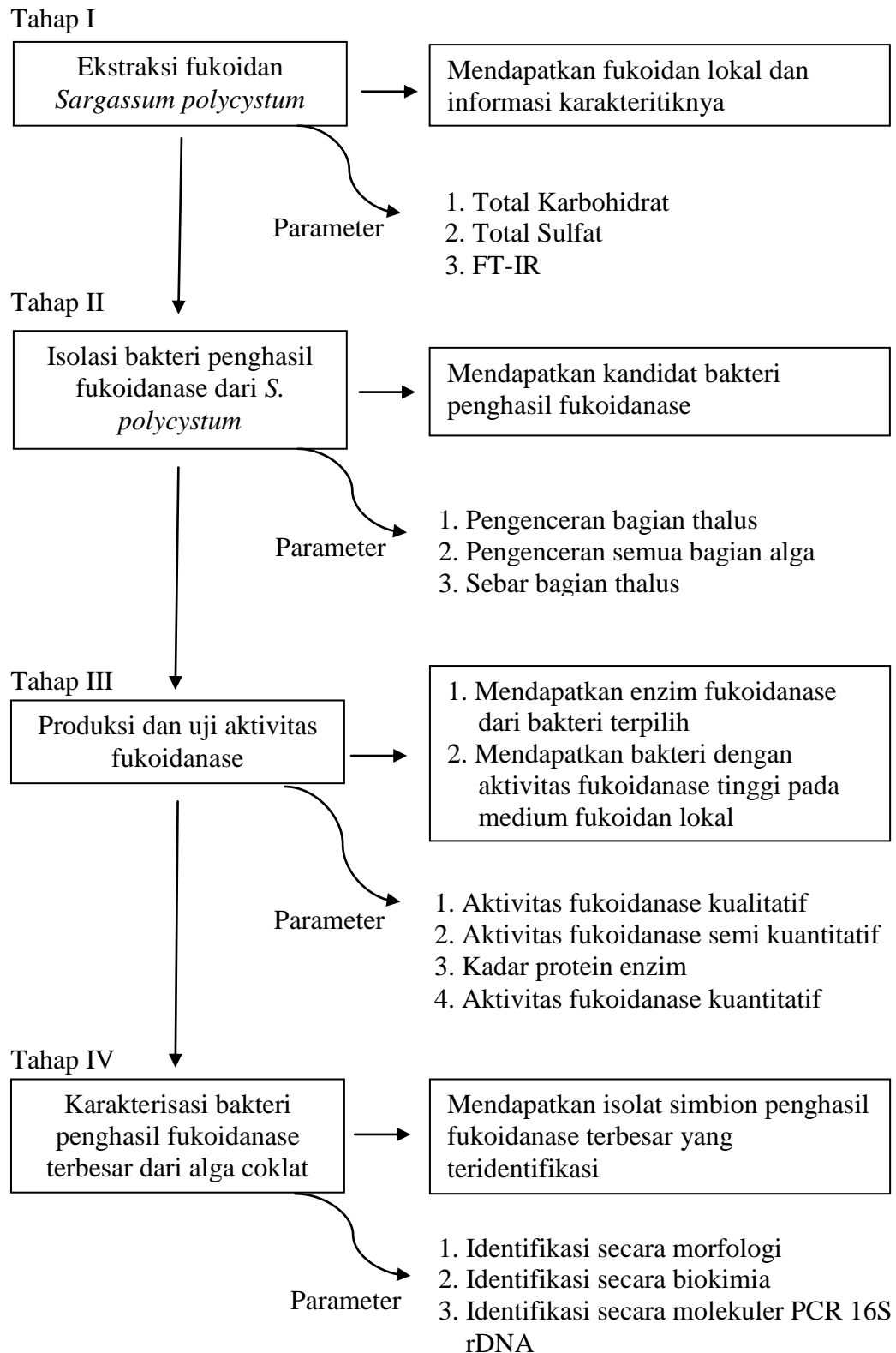
No.	Alat	Kegunaan
19.	Corong kaca	Membantu proses pencampuran bahan
20.	Blue tip	Mengambil sampel larutan dengan volume sampai 1 ml
21.	Yellow tip	Mengambil sampel larutan dengan volume sampai 200 $\mu$ l
22.	Kaca preparat	Sebagai alat uji Gram bakteri

**Tabel 2.** Bahan-bahan penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Alga coklat	Menghasilkan fukoidan dan bakteri simbion.
2.	HCl 0,1 N dan 0,2 N	Bahan maserasi
3.	CaCl <sub>2</sub>	Bahan ekstraksi fukoidan alga coklat
4.	Ethanol 96%	Bahan proses depigmentasi
5.	Media <i>nutrient agar</i> (NA)	Menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri
6.	Media <i>nutrient broth</i> (NB)	Menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri
7.	KOH 3%	Bahan uji Gram bakteri
8.	Akuades	Melarutkan pelarut bahan-bahan kimia
9.	DNS	Bahan uji aktivitas fukoidanase
10.	NaOH 2%	Bahan pereaksi DNS
11.	Fenol	Bahan pereaksi DNS
12.	Na bisulfit	Bahan pereaksi DNS
13.	K-Na tartrat	Bahan pereaksi DNS
14.	Setil piridinium klorida 10%	Bahan uji aktivitas fukoidanase kualitatif dan semi kuantitatif
15.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	Bahan uji katalase bakteri
16.	Air laut	Melarutkan media dan bahan-bahan kimia
17.	Dedak gandum	Bahan produksi fukoidanase
18.	Glukosa	Bahan produksi fukoidanase
19.	NaNO <sub>3</sub>	Bahan produksi fukoidanase
20.	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Bahan produksi fukoidanase
21.	NaCl	Bahan produksi fukoidanase
22.	Fukosa	Standar gula pereduksi
23.	Buffer Sitrat 0,1 M pH 6	Bahan uji aktivitas fukoidanase kuantitatif

### 3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu ekstraksi fukoidan *S. polycystum*, isolasi bakteri, produksi dan uji aktivitas fukoidanase, dan karakterisasi bakteri penghasil fukoidanase terbesar secara morfologi, biokimia, dan molekuler 16S rDNA (Gambar 3).



Gambar 3. Diagram alir penelitian.

### 3.3.1 Koleksi *Sargassum polycystum*

Sampel alga coklat *S. polycystum* didapatkan dari perairan Lampung yaitu Pantai Sebalang, Kecamatan Katibung, Kabupaten Lampung Selatan pada Juni 2022. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam plastik kemudian disimpan sementara dalam *coolbox* dan dibawa ke laboratorium Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung untuk dikeringkan sebagai sampel ekstraksi.

### 3.3.2 Ekstraksi Fukoidan

Ekstraksi fukoidan dilakukan dengan menggunakan metode asam (Setyawan *et al.*, 2018). *S. polycystum* yang sudah dikeringkan dan digiling, ditimbang sebanyak 50 gram untuk dimaserasi dalam 0,1 N HCl Merck (1:10 m/v) selama 24 jam. Ekstrak kemudian disaring dengan kain blacu untuk memisahkan filtrat dan endapan. Endapan sebelumnya dimaserasi kembali menggunakan 0,2 N HCl Merck (1:10 m/v) selama 24 jam dan kemudian disaring untuk mengambil filtratnya. Dua ekstrak tersebut selanjutnya digabungkan dan disaring menggunakan kertas Whatman nomer 40. Ekstrak lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporation* (IKA RV 10, Germany) pada suhu 60<sup>0</sup> C (IKA HB 10, Germany) untuk mendapatkan 100 ml volume hasil akhir ekstraksi. Ekstrak dipresipitasi dengan etanol 96% dingin dan disimpan dalam lemari es selama 2 jam. Selanjutnya ekstrak disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Endapan dilarutkan dalam akuades pada pH 2 dengan tambahan kalsium klorida (CaCl<sub>2</sub> Merck) pada konsentrasi akhir 2 M dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang (30°C). Ekstrak lalu disentrifugasi kembali selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Supernatan diambil untuk kemudian diendapkan dengan etanol 96% dingin selama 24 jam. Sentrifugasi kembali dilakukan dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit untuk diambil endapannya yang merupakan fukoidan (Lampiran 2-4).

### 3.3.3 Karakterisasi Fukoidan *S. polycystum*

#### 3.3.3.1 Total Karbohidrat

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g lalu dihidrolisis dengan 5 ml HCl 2,5 N, kemudian dipanaskan selama 2,5 jam pada *waterbath* suhu 80°C. Sampel selanjutnya

diencerkan dengan akuades hingga volume akhir 250 ml pada labu ukur. Sampel disaring dengan kertas Whatman (diameter 13 mm dan pori 0,45  $\mu$ m) dan diambil 0,5 ml. Sampel kemudian ditambahkan akuades hingga sampai volume akhir 10 ml, selanjutnya dikomplekskan sesuai larutan baku glukosa dengan penambahan fenol 5% sebanyak 1 ml dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebanyak 5 ml. Larutan baku glukosa dan sampel diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm.

### **3.3.3.2 Analisa Kandungan Sulfat**

Sampel ditimbang sebanyak 1 g dan ditambahkan akuades 25 ml, kemudian di-*shaker* selama 30 menit pada kecepatan 180 rpm. Sampel disaring dan dianalisis menggunakan metode sesuai aturan SNI 06-6989.20-2004.

### **3.3.3.3 Analisa *fourier transformed infra red* (FT-IR)**

Analisis spektrofotometer *fourier transform infrared* (FT-IR) dilakukan untuk menentukan gugus fungsinya dengan menggunakan FT-IR Spectroscopy, kemudian direkam oleh spektrum infra merah pada rentang bilangan gelombang 4.000-500 cm<sup>-1</sup> (Sinurat, 2011).

### **3.3.4 Isolasi Bakteri Simbion Penghasil Fukoidanase**

Metode isolasi bakteri simbion pada alga coklat dilakukan dengan metode sebar (*spread plate method*) mengikuti penelitian Subaryono (2019). Sebanyak 10 g rumput laut coklat segar dicincang dan diambil 1 g, kemudian dimasukkan pada tabung reaksi yang telah terdapat 9 ml air laut steril dengan demikian diperoleh pengenceran pertama (10<sup>-1</sup>). Pengenceran pertama lalu dihomogenkan dengan vortex dan diambil 1 ml dengan pipet steril lalu dimasukkan pada tabung reaksi berisi 9 ml air laut steril dan diperoleh pengenceran 10<sup>-2</sup>. Proses pengenceran terus dilakukan sampai pengenceran 10<sup>-3</sup>. Hasil pengenceran tersebut kemudian diambil 100  $\mu$ l untuk selanjutnya disebar dan diratakan pada cawan petri berisi media NA dengan *rod spreader* steril. Media selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Bakteri yang tumbuh kemudian dipurifikasi dengan metode gores kuadran. Koloni bakteri diambil dengan jarum ose dan dipisahkan berdasarkan



perbedaan warna dan bentuk koloni pada media NA dalam cawan petri baru. Isolat murni yang didapatkan selanjutnya disimpan pada media agar miring.

Isolasi bakteri simbion *S. polycystum* juga dilakukan dengan metode gores (*streak plate method*) mengikuti penelitian (Kumar *et al.*, 2016). Sebanyak 10 g rumput laut segar dibersihkan terlebih dahulu dengan air laut steril. Diambil bagian thalus dan kemudian dibelah menjadi dua bagian dengan pisau steril. Thalus tersebut lalu ditanam kedalam media NA dengan cara menempelkan bagian yang dibelah dengan sedikit ditekan. Sampel kemudian diinkubasi pada inkubator selama 48 jam suhu 36°C. Koloni bakteri yang tumbuh diisolasi dan dipurifikasi.

### **3.3.5 Uji Aktivitas Fukoidanase Secara Kualitatif dan Semi Kuantitatif**

Penentuan aktivitas fukoidanase secara kualitatif dan semi kuantitatif dilakukan metode *cetyl pyridinium chloride* (CPC) mengikuti penelitian Sawant *et al.* (2015) dan Subaryono (2019) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 100 µl biakan bakteri simbion yang telah diinkubasi selama 24 jam ditetaskan dan diratakan dengan menggunakan *rod spreader* pada cawan petri berisi media NA dengan tambahan fukoidan 1 mg/ml dan dibiarkan selama 1 jam agar bakteri dapat berdifusi ke dalam media. Kertas cakram (diameter 6 mm) selanjutnya diletakkan di atas permukaan agar dan kemudian ditetesi dengan larutan setil piridinium klorida (C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>ClN)10%. Media NA lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36<sup>0</sup> C. Isolat simbion yang positif akan menunjukkan aktivitas fukoidanase dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram.

Isolat positif kemudian dilakukan uji aktivitas fukoidanase secara semi kuantitatif sebanyak 3 kali ulangan dengan metode yang sama seperti kualitatif. Isolat bakteri dikultur pada media NA yang mengandung fukoidan 1 mg/ml dan ditetesi dengan larutan C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>ClN 10%. Media kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36<sup>0</sup> C. Setelah masa inkubasi selanjutnya dilihat zona bening di sekitar kertas cakram. Indeks aktivitas fukoidanase dihitung dengan persamaan berikut mengikuti penelitian Subaryono (2019):

$$\text{Indeks Aktivitas} = \frac{(\phi \text{ zona bening} - \phi \text{ koloni bakteri})}{\phi \text{ koloni bakteri}} \times 100\%$$

### 3.3.6 Pembuatan Kurva Standar Fukosa

Pembuatan kurva standar fukosa dilakukan dengan membuat larutan stok 1000 ppm terlebih dahulu mengikuti penelitian Manivasagan dan Oh (2015). Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan menimbang 0,1 g fukosa kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquades sampai tanda batas. Larutan ini selanjutnya digunakan untuk membuat deret larutan standar fukosa dengan variasi konsentrasi sebesar 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Masing-masing larutan dengan variasi konsentrasi kemudian diambil 1 ml dan ditambahkan 1 ml pereaksi DNS (*3,5-dinitrosalicylic acid*). Campuran dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi pada air mendidih suhu 100°C selama 7 menit. Larutan kemudian didinginkan pada suhu ruangan dan selanjutnya ditambahkan 3 ml aquades. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan absorpsi dibaca pada panjang gelombang 540 nm dalam spektrofotometer UV-vis. Absorpsi yang diperoleh diolah dengan menggunakan Microsoft Excel dengan nilai absorpsi sebagai sumbu x dan nilai konsentrasi sebagai sumbu y sehingga diperoleh persamaan reaksi dan regresinya.

### 3.3.7 Produksi Enzim Fukoidanase Ekstrak Kasar

Beberapa isolat dengan indeks aktivitas fukoidanase terbesar akan dipilih untuk produksi fukoidanase ekstrak kasar mengikuti penelitian Manivasagan dan Oh (2015) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 1 ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam 10 ml media NB dan kemudian diinkubasi pada inkubator suhu 36<sup>0</sup> C selama 24 jam. Hasil kultur sebanyak 5 ml kemudian diinokulasikan ke media spesifik yang terdiri dari 5 g dedak gandum, 1 g bubuk *S. polycystum*, 0,5 g glukosa, 0,05 g NaNO<sub>3</sub>, 0,05 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1 g NaCl, dan air laut dengan volume akhir 100 ml yang telah steril. Inkubasi kemudian dilakukan terhadap bakteri dan media spesifik pada *shaker* kecepatan 150 rpm dengan suhu 28°C selama 4 hari. Produksi enzim dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 5 ml kultur dan kemudian

dimasukkan ke tabung falcon untuk disentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Pemanenan dilakukan pada interval waktu yang berbeda yaitu jam ke-24, 48, 72, dan 96. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak enzim kasar yang akan diukur aktivitas enzim dan kadar proteinnya.

### 3.3.8 Uji Aktivitas Fukoidanase secara Kuantitatif

Filtrat ekstrak enzim kasar dilakukan uji aktivitas fukoidanase dengan metode DNS (*3,5-dinitrosalicylic acid*) (Manivasagan dan Oh, 2015). Pengukuran aktivitas fukoidanase dilakukan dengan mengukur kadar gula reduksi dengan menyiapkan 3 kelompok tabung reaksi yang terdiri dari sampel, kontrol dan blanko. Tabung sampel terdiri dari 0,9 ml larutan campuran (fukoidan *S. polycystum* 1% dan buffer sitrat 0,1 M pH 6) ditambah dengan 0,1 ml filtrat enzim lalu diinkubasi pada suhu 50°C selama 10 menit. Reaksi kemudian dihentikan dengan penambahan pereaksi DNS sebanyak 1 ml. Pereaksi DNS dibuat berdasarkan penelitian Subaryono (2019) (Lampiran 5). Tabung sampel kemudian dipanaskan dalam air mendidih suhu 100°C selama 7 menit. Setelah sampel didinginkan pada suhu ruang kemudian ditambahkan 3 ml akuades.

Adapun tabung kontrol diisi dengan 0,9 ml larutan campuran (fukoidan *S. polycystum* 1% dan buffer sitrat 0,1 M pH 6) ditambah dengan 0,1 ml filtrat enzim tanpa inkubasi. Tabung kontrol kemudian langsung dipanaskan dalam air mendidih suhu 100°C selama 7 menit. Selanjutnya didinginkan pada suhu ruang lalu ditambahkan 3 ml akuades. Blanko yang digunakan terdiri dari 1 ml larutan fukoidan 1% dan 1 ml DNS yang dipanaskan terlebih dahulu dalam air mendidih suhu 100°C selama 7 menit. Blanko yang telah dingin kemudian ditambahkan 3 ml akuades. Masing-masing tabung uji tersebut dilakukan 3 kali ulangan dan kemudian absorbansinya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm untuk mengetahui kadar gula yang tereduksi. Satu unit enzim dinyatakan sebagai jumlah enzim yang melepaskan 1  $\mu\text{mol}$  gula pereduksi per menit. Perhitungan aktivitas ekstrak enzim kasar fukoidanase dihitung dengan persamaan berikut (Murtiyaningsih dan Hazmi, 2017):

$$\text{Aktivitas Fukoidanase (U/ml)} = \frac{\text{Konsentrasi produk} \times \text{FP} \times 10}{\text{waktu inkubasi} \times \text{BM fukosa}}$$

Keterangan :

FP : faktor pengenceran

BM fukosa : berat molekul fukosa

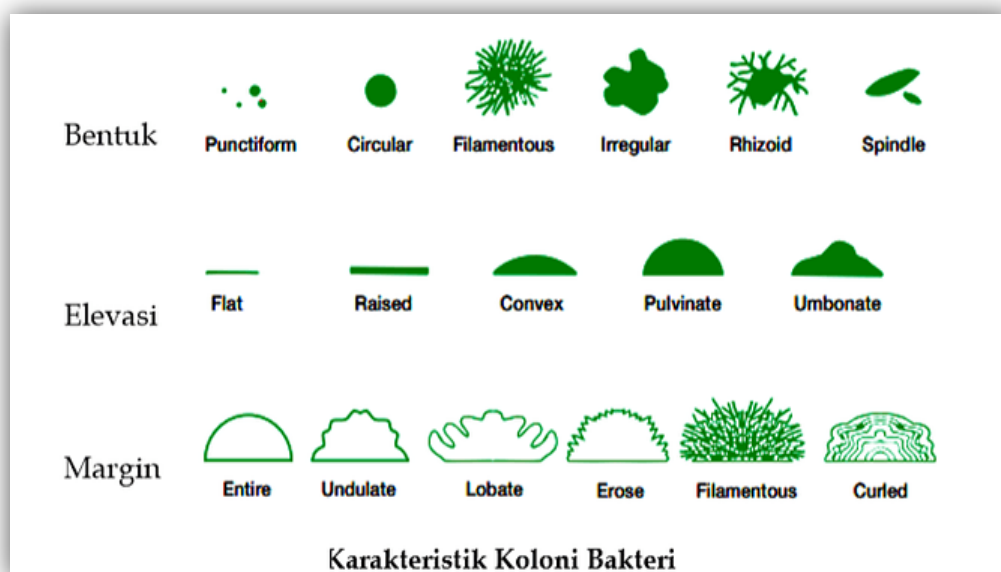
### 3.3.9 Penentuan Kadar Protein Total

Pengukuran kadar protein terlarut pada supernatan ekstrak enzim kasar dilakukan dengan metode Bradford (Subaryono, 2019). Pembuatan kurva standar untuk pengukuran protein terlarut yaitu dengan membuat beberapa konsentrasi BSA (*bovine serum albumin*) yaitu 20, 40, 60, 80, 100 ppm. Masing-masing konsentrasi kemudian diambil 1 ml dan ditambahkan reagent Bradford sebanyak 10 ml. Larutan kemudian di vortex agar homogeny dan selanjutnya didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-vis dengan panjang gelombang 595 nm dengan masing-masing konsentrasi dilakukan 3 kali ulangan. Hasil absorbansi diplotkan dengan microsoft excel untuk mendapatkan persamaan dengan sumbu x yaitu nilai absorbansi dan sumbu y yaitu konsentrasi BSA. Pengukuran protein terlarut dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak enzim kasar dan 1 ml Bradford, kemudian divortex dan dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang yang sama dengan pengukuran standar BSA. Hasil absorbansi dimasukkan dalam persamaan pada kurva standar BSA.

### 3.3.10 Identifikasi Bakteri Simbion Penghasil Fukoidanase

#### 3.3.10.1 Identifikasi Morfologi

Isolat bakteri simbion yang menunjukkan zona hambat yang besar pada uji aktivitas secara kuantitatif selanjutnya dikarakteristisasi secara morfologi mengikuti penelitian (Riana *et al.*, 2021). Karakterisasi koloni bakteri secara morfologi yang diamati meliputi warna, bentuk, elevasi, dan tepian koloni bakteri (Gambar 4).



Gambar 4. Karakteristik koloni bakteri (Afriani, 2021).

### 3.5.5.2 Identifikasi Biokimia

Adapun identifikasi secara biokimia yang dilakukan yaitu meliputi uji Gram, uji katalase, dan uji oksidatif/fermentatif mengikuti penelitian (Riana *et al.*, 2021).

#### a. Uji Gram

Uji Gram bertujuan untuk mengetahui bakteri tersebut termasuk ke dalam kelompok Gram positif atau Gram negatif. Uji ini dilakukan dengan cara mencampurkan isolat bakteri sebanyak 1 ose kemudian ditambahkan larutan KOH 3% sebanyak 1 tetes pada kaca preparat steril. Suspensi selanjutnya diaduk selama satu menit dan kemudian loop ditarik dengan lembut. Isolat bakteri tergolong ke dalam bakteri Gram negatif jika terdapat lendir (reaksi positif) dan termasuk kategori bakteri Gram positif jika tidak terdapat lendir (reaksi negatif) (Hardiansyah *et al.*, 2020).

#### b. Uji O/F (Oksidatif/Fermentatif)

Uji oksidatif/fermentatif (O/F) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sifat oksidasi atau fermentasi suatu bakteri pada glukosa. Metode identifikasi pada uji ini yaitu dengan menyiapkan dua tabung rekasi yang telah terdapat media O/F, kemudian salah satu media tersebut diberi parafin cair sedangkan yang lain tidak. Parafin cair yang dimasukkan pada media berfungsi sebagai pembanding untuk

mengkonfirmasi apakah bakteri tersebut mampu melakukan respirasi tanpa menggunakan oksigen bebas (respirasi anaerob). Hasil pada uji ini akan menunjukkan isolat bakteri bersifat fermentatif jika kedua tabung berwarna kuning, namun apabila media yang tidak diberi parafin saja yang berubah menjadi warna kuning artinya bakteri tersebut bersifat oksidatif dan tergolong *no reaction* (NR) apabila kedua tabung tetap berwarna hijau (Arfiandi dan Tumbol, 2020; Fani *et al.*, 2022).

#### c. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada bakteri. Uji ini dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri penghasil fukoidanase lalu dioleskan pada kaca preparat steril. Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% kemudian diteteskan di atas isolat bakteri tersebut dan selanjutnya suspensi diaduk terus menerus selama satu menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung O<sub>2</sub> setelah ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dan sebaliknya (Falakh dan Asri, 2022).

#### 3.5.5.3 Identifikasi Molekuler 16S rDNA

Identifikasi ini dilakukan dengan uji sekuensing gen dan analisis filogenetik berdasarkan pada penelitian Sakai *et al.* (2004). Identifikasi secara molekuler dilakukan dengan uji *sequencing* 16S rDNA. Ekstraksi DNA menggunakan *DNA purification kit* terhadap isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam. Primer yang digunakan amplifikasi 16S rDNA adalah fragment 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCT-CAG-3') dan 1492r (5'-GGCTACCTTGTTACGACTT-3'). Pemilihan kedua jenis primer ini karena merupakan primer umum yang sering digunakan untuk identifikasi bakteri penghasil fukoidanase, sehingga peluang memiliki kecocokan dengan pita DNA berbagai jenis bakteri yang diuji cukup besar. *Sequence* 16S rDNA kemudian dibandingkan dengan *multiple sequence* data pada *GenBank database* dengan BLAST algorithm dan program CLUSTAL W. dan kemudian dibuat pohon filogenetik yang diperoleh dari program tersebut.

### 3.3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara kuantitatif dan deskriptif. Hasil uji aktivitas fukoidanase secara semi kuantitatif dan kuantitatif ditabulasi dan dianalisis secara numerik pada program Microsoft Excel dan *one-way analysis of variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) menggunakan perangkat lunak SPSS v26.0. Pengujian selanjutnya dilakukan dengan menggunakan uji Duncan bila terdapat perbedaan yang signifikan antar isolat. Adapun data-data penelitian berupa hasil isolasi bakteri simbion, hasil uji aktivitas fukoidanase secara kualitatif, identifikasi bakteri secara morfologi, biokimia, dan molekuler dengan PCR 16S rDNA dianalisis secara deskriptif.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa diperoleh 4 isolat bakteri simbi-  
on dari *S. polycystum* yang memiliki aktivitas fukoidanase terbesar yaitu isolat  
GSD, PTF, PSA, dan GSB. Nilai indeks aktivitas fukoidanase yang didapatkan  
secara berturut-turut yaitu isolat GSD ( $10,66 \pm 2,26$ ), isolat PTF ( $8,69 \pm 0,36$ ), i-  
solat PSA ( $8,23 \pm 2,64$ ), dan isolat GSB ( $7,92 \pm 0,11$ ). Aktivitas fukoidanase seca-  
ra spesifik juga menunjukkan bahwa isolat GSD pada waktu produksi fukoidanase  
48 dan 72 jam memiliki aktivitas paling besar dibandingkan 3 isolat lainnya yaitu  
sebesar 0,0072 U/mg dan 0,0083 U/mg. Identifikasi secara morfologi, biokimia,  
dan molekuler dengan PCR 16S rDNA didapatkan bahwa ketiga isolat dengan ak-  
tivitas fukoidanase terbesar yaitu bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD), *Bacillus ce-  
reus* (PTF), dan *Brevibacterium sediminis* (PSA) dengan kemiripan 99%.

### 5.2 Saran

Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk dapat memproduksi fukoidanase dalam  
jumlah yang besar seperti perlunya optimasi kultur sel bakteri untuk meningkat-  
kan aktivitas fukoidanase. Selain itu pengaruh lingkungan lainnya seperti pH,  
suhu, dan lama masa inkubasi juga perlu dilakukan agar produksi fukoidanase dari  
3 isolat tersebut dapat lebih maksimal.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, R. E., Su, P., Puri, M., Raston, C. L., dan Zhang, W. 2019. Optimisation of biorefinery production of alginate, fucoidan and laminarin from brown seaweed *Durvillaea potatorum*. *Algal Research*. 38:1-12.
- Ale, M. T., Maruyama, H., Tamauchi, H., Mikkelsen, J. D., dan Meyer, A. S. 2011a. Fucoidan from *Sargassum* sp. and *Fucus vesiculosus* reduces cell viability of lung carcinoma and melanoma cells in vitro and activates natural killer cells in mice in vivo. *International Journal of Biological Macromolecules*. 49(3):331-336.
- Ale, M. T., Mikkelsen, J. D., dan Meyer, A. S. 2011b. Important determinants for fucoidan bioactivity: a critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine Drugs*. (9):2106-2130.
- Amaranggan, L. dan Wathoni, N. 2017. Manfaat alga merah (rhodopyta) sebagai sumber obat dari bahan alam. *Majalah Farmatika*. 2(1):16-19.
- Apriyanthi, D. P. R. V., Ayu, S. L. W., dan Widayanti, N. P. 2022. Identification of contaminant bacteria on Tri Datu Bracelet. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*. 7(2):24-33.
- Arfiandi. dan Tumbol, R. A. 2020. Isolation and identification of pathogenic bacteria in tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in Dimembe District, North Minahasa Regency in 2019. *Budidaya Perairan*. 8(1):19-26.
- Asih, T., Khayuridlo, M., Noor, R., dan Muhfaroyin. 2019. Biodiversity and potential use of macro algae in Pesisir Barat Lampung. *Biosaintifika: Journal of Biology and Biology Education*. 11(1):100-107.
- Atashrazm, F., Lowenthal, R. M., Woods, G. M., Holloway, A. F., dan Dickinson, J. L. 2015. Fucoidan and cancer: A multifunctional molecule with antitumor potential. *Marine Drugs*. 13(4):2327-2346.
- Bhaktinegara, R. A., Suprihadi, A., dan Raharjo, B. 2015. Biodegradation of hydrocarbons by *Bacillus cereus* (VIC) strain in the different salinity

- conditions. *Jurnal Biologi*. 4(3):62-71.
- Cahyani, P., Wijanarka., dan Raharjo, B. 2017. Aktivitas spesifik selulase *Serratia marcescens* dengan variasi konsentrasi amonium sulfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) dan pH. *Jurnal Biologi*. 6(2):41-49.
- Cokrowati, N., Prasedya, E. S., Ilhami, B. T. K., Hariadi, H., Jumat, M., Jayusri, Waang, D, C, S., Haqiqi, N., dan Qoriasmadillah, W. 2022. Introduksi teknologi budidaya *Sargassum* sp. di Gerupuk Kabupaten Lombok Tengah. *Jurnal Pengabdian Magister Pendidikan IPA*. 5(4):343-348.
- Colin, S., Deniaud, E., Jam, M., Descamps, V., Chevlot, Y., Kervarec, N.; Yvin, J. C., Barbeyron, T., Michel, G., dan Kloareg, B. 2006. Cloning and biochemical characterization of the fucanase FcnA: Definition of a novel glycoside hydrolase family specific for sulfated fucans. *Glycobiology*. 16:1021-1032.
- Cui, K., Tai, W., Shan, X., Hao, J., Li, G., dan Yu, G. 2018. Structural characterization and anti-thrombotic properties of fucoidan from *Nemacystus decipiens*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 120:1817-1822.
- Cumashi, A., Ushakova, N. A., Preobrazhenskaya, M. E., D'Incecco, A., Piccoli, A., Totani, L., Tinari, N., Morozovich, G. E., Berman, A. E., Bilan, M. I., Usov, A. I., Ustyuzhanina, N. E., Grachev, A. A., Sanderson, C. J., Kelly, M., Rabinovich, G. A., Iacobelli, S., dan Nifantiev, N. E. 2007. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*. 17(5):541-552.
- Chang, Y., Xue, C., Tang, Q., Li, D., Wu, X., dan Wang, J. 2010. Isolation and characterization of a sea cucumber fucoidan-utilizing marine bacterium. *Letters in Applied Microbiology*. 50(3):301-307.
- Chen, B. J., Shi, M. J., Cui, S., Hao, S. X., Hider, R. C., dan Zhou, T. 2016a. Improved antioxidant and anti-tyrosinase activity of polysaccharide from *Sargassum fusiforme* by degradation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 92:715-722.
- Chen, P., Zhang, L., Wang, J., Ruan, J., Han, X., dan Huang, Y. 2016b. *Brevibacterium sediminis* sp. nov., isolated from deep-sea sediments from the Carlsberg and Southwest Indian Ridges. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66:5268-5274.
- Chen, Q., Kou, L., Wang, F., dan Wang, Y. 2019. Size-dependent whitening activity of enzyme-degraded fucoidan from *Laminaria japonica*. *Carbohydrate Polymers*. 225:1-7.

- Chen, B. R., Li, W. M., Li, T. L., Chan, Y. L., dan Wu, C. J. 2022. Fucoidan from *Sargassum hemiphyllum* inhibits infection and inflammation of *Helicobacter pylori*. *Scientific Reports*. 12:429.
- Chizhov, A. O., Dell, A., Morris, H. R., Haslam, S. M., McDowell, R. A., Shashkov, A. S., Nifant'ev, N. E., Khatuntseva, E. A., dan Usov, A. I. 1999. A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carbohydrate Research*. 320(1-2):108-119.
- Choi, J. I. dan Kim, H. J. 2013. Preparation of low molecular weight fucoidan by gamma-irradiation and its anticancer activity. *Carbohydrate Polymers*. 97(2):358-362.
- Domili, R. S. 2018. Identifikasi fucoidan dalam alga coklat (*Sargassum polycystum*) sebagai pangan fungsional dalam mendukung ketahanan pangan Indonesia. dalam: *Prosiding Konferensi Tahunan Keadilan Sosial*. hlm 165-170.
- Ekelhof, A. dan Melkonian, M. 2016. Microalgal cultivation in porous substrate bioreactor for extracellular polysaccharide production. *Journal of Applied Phycology*. 29(3):1115-1122.
- Falakh, M. F. dan Asri, M. T. 2022. Uji potensi isolat bakteri asam laktat dari nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*. 11(3):514-524.
- Fan, M. Z., An, X. L., Cui, X. H., Jiang, X. L., Piao, X. C., Jin, M. Y., dan Lian, M. L. 2021. Production of eurycomanone and polysaccharides through adventitious root culture of *Eurycoma longifolia* in a bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*. 171.
- Fani, E. F., Rahmawati., dan Kurniatuhadi, R. 2022. Identification and detection of proteolytic activity of endophyte bacterial isolated from *Avicennia marina* leaves in mempawah mangrove center. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*. 11(2):293-299.
- Fauziee, N. F. M., Chang, L. S., Mustapha, W. A. W., Nor, A. R. D., dan Lim, S. J. 2021. Functional polysaccharides of fucoidan, laminaran and alginate from Malaysian brown seaweeds (*Sargassum polycystum*, *Turbinaria ornata* and *Padina boryana*). *International Journal of Biological Macromolecules*. 167:1135-1145.
- Finanda, A., Mukarlina., dan Rahmawati. 2021. Isolasi dan karakterisasi genus bakteri asam laktat dari fermentasi daging buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Protobiont*. 10(2):37-41.

- Fitton, J., Stringer, D., dan Karpinić, S. 2015. Therapies from fucoidan: an update. *Marine Drugs*. 13:5920-5946.
- Fletcher, H. R., Biller, P., Ross, A. B., dan Adams, J. M. M. 2017. The seasonal variation of fucoidan within three species of brown macroalgae. *Algal Research*. 22:79-86.
- García-Ríos, V., Ríos-Leal, E., Robledo, D., dan Freile-Pelegrin, Y. 2012. Polysaccharides composition from tropical brown seaweeds. *Phycological Research*. 60:305-315.
- Gebler, J., Gilkes, N., Claeysens, M., Wilson, D., Beguin, P., Wakarchuk, W., Kilburn, D., Miller, R., Warren, R., dan Withers, S. 1992. Stereoselective hydrolysis catalyzed by related beta-1,4-glucanases and beta-1,4-xylanases. *Journal of Biological Chemistry*. 267:12559-12561.
- Ginting, E. L., Rangian, L., Wantania, L. L., dan Wullur, S. 2019. Isolation of symbiotic bacteria with red algae from Tongkaina waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah Platax*. 7(2):394-400.
- Guo, X., Ye, X., Sun, Y., Wu, D., Wu, N., Hu, Y., dan Chen, S. 2014. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucoidan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62:1088-1095.
- Han, Y. S., Lee, J. H., dan Lee, S. H. 2015. Antitumor effects of fucoidan on human colon cancer cells via activation of akt signaling. *Biomolecules and Therapeutics*. 23:225-232.
- Handayani, T. 2017. The potency of macroalgae in the reef flat of Lampung Bay. *Oceanologi dan Limnologi di Indonesia*. 2(1):55-67.
- Hardiansyah, M. Y., Musa, Y., dan Jaya, A. M. 2020. Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bambu duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1):41-46.
- Henrissat, B., Callebaut, I., Fabrega, S., Lehn, P., Mornon, J., dan Davies, G. 1995. Conserved catalytic machinery and the prediction of a common fold for several families of glycosyl hydrolases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 92:7090-7094.
- Hifney, A. F., Fawzy, M. A., Abdel-Gawad, K. M., dan Gomaa, M. 2018. Upgrading the antioxidant properties of fucoidan and alginate from *Cystoseira trinodis* by fungal fermentation or enzymatic pretreatment of the seaweed biomass. *Food Chemistry*. 269:387-395.

- Hulpa, W. L., Cokrowati, N., dan Dinarti, N. 2021. Pertumbuhan rumput laut *Sargassum* sp. yang dibudidayakan pada kedalaman berbeda di Teluk Ekas Lombok Timur. *Jurnal Kelautan*. 14(2):185-191.
- Indriani, H. dan Sumiarsih, E. 1991. *Rumput Laut*. Penebar Swadaya, Jakarta. 99 hlm.
- Karlsson, A. dan Singh, S. K. 1999. Acid hydrolysis of sulphated polysaccharides. Desulphation and the effect on molecular mass. *Carbohydrate Polymers*. 38:7-15.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2019. Review - Senyawa Polifenol pada Alga Cokelat dan Karakteristik Farmasinya. <https://kkp.go.id/brsdm/poltekkarawang/artikel/14996-review-senyawa-polifenol-pada-alga-cokelat-dan-karakteristik-farmasinya>. Diakses 2 Februari 2022.
- Kim, W. J., Koo, Y. K., Jung, M. K., Moon, H. R., Kim, S. M., Synytsya, A., Yun-Choi, H. S., Kim, Y. S., Park, J. K., dan Park, Y. 2010. Anticoagulating activities of low-molecular weight fucooligosaccharides prepared by enzymatic digestion of fucoidan from the sporophyll of Korean *Undaria pinnatifida*. *Archives of Pharmacal Research*. 33:125-131.
- Kim, W. J., Park, J. W., Park, J. K., Choi, D. J., dan Park, Y. I. 2015a. Purification and characterization of a fucoidanase (FNase S) from a marine bacterium *Sphingomonas paucimobilis* PF-1. *Marine Drugs*. 13(7):4398-4417.
- Kim, B. S., Kang, H.-J., Park, J.-Y., dan Lee, J. 2015b. Fucoidan promotes osteoblast differentiation via JNK- and ERK-dependent BMP2-Smad 1/5/8 signaling in human mesenchymal stem cells. *Experimental & Molecular Medicine*. 47(1).
- Kumar, A., Singh, R., Yadav, A., Giri, D. D., Singh, P. K., dan Pandey, K. D. 2016. Isolation and characterization of bacterial endophytes of *Curcuma longa* L. *3 Biotech*. 6(1):1-8.
- Kurnia, K., Sadi, N. H., dan Jumianto, S. 2015. Isolation and characterization of Pb resistant bacteria from Cilalaya Lake, Indonesia. *Aceh International Journal of Science & Technology*. 4(3):83-87.
- Kusaykin, M. I., Silchenko, A. S., Zakharenko, A. M., dan Zvyagintseva, T. N. 2016. Fucoidanases. *Glycobiology*. 26(1):3-12.
- Kusuma, S. A. F., Untung, M. K. A., dan Meika, J. 2016. Penelusuran antibakteri ekso-simbion bakteri laut pada makroalga terhadap biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Farmaka*. 14(1):1-19.

- Lahrsen, E., Liewert, I., dan Alban, S. 2018a. Gradual degradation of fucoidan from *Fucus vesiculosus* and its effect on structure, antioxidant and anti-proliferative activities. *Carbohydrate Polymers*. 192:208-216.
- Lahrsen, E., Schoenfeld, A. K., dan Alban, S. 2018b. Size-dependent pharmacological activities of differently degraded fucoidan fractions from *Fucus vesiculosus*. *Carbohydrate Polymers*. 189:162-168.
- Lambessy, S. Y., Setyowati, D. N., Mukhlis, A., Lestari, D. P., dan Azhar, F. 2020. Komposisi nutrisi dan kandungan pigmen fotosintesis tiga spesies alga merah (*Rhodophyta* sp.) hasil budidaya. *Journal of Marine Research*. 9(4):431-438.
- Leibo, R., Mantiri, D. M. H., dan Gerung, G. S. 2016. Antioxidant activity test of total extract of *Halimeda opuntia* Linnaeus and *Halimeda macroloba* decaisne from Totok Bay Waters. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2(1):30-36.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., dan Zhao, R. 2008. Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*. 13:1671-1695.
- Lim, S. J., Aida, W. M. W., Maskat, M. Y., Latip, J., Badri, K. H., Hassan, O., dan Yamin, B. M. 2016. Characterisation of fucoidan extracted from Malaysian *Sargassum binderi*. *Food Chemistry*. 209:267-273.
- Lin, H. T. V., Tsou, Y. C., Chen, Y. T., Lu, W. J., dan Hwang, P. A. 2017. Effects of low-molecular-weight fucoidan and high stability fucoxanthin on glucose homeostasis, lipid metabolism, and liver function in a mouse model of type II diabetes. *Marine Drugs*. 15(4):1-14.
- Lin, Y., Qi, X., Liu, H., Xue, K., Xu, S., dan Tian, Z. 2020. The anti-cancer effects of fucoidan: a review of both in vivo and in vitro investigations. *Cancer Cell International*. 20:1-14.
- Manivasagan, P. dan Oh, J. 2015. Production of a novel fucoidanase for the green synthesis of gold nanoparticles by *Streptomyces* sp. and its cytotoxic effect on hela cell. *Marine Drugs*. 13:6818-6837.
- Mappanganro, R., Paly, M. B., Kiramang, K., dan Nurhidayat, R. 2018. Pengaruh Pemberian Alga Coklat (*Sargassum* sp.) Terhadap penambahan berat badan sapi bali jantan. *Jurnal Ilmu Dan Industri Peternakan*. 4(2):139-148.
- Marinval, N., Saboural, P., Haddad, O., Maire, M., Bassand, K., Geinguenaud, F., Djaker, N., Akrouit, K. B., Chapelle, M. L, Robert, R., Oudar, O., Guyot, G., Morizot, C. L., Sutton, A., Chauvierre, C., Chaubet, F., Charnaux, N., dan Hlawaty, H. 2016. Identification of a proangiogenic potential and

cellular uptake mechanism of a LMW highly sulfated fraction of fucoidan from *Ascophyllum nodosum*. *Marine Drugs*. 14(10):1-21.

- Marudhupandi, T., Ajith, K. T. T., Senthil, S. L., dan Devi, K. N. 2014. In vitro antioxidant properties of fucoidan fractions from *Sargassum tenerrimum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*.17(3):402-407.
- Ma'ruf, W. F., Ibrahim, R., Dewi, E. N., Susanto, E., dan Amalia, U. 2013. Profil rumput laut *Caulerpa racemosa* dan *Gracilaria verrucosa* sebagai edible food. *Jurnal Saintek Perikanan*. 9(1):68-74.
- Morimoto, M., Takatori, M., Hayashi, T., Mori, D., Takashima, O., Yoshida, S., Sato, K., Kawamoto, H., Tamura, J., Izawa, H., Ifuku, S., dan Saimoto, H. 2014. Depolymerization of sulfated polysaccharides under hydrothermal conditions. *Carbohydrate Research*. 384:56-60.
- Murtiyaningsih, H. dan Hazmi, M. 2017. Isolation and cellulase enzyme activities assays in cellulolytic bacteria origin from soil waste. *Agritrop*. 15(2):293-308.
- McDowell, P. E. 1990. *Methods in Plant Biochemistry*. 1st ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsever. hlm 523-547.
- Nagao, T., Arai, Y., Yamaoka, M., Komatsu, F., Yagi, H., Suzuki, H., dan Ohshiro, T. 2018. Identification and characterization of the fucoidanase gene from *Luteolibacter algae* H18. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 126(5):567-572.
- Narayani, S. S., Saravan, S., Ravindran, J., Ramasamy, M. S., dan Chitra, J. 2019. In vitro anticancer activity of fucoidan extracted from *Sargassum cinereum* against Caco-2 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*. 138:618-628.
- Nazir, M. I., Sahu, N. P., Pal, A. K., dan Makesh, M. 2017. Synergistic effect of l-methionine and fucoidan rich extract in eliciting growth and non-specific immune response of *Labeo rohita* fingerlings against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*. 479:396-403.
- Nurhidayati, L., Fitriani, Y., Abdillah, S., Mumpuni, E., dan Rafi, M. 2020. Physicochemical properties and antioxidant activities of crude fucoidan extracted from *Sargassum cinereum*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 18(1):68-74.
- Nurseha, A., Niken, D., Zachro, N. S., Salampessy, R. B. S., Siregar, A. N., Permadi, A., Sipahutar, Y., dan Hidayat, T. T. 2018. Antibacterial potential of brown algae (*Sargassum polycystum*) bacterial symbiont from coastal area

in Banten Bay, Serang Municipality, Banten of Indonesia. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 12(84):282-287.

- Ode, I. dan Wasahua, J. 2014. Jenis-jenis alga coklat potensial di perairan Pantai Desa Hutumuri Pulau Ambon. *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*. 7(2):39-45.
- Oliveira, C., Granja, S., Neves, N. M., Reis, R. L., Baltazar, F., Silva, T. H., dan Martins, A. 2019. Fucoidan from *Fucus vesiculosus* inhibits new blood vessel formation and breast tumor growth in vivo. *Carbohydrate Polymers*. 223:1-10.
- Park, H. Y., Han, M. H., Park, C., Jin, C.-Y., Kim, G.-Y., Choi, I.-W., dan Choi, Y. H. 2011. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF- $\kappa$ B, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. *Food and Chemical Toxicology*. 49(8):1745-1752.
- Patel, S. dan Gupta, R. S. 2020. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 70:406-438.
- Pereira, J., Portron, S., Dizier, B., Vinatier, C., Masson, M., Sourice, S., dan Hellely, D. 2014. The in vitro and in vivo effects of a low-molecular-weight fucoidan on the osteogenic capacity of human adipose-derived stromal cells. *Tissue Engineering*. 20(2):275-284.
- Purbomartono, C., Isnansetyo, A., Murwantoko., dan Triyanto. 2019. dietary fucoidan from *Padina boergesenii* to enhance non-specific immune of catfish (*Clarias* sp.). *Journal of Biological Sciences*. 19:173-180.
- Puspantari, W., Kusnandar, F., Lioe, H. N., dan Laily, N. 2020. Penghambatan fraksi fukoidan rumput laut coklat (*Sargassum polycystum* dan *Turbina-ria conoides*) terhadap  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(1):122-136.
- Prasetya, I. K. D., Suhendra, L., dan Putra, G. P. G. 2020. Karakteristik ekstrak alga coklat pada perlakuan ukuran partikel dan lama ekstraksi alga coklat (*Sargassum polycystum*) sebagai antibakteri. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 8(1):49.
- Rahma, F. W., Mahasri, G., dan Surmartiwi, L. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan pelarut metanol pada pakan terhadap jumlah eritrosit dan differensial leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7(2):213-218.



- Rahman, M. U., Naser, I. B., Mahmud, N. U., Sarker, A., Hoque, M. N., dan Islam, T. 2022. A highly salt-tolerant bacterium *Brevibacterium sediminis* promotes the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Stresses*. 2:275-289.
- Rahmayanti, S., Massinai, A., dan Mashoreng, S. 2019. Density of seaweed bacterial symbion (*Eucheuma spinosum*) from Puntondo Waters, Takalar Regency, South Sulawesi. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan VI*. 309-314.
- Ramos-de-la-Pena, A. M., Contreras-Esquivel, J. C., Aguilar, O., Gozales-Valdez, J. 2022. Structural and bioactive roles of fucoidan in nanogel delivery systems. A review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 45.
- Rasin, A. B., Silchenko, A. S., Kusaykin, M. I., Malyarenko, O. S., Zueva, A. O., Kalinovsky, A. I., Airong, J., Surits, V. V., dan Ermakova, S. P. 2020. Enzymatic transformation and anti-tumor activity of *Sargassum horneri* fucoidan. *Jurnal Pre-proof*. 246.
- Rau, C. H., Yudistira, A., dan Simbala, H. E. I. 2018. Isolasi, identifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S rDNA, dan uji aktivitas antibakteri bakteri simbiosis endofit yang diisolasi dari alga *Halimeda opuntia*. *Pharmacology*. 7(1):53-61.
- Riana, H., Supono., dan Setyawan, A. 2021. Molecular identification and local isolate bacterial activity test as biocontrol candidates to tackle *Vibrio* spp infections at vannamei shrimp cultivation (*Litopenaeus vannamei*) in East Lampung. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 9(2):1131-1142.
- Rioux, L. E., Turgeon, S. L., dan Beaulieu, M. 2009. Effect of season on the composition of bioactive polysaccharides from the brown seaweed *Saccharina longicuris*. *Phytochemistry*. 70:1069-1075.
- Rodríguez-Jasso, R. M., Mussatto, S. I., Pastrana, L., Aguilar, C. N., dan Teixeira, J. A. 2010. Fucoidan-degrading fungal strains: screening, morphometric evaluation, and influence of medium composition. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 62(8):2177-2188.
- Sakai, T., Kimura, H., dan Kato, I. 2002. A marine strain of flavobacteriaceae utilizes brown seaweed fucoidan. *Marine Biotechnology*. 4:399-405.
- Sakai, T., Kimura, H., dan Kato, I. 2003. Purification of sulfated fucoglucuronomannan lyase from bacterial strain of *Fucobacter marina* and study of appropriate conditions for its enzyme digestion. *Marine Biotechnology*. 5:380-387.

- Sakai, T., Kawai, T., dan Kato, I. 2004. Isolation and characterization of a fucoidan-degrading marine bacterial strain and its fucoidanase. *Marine Biotechnology*. 6(4):335-46.
- Satyarsa, A. B. S. 2019. Potential of fucoidan from Brown seaweeds (*Sargassum* sp.) as innovation therapy on breast cancer. *Journal of Medicine and Health*. 2(3):909-919.
- Sawant, S. S., Salunke, B. K., dan Kim, B. S. 2015. A rapid, sensitive, simple plate assay for detection of microbial alginate lyase activity. *Enzyme and Microbial Technology*. 77:8-13.
- Sedayu, B. B., Erawan, I. M. S., dan Assadad, L. 2014. Liquid fertilizer from *Eucheuma cottonii*, *Sargassum* sp. and *Gracilaria* sp. using composting process. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi*. 9(1):61-68.
- Senthilkumar, K., Manivasagan, P., Venkatesan, J., dan Kim, S. K. 2013. Brown seaweed fucoidan: Biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. *International Journal of Biological Macromolecules*. 60:366-374.
- Setyawan, A., Isnansetyo, A., Murwantoko., Indarjulianto, S., dan Handayani, C. R. 2018. Comparative immune response of dietary fucoidan from three Indonesian brown algae in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation - International Journal of the Bioflux Society*. 11(6):1707-1723.
- Setiyowati, D., Aryono, B., Zainuddin, M., Puspita, M., dan Andrean, A. R. 2022. Pemanfaatan *Sargassum* sp. secara enzimatik dalam pakan terhadap konsumsi pakan, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan nila salin (*Oreochromis* sp.). *Journal of Marine Research*. 11(3):521-528.
- Silchenko, A. S., Kusaykin, M. I., Kurilenko, V. V., Zakharenko, A. M., Isakov, V. V., Zaporozhets, T. S., Gazha, A. K., dan Zvyagintseva, T. N. 2013. Hydrolysis of fucoidan by fucoidanase isolated from the marine bacterium, *Formosa algae*. *Marine Drugs*. 11(7):2413-2430.
- Silchenko, A. S., Kusaykin, M. I., Zakharenko, A. M., Menshova, R. V., Khanh, H. H. N., Dmitrenok, P. S., dan Zvyagintseva, T. N. 2014a. Endo-1,4-fucoidanase from Vietnamese marine mollusk *Lambis* sp. which producing sulphated fucooligosaccharides. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 102:154-160.
- Silchenko, A. S., Kusaykin, M. I., Zakharenko, M., Menshova, R. V., Khanh, H. H. N., Dmitrenok, P. S., Isakov, V. V., Zvyagintseva. 2014b. Purification

and the secondary structure of fucoidanase from *Fusarium* sp. LD8. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 102:154-160.

- Silchenko, A. S., Rasin, A. B., Kusaykin, M. I., Malyarenko, O. S., Shevchenko, N. M., Zueva, A. O., Kalinovsky, A. I., Zvyagintseva, T. N., dan Ermakova, S. P. 2018. Modification of native fucoidan from *Fucus evanescens* by recombinant fucoidanase from marine bacteria *Formosa algae*. *Carbohydrate Polymers*. 193:189-195.
- Sinurat, E. 2011. Isolasi dan Karakterisasi serta Uji Aktivitas Fukoidan sebagai Anti Koagulan dari Rumput Laut Coklat (*Sargassum crassifolium*). *Tesis*. Universitas Indonesia. 95 hlm.
- Sinurat, E., Peranginangin, R., dan Saepudin, E. 2011. Ekstraksi dan uji aktivitas fukoidan dari rumput laut cokelat (*Sargassum crassifolium*) sebagai anti-koagulan. *Jurnal Pascapenen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 6(2):131-138.
- Sinurat, E., Saepudin, E., Peranginangin, R., dan Hudiyono, S. 2016. Immunostimulatory activity of brown seaweed-derived fucoidans at different molecular weights and purity levels towards white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 6(10):82-91.
- Sinurat, E. dan Kusumawati, R. 2017. Optimasi metode ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi* Sonder. *Jurnal Pascapenen Kelautan dan Perikanan*. 12(2):125-134.
- Sinurat, E. dan Maulida, N. 2018. Effect of fucoidan hydrolysis on its activity as an antioxidant. *Jurnal Pascapenen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 13(2):123-130.
- Sivagnanavelmurugan, M., Thaddaeus, B. J., Palavesam, A., dan Immanuel, G. 2014. Dietary effect of *Sargassum wightii* fucoidan to enhance growth, prophenoloxidase gene expression of *Penaeus monodon* and immune resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. 39(2):439-449.
- Sivagnanavelmurugan, M., Karthik R. G., Jude T. B., Palavesam, A., dan Immanuel, G. 2015. Effect of *Sargassum wightii* fucoidan on growth and disease resistance to *Vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus monodon* post-larvae. *Aquaculture Nutrition*. 21:960-969.
- Subagio, dan Kasim, M. S. H. 2019. Identifikasi rumput laut (seaweed) di perairan Pantai Cemara, Jerowaru Lombok Timur sebagai bahan informasi keanekaragaman hayati bagi masyarakat. *Jurnal Ilmu Sosial dan Pendidikan*. 3(1):308-321.

- Subaryono., Peranginangin, R., Suhartono, M. T., dan Zakaria, F. R. 2015. Isolation and identification bacteria producing alginate lyase derived from seaweed *Sargassum crassifolium*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 10(1):1-9.
- Subaryono. 2019. Produksi enzimatik oligosakarida alginat (OSA) dari rumput laut *Sargassum crassifolium* dan aktivitas imunomodulatornya. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor. 91 hlm.
- Sugiono. 2015. Isolasi dan karakterisasi fukoidan dari alga coklat *Sargassum* sp. *Agrosains*. 2(1):96-107.
- Shi, D., Qi, J., Zhang, H., Yang, H., Yang, Y., dan Zhao, X. 2019. Comparison of hydrothermal depolymerization and oligosaccharide profile of fucoidan and fucosylated chondroitin sulfate from *Holothuria floridana*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 132:738-747.
- Skriptsova, A. V., Shevchenko, N. M., Zvyagintseva, T. N., dan Imbs, T. I. 2009. Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta). *Journal of Applied Phycology*. 22:79-86.
- Tuller, J., De-Santis, C., dan Jerry, D. R. 2012. Dietary influence of fucoidan supplementation on growth of *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture Research*. 45(4):749-754.
- Thanassi, N. M. dan Nakada, H. I. 1967. Enzymatic degradation of fucoidan by enzymes from the hepatopancreas of abalone *Haliotis* species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 118:172-177.
- Tran, V. H. N., Nguyen, T. T., Meier, S., Holck, J., Cao, H. T. T., Van, T. T. T., Mayer, A. S., dan Mikkelsen, M. D. 2022. The endo- $\alpha$ (1,3)-fucoidanase Mef2 releases uniquely branched oligosaccharides from *Saccharina latisima* fucoidans. *Marine Drugs*. 20(5):1-22.
- Trang, V. T. D., Mikkelsen, M. D., Vuillemin, M., Meier, S., Cao, H. T. T., Muschiol, J., Perna, V., Nguyen, T. T., Tran, V. H. N., Holck, J., Van, T. T. T., Khanh, H. H. N., dan Meyer, A. S. 2022. The endo- $\alpha$ (1,4) specific fucoidanase fhf2 from *Formosa haliotis* releases highly sulfated fucoidan oligosaccharides. *Frontier in Plant Science*. 13.
- Urvantseva, A, Bakunina, I., Nedashkovskaya, O., Kim, S., dan Zvyagintseva, T. 2006. Distribution of intracellular fucoidan hydrolases among marine bacteria of the family Flavobacteriaceae. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 42:484-491.

- Villaral-Gomez, L. J. Soria-Marcado, I. E., Guerra-Rivas, G., dan Ayala-Sanchez, E. 2010. Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacteria associated with their surface. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 45(2):267-275.
- Vuillemin, M., Silchenko, A. S., Cao, H. T. T., Kokoulin, M. S., Trang, V. T. D., Holck, J., Ermakova, S. P., Meyer, A. S., dan Mikkelsen, A. D. 2020. Functional characterization of a new GH107 endo- $\alpha$ -(1,4)-fucoidanase from the marine bacterium *Formosa haliotis*. *Marine Drugs*. 18(562).
- Wang, C. Y. dan Chen, Y. C. 2016. Extraction and characterization of fucoidan from six brown macroalgae. *Journal of Marine Science and Technology*. 24(2):319-328.
- Wang, Y., Xing, M., Cao, Q., Ji, A., Liang, H., dan Song, S. 2019. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Marine Drugs*. 17(3):15-17.
- Wang, F., Xiao, Y., Neupane, S., Ptak, S. H., Romer, R., Xiong, J., dan Fuchs, S. 2021. Influence of fucoidan extracts from different fucus species on adult stem cells and molecular mediators in in vitro models for bone formation and vascularization. *Marine Drugs*. 19(4):1-22.
- Widowaty, W. 2018. Aktivitas antibakteri ekstrak kasar *Sargassum* sp. dari Pantai Sayang Heulang, Garut-Jawa Barat. *Agrosience*. 8(2):268-274.
- Widyastuti, S. 2009. Kadar alginat rumput laut yang tumbuh di perairan Lombok yang diekstrak dengan dua metode ekstraksi. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 10(3):144-152.
- Wu, Q. Q., Zhang, M., Wu, K., Liu, B., Cai, J., dan Pan, R. 2011a. Purification and characteristics of fucoidanase obtained from *Dendryphiella arenaria* TM94. *Journal of Applied Phycology*. 23(2):197-203.
- Wu, Q. Q., Ma, S., Xiao, H. R., Zhang, M., dan Cai, J. M. 2011b. Purification and the secondary structure of fucoidanase from *Fusarium* sp. LD8. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011:1-8.
- Wu, N., Ye, X., Guo, X., Liao, N., Yin, X., Hu, Y., Sun, Y., Liu, D., dan Chen, S. 2013. Depolymerization of fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber, *Pearsonothuria graeffei*, via  $^{60}\text{Co}$  irradiation. *Carbohydrate Polymers*. 93:604-614.
- Xue, M., Ge, Y., Zhang, J., Liu, Y., Wang, Q., dan Hou, L. 2013. Fucoidan inhibited 4T1 mouse breast cancer cell growth in vivo and in vitro via downregulation of WNT /  $\beta$ -catenin signaling fucoidan inhibited 4T1 mouse breast cancer cell growth in vivo and in vitro. *Nutrition and Cancer*. 13:37-41.

- Yip, Z. T., Quek, R. Z. B., Low, J. K. Y., Wilson, B., Bauman, A. G., Chou, L. M., Todd, P. A., dan Huang, D. 2018. Diversity and phylogeny of *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) in Singapore. *Phytotaxa*. 369(3):200-210.
- Young, A. T., Kang, J. H., Kang, D. J., Venkatesan, J., Chang, H. K., Bhatnagar, I., Chang, K. Y., Hwang, J. H., Salameh, Z., Kim, S. K., Kim, H. T., dan Kim, D. G. 2016. Interaction of stem cells with nano hydroxyapatite-fucoidan bionanocomposites for bone tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 93:1488-1491.
- Yuan, Y. dan Macquarrie, D. 2015. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*. 129:101-107.
- Zeisel, S. H. dan Steven H. 2012. A brief history of choline. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 61(3): 254-258.
- Zueva, A. O., Silchenko, A. S., Rasin, A. B., Kusaykin, M. I., Usultreva, R. V., Kalinovskiy, A. I., Kurilenko, V. V., Zvyagintseva, T. N., Thinh, P. D., dan Ermakova, S. P. 2020. Expression and biochemical characterization of two recombinant fucoidanases from the marine bacterium *Wenyngzhuanzia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup>. *International Journal of Biological Macromolecules*. 164:3025-3037.
- Zhang, W., An, E. K., Park, H. B., Hwang, J., Dhananjay, Y., Kim, S. J., Eom, H. Y., Oda, T., Kwak, M., Lee, P. C. W., dan Jin, J. O. 2021. *Ecklonia cava* fucoidan has potential to stimulate natural killer cells in vivo. *International Journal of Biological Macromolecules*. 185:111-121.
- Zhao, X., Guo, F., Hu, J., Zhang, L., Xue, C., Zhang, dan Z., Li, B. 2016. Anti-thrombotic activity of oral administered low molecular weight fucoidan from *Laminaria japonica*. *Thrombosis Research*. 144:46-52.
- Zhao, D., Xu, J., dan Xu, X. 2017. Bioactivity of fucoidan extracted from *Laminaria japonica* using a novel procedure with high yield. *Food Chemistry*. 245:911-918.
- Zhu, C., Liu, Z., Ren, L., Jiao, S., Zhang, X., Wang, Q., Li, Z., Du, Y., dan Li, J. 2021. Overexpression and biochemical characterization of a truncated endo- $\alpha$  (1  $\rightarrow$  3)-fucoidanase from *Alteromonas* sp. SN-1009. *Food Chemistry*. 353.
- Zvyagintseva, T. N., Shevchenko, N. M., Chizhov, A. O., Krupnova, T. N., Sundukova, E. V., dan Isakov, V. V. 2003. Water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. Distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 294:1-13.