

**STUDI OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM
BAKTERI PENGHASIL FUKOIDANASE *Cytobacillus kochii* GSD
DENGAN VARIASI SALINITAS**

SKRIPSI

Oleh

**ALIFIA ADIBILA NURHALISA
NPM. 2114221026**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**STUDI OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM
BAKTERI PENGHASIL FUKOIDANASE *Cytobacillus kochii* GSD
DENGAN VARIASI SALINITAS**

Oleh

ALIFIA ADIBILA NURHALISA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2025**

ABSTRAK

STUDI OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM BAKTERI PENGHASIL FUKOIDANASE *Cytobacillus kochii* GSD DENGAN VARIASI SALINITAS

Oleh

ALIFIA ADIBILA NURHALISA

Fukoidan merupakan polisakarida sulfat yang memiliki berbagai manfaat, namun pemanfaatannya kurang optimal apabila memiliki berat molekul tinggi sehingga diperlukan proses hidrolisis enzimatis menggunakan bakteri penghasil enzim fukoidanase, seperti *Cytobacillus kochii* GSD, untuk menghasilkan fukoidan dengan berat molekul rendah. Pertumbuhan dan aktivitas enzim fukoidanase dari bakteri *C. kochii* GSD dapat ditingkatkan melalui optimasi kondisi kultur, salah satunya dengan variasi salinitas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan salinitas optimal bagi pertumbuhan *C. kochii* GSD serta mengevaluasi aktivitas enzimatisnya. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Produktivitas Perairan dan Laboratorium M, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Optimasi dilakukan pada perlakuan salinitas 3,5 ppt, 5ppt, 17,5 ppt, 30 ppt dan 38,5 ppt dengan mengukur kepadatan bakteri menggunakan metode *total plate count* (TPC) dan turbidimetri dilanjutkan dengan uji aktivitas enzimatis pada salinitas optimal. Uji aktivitas enzimatis meliputi ekstraksi fukoidan, uji FT-IR dan uji aktivitas menggunakan metode CPC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa salinitas 30 ppt memberikan perbedaan nyata terhadap pertumbuhan bakteri dibandingkan variasi salinitas lainnya, dengan kepadatan tertinggi sebesar ($4,84 \times 10^8$) CFU/mL serta fase pertumbuhan yang paling stabil dan konsisten. Aktivitas enzim fukoidanase tertinggi tercatat pada jam ke-72 dengan zona aktivitas sebesar 20,97 mm menjadikan salinitas 30 ppt merupakan kondisi optimal untuk pertumbuhan dan aktivitas enzim fukoidanase secara maksimal.

Kata kunci: Aktivitas Enzim, *Cytobacillus kochii* GSD, Fukoidan, Hidrolisis Enzimatis, Salinitas.

ABSTRACT

STUDY OF THE GROWTH OPTIMIZATION AND ACTIVITY OF THE FUCOIDANASE PRODUCING BACTERIA *Cytobacillus kochii* GSD UNDER VARIATIONS OF SALINITY

By

ALIFIA ADIBILA NURHALISA

Fucoidan is a sulfated polysaccharide, offers a variety of benefits; however, its utilization is less than optimal in cases where it possesses a high molecular weight. To address this, an enzymatic hydrolysis process is necessary, employing fucoidanase-producing bacteria, such as *Cytobacillus kochii* GSD, to produce low-molecular-weight fucoidan. The growth and activity of fucoidanase enzyme from *C. kochii* GSD bacteria can be enhanced through the optimization of culture conditions, including salinity variation. The objective of this study is to ascertain the optimal salinity for the cultivation of *C. kochii* GSD and to assess its enzymatic activity. The research was conducted at the Aquatic Productivity Laboratory and Laboratory M, Department of Fisheries and Marine Sciences, Faculty of Agriculture, University of Lampung. Optimization was carried out on salinity treatments of 3.5 parts per thousand (ppt), 5 ppt, 17.5 ppt, 30 ppt, and 38.5 ppt. Bacterial density was measured using total plate count (TPC) and turbidimetric methods. Enzymatic activity tests were then conducted at optimal salinity. The enzymatic activity test is a multifaceted procedure that encompasses fucoidan extraction, FT-IR testing, and activity assessment employing the CPC method. The findings indicated that a salinity level of 30 ppt resulted in a substantial impact on bacterial proliferation, as compared to variations in salinity. This condition exhibited the highest bacterial density of 4.84×10^8 CFU/mL and demonstrated the most stable and consistent growth phase. The maximum fucoidanase enzyme activity was documented at 72 hours, exhibiting an enzyme activity zone measuring 20.97 millimeters.

Keywords: Enzyme Activity, *Cytobacillus kochii* GSD, Fucoidan, Enzymatic Hydrolysis, Salinity.

Judul skripsi : STUDI OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN
AKTIVITAS ENZIM BAKTERI PENGHASIL
FUKOIDANASE *Cytobacillus kochii* GSD
DENGAN VARIASI SALINITAS

Nama Mahasiswa : **Alifia Adibila Nurhalisa**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2114221026

Program Studi : Ilmu Kelautan

Fakultas : Pertanian




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


Almira Fardani Lahay, S.Pi., M.Si.
NIP. 199110232022032010

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

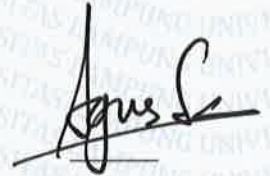

Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

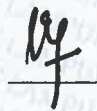
Ketua

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

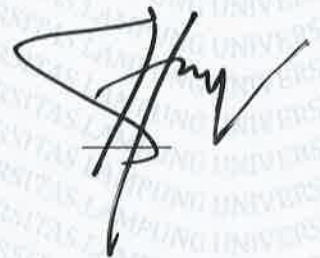


Sekretaris

: Almira Fardani Lahay, S.Pi., M.Si.

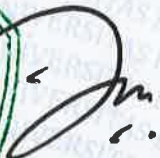


Penguji Bukan Pembimbing : Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T.



2. Dekan Fakultas Pertanian

Dr. Ar. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002



Tanggal lulus ujian skripsi: 5 Mei 2025



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN

Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145 Telp (0721) 704946 Fax (0721) 770347

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi yang berjudul **“Studi Optimasi Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Bakteri Penghasil Fukoidanase *Cytobacillus kochii* GSD dengan Variasi Salinitas”** tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah skripsi ini ditemukan dan terbukti terdapat unsur-unsur fabrikasi, falsifikasi, plagiat dan konflik kepentingan saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (S1) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Bandar Lampung, 16 Juni 2025

Yang membuat pernyataan



Alifia Adibila Nurhalisa
NPM. 2114221026

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kabupaten Karawang, Provinsi Jawa Barat, pada 19 Agustus 2003 sebagai anak dari pasangan Bapak Supriatna dan Ibu Tripadmi Andayani (almh). Penulis menempuh pendidikan formal di Taman Kanak-kanak Kartika Siliwangi 36 Karawang, Jawa Barat, pada tahun 2008-2009. Penulis melanjutkan pendidikan dasar di SDN Karawang Wetan II (2009-2010) dan SDN Nagasari VI (2009-2015), dilanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPN 4 Cikarang Timur pada tahun 2015, kemudian di SMPN 1 Karawang pada tahun 2016-2018 dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Karawang pada tahun 2018-2021.

Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang pendidikan tinggi di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2021. Penulis aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) sebagai anggota pada periode kepengurusan tahun 2023 dan menjadi sekretaris Bidang Pengabdian Masyarakat periode kepengurusan tahun 2024. Penulis pernah mengikuti Program Penguatan Kapasitas Organisasi Kemahasiswaan (PPK ORMAWA) dan mendapatkan pendanaan pada tahun 2024.

Penulis juga aktif sebagai tim publikasi dan dokumentasi media sosial Program Studi Ilmu Kelautan pada tahun 2023-2024. Penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah biologi laut pada tahun 2023, planktonologi laut pada tahun 2023 dan bioteknologi laut pada tahun 2024. Penulis mengikuti kuliah kerja nyata (KKN) di Desa Gedung Pakuon, Kecamatan Baradatu, Kabupaten Way Kanan, Provinsi Lampung. Penulis ikut serta dalam MBKM Riset dan Inovasi untuk Indonesia Maju (RIIM-IV) Badan Riset dan Inovasi Nasional pada 2024.

Untuk keluarga, Bapak Supriatna, Ibu Tripadmi (almh), Ibu Cicih, Kakak Tia,
Mba Nabila, Alitia, Alika, dan Alaika yang selalu kebersamai.

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Tuhan yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “*Studi Optimasi Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Bakteri Penghasil Fukoidanase *Cytobacillus kochii* GSD dengan Variasi Salinitas*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Munti Sarida, S.Pi. M.Sc. Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Dosen Pembimbing Utama.
4. Almira Fardani Lahay, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/Sekretaris.
5. Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T. selaku Penguji Utama.
6. Eko Efendi, S.T., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik.
7. Kedua orang tua, Bapak Supriatna dan Ibu Cicih Komalasari.
8. Tim Riset Inovasi menuju Indonesia maju IV (RIIM-IV), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Tahun 2024.

Bandar Lampung, 2025

Alifia Adibila Nurhalisa

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Manfaat	3
1.4 Kerangka Pikir	3
1.5 Hipotesis Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 <i>Sargassum</i> sp.	7
2.2 Fukoidan	8
2.2.1 Hidrolisis Enzimatik Fukoidan.....	10
2.2.2 Fukoidanase.....	11
2.2.3 Bakteri Penghasil Fukoidan.....	12
2.3 Uji Aktivitas Enzimatik Fukoidanase	14
2.4 Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan Bakteri.....	15
III. METODE PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Tempat.....	16
3.1.1 Waktu Penelitian	16
3.1.2 Tempat Penelitian.....	16
3.2 Bahan dan Alat.....	16
3.2.1 Bahan.....	16
3.2.2 Alat	17
3.3 Rancangan Penelitian.....	18
3.4 Prosedur Penelitian	18
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	19
3.4.2 Pembuatan Salinitas.....	20
3.4.3 Pembuatan Media Kultur Bakteri Fukoidanase.....	20
3.4.4 Rekultur dan Pengenceran Bakteri	21
3.4.5 Optimasi Bakteri Fukoidanase pada Salinitas Perlakuan	22
3.4.6 Perhitungan Pertumbuhan Bakteri Penghasil Fukoidanase.....	23
3.4.7 Uji Aktivitas Enzimatik pada Salinitas Optimal	25
3.5 Analisis Data.....	27

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Optimasi Kondisi Kultur Bakteri dengan Variasi Salinitas	28
4.1.1 Uji Optimasi Pertumbuhan	28
4.1.2 Optimasi Fase Pertumbuhan Bakteri	30
4.2 Karakterisasi Fukoidan <i>Sargassum</i> sp.	33
4.2.1 Rendemen	33
4.2.2 Analisis Gugus Fungsi Fukoidan.....	34
4.3 Uji Aktivitas Fukoidanase pada Salinitas Optimal	37
V. SIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Simpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Bakteri penghasil fukoidanase	13
2. Bahan penelitian.....	16
3. Alat penelitian	17
4. Standar McFarland	24
5. Rendemen fukoidan pada <i>Sargassum</i> sp.....	34
6. Hasil dan standar uji FT-IR fukoidan.....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	5
2. <i>Sargassum</i> sp.....	7
3. Struktur kimia fukoidan	9
4. Morfologi <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	14
5. Prosedur penelitian.....	19
6. Ilustrasi rekultur bakteri	21
7. Alur pengenceran bertingkat.....	22
8. Ilustrasi uji aktivitas fukoidanase.....	26
9. Pertumbuhan bakteri jam ke-24	28
10. Pertumbuhan bakteri jam ke-48	29
11. Perbedaan nyata kepadatan bakteri pada jam ke-48	29
12. Laju pertumbuhan bakteri metode turbidimetri	31
13. Pertumbuhan bakteri <i>C. kochii</i> GSD pada salinitas 30 ppt	32
14. Spektrum <i>fourier transform infrared</i> (FT-IR) dari fukoidan	35
15. Zona aktivitas fukoidanase.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi optimasi pertumbuhan bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	51
2. Proses ekstraksi fukoidan <i>Sargassum</i> sp.....	53
3. Hasil perhitungan statistik (SPSS)	54
4. Perhitungan rendemen fukoidan	57

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Fukoidan merupakan polisakarida kompleks yang menyusun dinding sel alga coklat (*Phaeopyceae*) yang umumnya terdiri dari fukosa, sulfat, meskipun struktur kimianya dapat menjadi lebih kompleks dengan adanya monosakarida lain seperti mannosa, galaktosa, xilosa, asam uronat, gugus asetil, dan protein (Li et al., 2008). Fukoidan diketahui memiliki aktivitas biologis yang beragam, hal tersebut menjadikan fukoidan sebagai bahan penelitian yang menarik terutama dalam bidang kesehatan dan akuakultur (Suresh et al., 2013; Wang et al., 2019; Abdel-Latif et al., 2022). Fukoidan banyak ditemukan pada berbagai spesies alga coklat seperti *Sargassum polycystum*, *Sargassum henslowianum*, *Turbinaria conoides*, *Sargassum siliquosum*, *Sargassum plagiophyllum*, *Sargassum crassifolium*, dan *Acaudina molpadioides* (Hu et al., 2017; Nagappan et al., 2017; Hikariastri et al., 2019; Puspantari et al., 2020; Panjaitan dan Natalia, 2021; Saetan et al., 2021).

Fukoidan dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang, sebagai antikanker, antiinflamasi, antitumor, imunomodulator, dan antikoagulan dalam bidang kesehatan, serta sebagai suplemen pada pakan ikan dalam pembudidayaan dimana Pakan yang mengandung fukoidan dapat membantu pertumbuhan ikan barramundi (*Lates calcarifer*), serta dapat meningkatkan ketahanan penyakit pada udang kaki putih (*Litopenaeus vannamei*) (Tuller et al., 2012; Setyawan et al., 2018; Wang et al., 2019; Abdel-Latif et al., 2022). Fukoidan memiliki berat molekul besar yang seringkali menghambat aktivitas biologisnya, sehingga diperlukan metode untuk memecah molekul fukoidan menjadi ukuran yang lebih rendah agar lebih efektif. Fukoidan dengan berat molekul rendah memiliki keunggulan dalam penyerapan yang lebih baik, aktivitas antitrombotik yang lebih

tinggi, serta potensi bioaktivitas yang lebih kuat (Zhao et al., 2016; Garuba et al., 2020; Liu et al., 2023). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendapatkan fukoidan dengan berat molekul rendah dengan metode hidrolisis enzimatik (Kusaykin et al., 2016).

Hidrolisis enzimatik menggunakan enzim fukoidanase memungkinkan pemecahan fukoidan menjadi oligosakarida yang memiliki berat molekul lebih kecil, baik melalui mekanisme ekso maupun endo (Kusaykin et al., 2016). Enzim fukoidanase dapat ditemukan pada mikroorganisme laut, seperti pada alga laut dan teripang *Acaudina molpadioides* dan juga beberapa spesies bakteri penghasil fukoidanase telah berhasil diidentifikasi, yaitu *Cytobacillus kochii* GSD, *Bacillus cereus* PTF, dan *Brevibacterium sediminis* PSA. Bakteri *C. kochii* GSD memiliki aktivitas enzim fukoidanase tertinggi, sehingga potensial untuk digunakan dalam pemecahan fukoidan lebih lanjut (Kim et al., 2008; Yu et al., 2013; Setyawan et al., 2023). Aktivitas bakteri fukoidanase dapat ditingkatkan dengan kondisi lingkungan yang optimal, seperti pH, suhu, dan salinitas (Darmawan, 2023).

Salinitas merupakan faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan bakteri, termasuk bakteri penghasil fukoidanase. Penelitian mengenai optimasi salinitas telah dilakukan pada bakteri proteolitik dan bakteri asam laktat, yang menunjukkan bahwa variasi salinitas memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan dan produksi metabolitnya. Penelitian yang dilakukan oleh Zainuddin et al., (2022), menyatakan bakteri *Bacillus firmus* menunjukkan bahwa kondisi salinitas dan pH dapat secara signifikan meningkatkan aktivitas protease ekstraseluler bakteri tersebut. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Oktavia et al., (2022) pada bakteri *Bacillus toyonensis* juga mengungkapkan bahwa variasi salinitas dalam media kultur memengaruhi pertumbuhan bakteri proteolitik secara signifikan pada konsentrasi salinitas. Penelitian lainnya juga melaporkan bahwa salinitas yang bervariasi mempengaruhi produksi asam organik pada bakteri asam laktat yang diisolasi dari intestinum udang penaeid (Subagiyo et al., 2015). Penelitian mengenai pengaruh salinitas pada bakteri penghasil fukoidanase bakteri *C. kochii* GSD belum pernah dilakukan, meskipun bakteri menunjukkan aktivitas enzimatik yang tinggi.

Optimasi kondisi kultur diperlukan agar dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *C. kochii* GSD, sehingga dapat lebih efektif menghasilkan fukoidan dengan berat molekul kecil, yang memiliki potensi besar dalam bidang kesehatan dan akuakultur (Darmawan, 2023). Penelitian lebih lanjut terkait variasi salinitas pada *C. kochii* GSD sangat penting untuk menentukan salinitas optimal pertumbuhan bakteri.

1.2 Tujuan

Tujuan dilakukan penelitian yaitu:

1. Menentukan salinitas optimal untuk pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.
2. Menganalisis aktivitas enzimatis bakteri *Cytobacillus kochii* GSD dengan salinitas optimal.

1.3 Manfaat

Manfaat dari penelitian adalah untuk memberi informasi mengenai salinitas optimal bagi pertumbuhan *Cytobacillus kochii* GSD untuk meningkatkan produksi dan aktivitas enzim fukoidanase yang dapat digunakan untuk pemanfaatan dan pengelolaan sumber daya laut berkelanjutan.

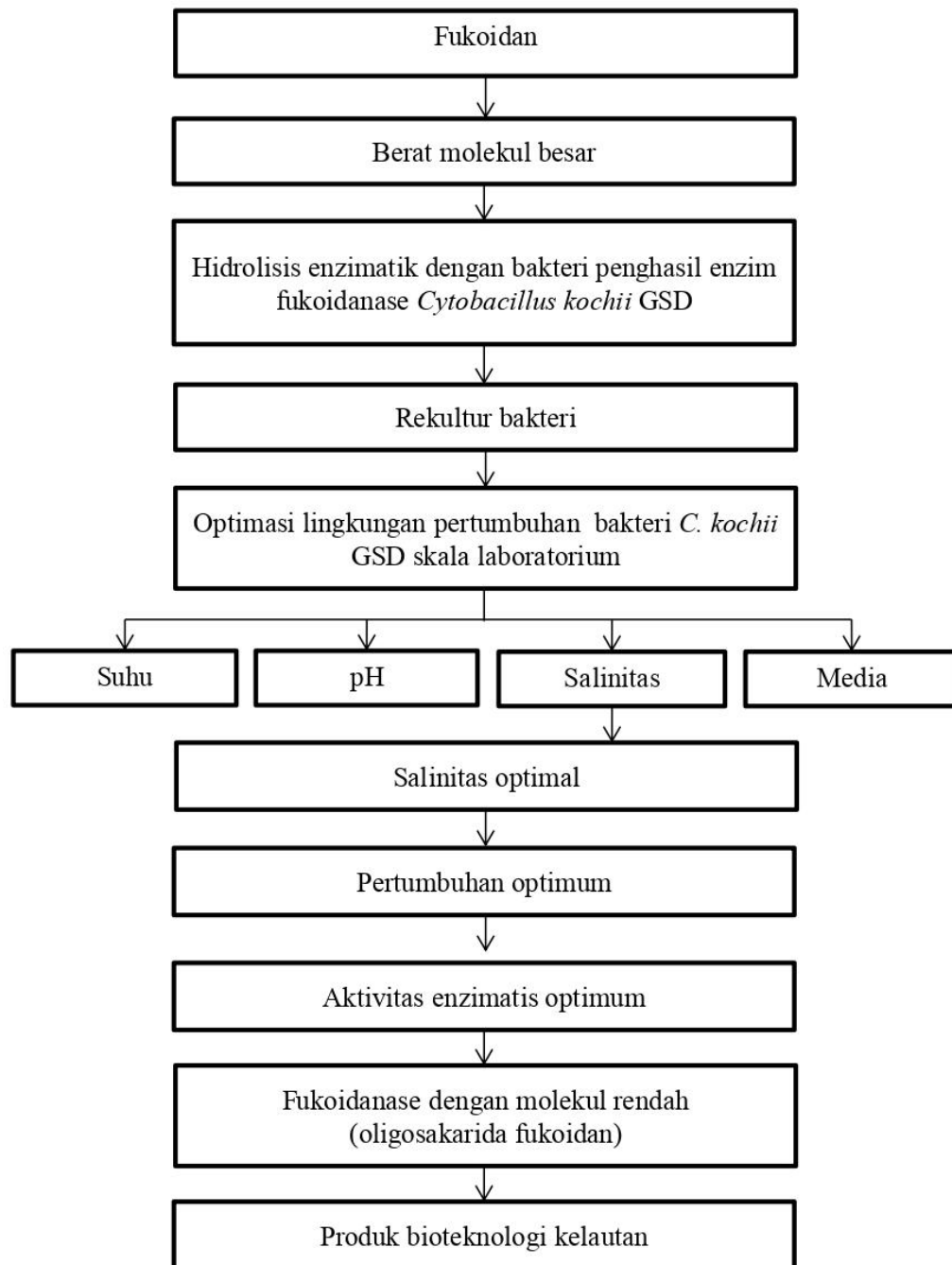
1.4 Kerangka Pikir

Fukoidan merupakan polisakarida sulfat yang menyusun dinding sel alga coklat, salah satunya *Sargassum* sp. Fukoidan yang di ekstraksi dari *Sargassum* sp. umumnya memiliki berat molekul yang besar sehingga menyebabkan fukoidan tidak dapat dimanfaatkan secara optimal. Pemecahan fukoidan diperlukan untuk mendapatkan fukoidan dengan berat molekul rendah yang dapat dilakukan melalui proses hidrolisis enzimatis dengan enzim fukoidanase. Enzim fukoidanase dapat dihasilkan oleh bakteri *Cytobacillus kochii* GSD yang diisolasi dari makroalga *Sargassum polycystum*.

Isolat bakteri *C. kochii* GSD direkultur pada kondisi laboratorium untuk mendapat jumlah bakteri yang cukup. Optimasi salinitas dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan dan aktivitas enzim dari bakteri *C. kochii* GSD karena

salinitas merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Salinitas yang digunakan, yaitu 3,5 ppt, 5 ppt, 17,5 ppt, 30 ppt, dan 38,5 ppt. Faktor media kultur dijaga tetap stabil dengan suhu 37,5 °C, pH 7 dan dengan media sumber karbon optimal berupa sukrosa dan media co substrat tripton. Uji optimasi dilakukan dengan menghitung kepadatan bakteri dengan metode *total plate count* (TPC) dan untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri dilakukan dengan metode perhitungan turbidimetri. Salinitas optimal yang didapatkan dilakukan uji aktivitas enzimatis fukoidanase untuk mengevaluasi aktivitas fukoidanase pada bakteri *C. kochii* GSD.

Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi awal untuk mendapatkan fukoidan dengan berat molekul rendah (fukooligosakarida) yang di hidrolisis dengan hidrolisis enzimatis oleh bakteri penghasil fukoidanase *C. kochii* GSD dan dapat dimanfaatkan di berbagai bidang, seperti pengembangan suplemen pakan berbasis fukoidan. Pemanfaatan potensi *Sargassum* sp. dan *C. kochii* GSD secara optimal juga dapat mendukung pengelolaan sumber daya hayati laut yang berkelanjutan.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

1.5 Hipotesis Penelitian

1. Pertumbuhan bakteri

H_0 ; semua $\tau_i = 0$

Tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan tingkat salinitas terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.

H_1 ; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

Terdapat perbedaan nyata antar perlakuan tingkat salinitas terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.

2. Aktivitas Enzim

H_0 ; semua $\tau_i = 0$

Tidak terdapat perbedaan nyata dalam aktivitas enzim antar waktu pengamatan.

H_1 ; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

Terdapat perbedaan nyata dalam aktivitas enzim antar waktu pengamatan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum* sp.

Sargassum merupakan rumput laut yang masuk ke dalam divisi phaeophyta (alga coklat). Klasifikasi *Sargassum* sp. sebagai berikut (Algaebase, 1998):

Kingdom	: Chromista
Filum	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum</i> sp.

Sargassum sp. memiliki karakteristik morfologi yang unik, dengan warna coklat kekuningan yang disebabkan oleh pigmen-pigmen dominan, seperti pigmen betakaroten, fucoxanthin, klorofil a dan c, serta xantofil lainnya. Struktur tubuh *Sargassum* sp. terbagi atas sebuah *holdfast* yang berfungsi sebagai struktur basal, sebuah *stipe* atau batang semu, dan sebuah *frond* yang berbentuk seperti daun (Gambar 2).



Gambar 2. *Sargassum* sp.
(a) *stipe*; (b) *frond*; (c) *holdfast*
Sumber : (Chen et al., 2025)

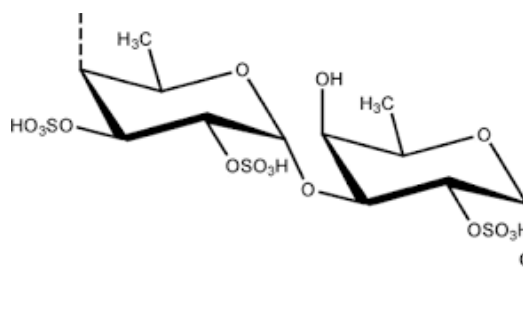
Spesies rumput laut genus *Sargassum* di dunia mencapai 400 jenis dan sekitar 12 spesies diketahui terdapat di Indonesia, yaitu *S. polyceratum*, *S. hystrix*, *S. echinocarpum*, *S. duplicatum*, *S. gracilimum*, *S. microphyllum*, *S. obtusifolium*, *S. aquofillum*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, dan *S. vulgare*. *Sargassum* sp. dapat ditemukan di perairan tropis, subtropis, hingga wilayah beriklim dingin. *Sargassum* sp. dapat tumbuh dan bertahan di berbagai zona, mulai dari zona intertidal hingga daerah berombak dengan suhu 27,25–29,30 °C dan salinitas 32–33,5 ppt (Triastinurmiartiningsih et al., 2011; Fajri et al., 2020). *Sargassum* sp. memiliki peran ekologis dalam ekosistem, yaitu sebagai tempat berlindung, lokasi memijah (*spawning ground*), area mencari makan (*feeding ground*), serta tempat asuhan (*nursery ground*) bagi berbagai biota kecil, termasuk epifauna. *Sargassum* sp. memiliki kandungan bioaktif yang dapat dimanfaatkan di berbagai industri. *Sargassum* sp. tersusun dari komponen utama berupa protein, senyawa bioaktif, mineral, asam guluronat, asam manuronat, selulosa, serta unsur makro dan mikro hara. (Basmal, 2010).

Sargassum sp. mengandung senyawa aktif seperti saponin, steroid, flavonoid, antioksidan, alkaloid, triterpenoid, fenol, dan fukoidan (Pakidi dan Suwoyo, 2017; Gazali et al., 2018; Satyarsa, 2019). Fukoidan merupakan polisakarida penyusun dinding sel *Sargassum* sp. yang dominan ditemukan pada alga coklat (Sinurat & Kusumawati, 2017; Idrus et al., 2019; Panjaitan & Natalia, 2021). Tidak hanya kandungan senyawa aktif, *Sargassum* sp. juga memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi, yaitu protein (11,20%), serat (4,83%), karbohidrat (47,73%), lipid (1,06%), dan polisakarida (21,01%) serta kandungan makro dan mikro elemen seperti natrium, besi, kalium, dan magnesium (Peng et al., 2013; Idrus et al., 2019).

2.2 Fukoidan

Fukoidan merupakan polisakarida sulfat yang bersifat bioaktif, dengan komponen utama berupa L-fukosa dan sulfat yang terkandung dalam alga cokelat (Utami et al., 2023; Hikariastri et al., 2019). Fukoidan terdapat pada dinding sel dan bagian intraseluler alga cokelat (Sinurat & Kusumawati, 2017). Fukoidan pertama kali ditemukan oleh seorang peneliti asal Swedia pada tahun 1913 dari

hasil ekstraksi alga cokelat seperti *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata*, dan *Laminaria saccharina*. Sejak saat itu, ekstraksi fukoidan telah dilakukan dari berbagai spesies alga cokelat, termasuk *Sargassum polycystum*, *Sargassum henslowianum*, *Sargassum plagiophyllum*, *Sargassum silquosum*, *Turbinaria conoides*, *Sargassum crassifolium*, *Acaudina molpadioides* (Hu et al., 2017; Nagappan et al., 2017; Hikariastri et al., 2019; Puspantari et al., 2020; Panjaitan & Natalia, 2021; Saetan et al., 2021). Fukoidan juga diketahui dapat diekstrak dari teripang *Holothuria polii* dan *Isostichopus badionotus* (Guo et al., 2014; Mansour et al., 2019). Fukoidan memiliki struktur kimia yang disusun oleh fukosa yang terhubung oleh ikatan glikosidik $\alpha(1,2)$, $\alpha(1,3)$, dan atau $\alpha(1,4)$, serta gugus sulfat (Gambar 3) (Puspantari et al., 2020). Fukoidan juga tersusun dari monosakarida seperti fruktosa, galaktosa, xilosa, rhamnosa dan asam uronat (Liu et al., 2023).



Gambar 3. Struktur kimia fukoidan
Sumber: (Jeon et al., 2011)

Fukoidan memiliki berbagai sifat biofungsional seperti antikanker, anti-diabetes, antioksidan, antibakteri, antivirus, antikoagulan, imunomodulator, anti-trombotik, antitumor, dan antiinflamasi (Fernando et al., 2018; Gazali et al., 2018; Puspantari et al., 2020; Saetan et al., 2021; Junaidi, 2022; Maharani et al., 2022). Sifat biofungsional fukoidan ditentukan oleh strukturnya yang terdiri atas berat molekul, komposisi monosakarida, derajat dan substitusi gugus sulfat yang dimana hal tersebut dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan metode ekstraksi (Fernando et al., 2020). Pemberian fukoidan pada pakan diketahui dapat meningkatkan pertumbuhan pada ikan barramundi (*Lates calcarifer*). Ikan barramundi yang tidak diberikan fukoidan, fukoidan 0,5%, fukoidan 1% memiliki rata-rata pertumbuhan

panjang $256,8 \pm 3,5$ mm, $256,5 \pm 3,1$ mm dan $270,5 \pm 1,9$ mm dengan rata-rata berat 208.4 ± 8.1 g/kg, 223 ± 6.0 g/kg, 239.7 ± 6.8 g/kg (Tuller et al., 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Setyawan et al., (2018), fukoidan dapat meningkatkan ketahanan penyakit pada udang putih pasifik (*Litopenaeus vannamei*) ditandai dengan adanya peningkatan total hemosit, peningkatan aktifitas fagositosis dan peningkatan *superoxide dismutase* (SOD) sebesar 360–410%. Meskipun memiliki berbagai manfaat biologis, penerapan fukoidan masih terbatas dikarenakan berat molekul fukoidan yang tinggi, komposisi kimia yang kompleks, serta masalah kelarutan dan penyerapannya (Liu et al., 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Junaidi (2022), menyatakan bahwa fukoidan yang diekstraksi dari *Sargassum* sp. yang di ekstraksi dengan air memiliki berat molekul 57,77 kDa dan 2,71 kDa, sedangkan fukoidan yang diekstraksi dengan HCl sebagian besar memiliki berat molekul 46,43 kDa dan 3,38 kDa. Molekul fukoidan yang besar, tidak efektif jika digunakan secara langsung sebagai obat ataupun bentuk pemanfaatan lainnya, sehingga diperlukan pemecahan molekul fukoidan. Pemecahan fukoidan dengan enzim, khususnya enzim fukoidanase yang dapat memecah ikatan fukoidan menjadi fukoidan dengan berat molekul rendah (Kusaykin et al., 2016).

2.2.1 Hidrolisis Enzimatis Fukoidan

Fukoidan dapat dipecah menggunakan berbagai pendekatan, baik secara fisik, kimia, maupun biologi. Pemecahan molekul fukoidan secara fisik dapat dilakukan dengan iradiasi sinar gamma tanpa menghilangkan gugus sulfat (Choi & Kim, 2013). Metode hidrolisis asam dan degradasi fotokatalitik menggunakan $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2$ dan sinar xenon merupakan pemecahan molekul fukoidan secara kimia yang mampu memecah fukoidan dengan efisiensi tinggi, meskipun berisiko merusak struktur aktif (Qi et al., 2022; Sugimoto et al., 2024). Pemecahan fukoidan secara biologi, dapat dilakukan dengan menggunakan enzim fukoidanase dari bakteri laut telah banyak diteliti karena spesifisitasnya terhadap ikatan glikosidik tertentu (Barzkar et al., 2023). Hidrolisis enzimatis merupakan metode pemecahan fukoidan menjadi oligosakarida dengan berat molekul rendah (Kusaykin et al., 2016). Pemecahan ini diperlukan untuk meningkatkan efektivitas fukoidan sebelum diaplikasikan. Fukoidan berat molekul rendah memiliki berbagai keunggulan.

Penelitian oleh Zhao et al. (2016) menunjukkan bahwa fukoidan dengan berat molekul rendah 7,6 kDa memiliki kemampuan absorpsi yang lebih baik dibandingkan dengan fukoidan dengan berat molekul menengah 35 kDa, ditandai dengan peningkatan kandungan fukosa dalam plasma hingga dua kali lipat. Penelitian Liu et al. (2023), juga menunjukkan bahwa fraksi fukoidan dengan berat molekul ≤ 6 kDa dan oligosakarida berukuran 1,3–3,3 kDa lebih mudah diserap tubuh, memiliki struktur yang lebih homogen, serta menunjukkan aktivitas biologis yang lebih kuat, seperti efek antiinflamasi dan antioksidan. Fukoidan dengan berat molekul rendah memiliki aktivitas farmakologis yang luas, termasuk antitumor, anti-koagulan, imunomodulator, dan antivirus (Garuba et al., 2020). Secara umum, fukoidan dengan berat molekul di bawah 10 kDa dikategorikan sebagai fukoidan dengan berat molekul rendah dan dianggap lebih unggul untuk aplikasi terapeutik dibandingkan fraksi dengan berat molekul tinggi (≥ 40 kDa) yang cenderung sulit diserap secara oral.

Metode pemecahan fukoidan melalui hidrolisis enzimatik menggunakan enzim fukoidanase memiliki keunggulan karena dapat menghindari kerusakan pada gugus sulfat ester serta menjaga stabilitas aktivitas biologisnya (Trang et al., 2022). Enzim fukoidanase bekerja dengan memotong ikatan glikosidik α -(1 $\rightarrow$ 3) dan/atau α -(1 $\rightarrow$ 4) pada rantai fukosa sulfat dalam struktur fukoidan. Proses ini disebut *enzymatic digestion* dan dilakukan dalam kondisi terkontrol, seperti pH, suhu, dan waktu yang terkontrol (Kim et al., 2010). Enzim fukoidanase menunjukkan spesifisitas tinggi terhadap struktur substrat, tergantung pada jenis ikatan dan posisi gugus sulfat. Beberapa jenis fukoidanase hanya aktif terhadap fukoidan dengan pola ikatan tertentu, seperti α -(1 $\rightarrow$ 4)-linked L-fucose, serta sangat dipengaruhi oleh tingkat sulfatasi dari rantai utamanya. Hasil dari proses hidrolisis ini adalah fucooligosakarida dengan berat molekul rendah dengan ukuran dan derajat sulfatasi yang bervariasi, yang diketahui memiliki aktivitas biologis lebih tinggi dibandingkan fukoidan utuh (Kusaykin et al., 2016).

2.2.2 Fukoidanase

Pada metode degradasi kimia, struktur sulfat sering kali rusak atau hilang, yang mengurangi potensi aktivitas biologis fukoidan. Gugus sulfat pada fukoidan berperan penting dalam berbagai aktivitas biologis, karena fukoidan adalah

polisakarida tersulfat, sehingga diperlukan pemecahan fukoidan yang tidak merusak struktur sulfatnya (Kim et al., 2015). Pemecahan molekul fukoidan tanpa merusak gugus sulfat dapat dilakukan dengan hidrolisis enzimatis yang menggunakan enzim fukoidanase.

Fukoidanase adalah enzim hidrolitik yang mengkatalisis degradasi fukoidan menjadi berat molekul rendah tanpa merusak gugus samping seperti sulfat, sehingga pola penempatan gugus sulfat, aktivitas biologis dan kelarutannya tetap terjaga (Cunha & Grenha, 2016; Liu et al., 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Hu et al. (2017), menunjukkan bahwa fukoidan yang terhidrolisis oleh fukoidanase dapat memiliki efek antiobesitas dan renoprotektif, yang dalam bentuk lebih sederhana sebagai oligosakarida dapat memiliki aktivitas antiinflamasi, antiangiogenik, antikanker, antivirus, prebiotik, dan antikoagulan (Barzkar et al., 2023).

Pada penelitian sebelumnya, telah banyak dilakukan metode untuk hidrolisis fukoidan menjadi berat molekul rendah, yaitu hidrolisis asam, degradasi radikal bebas, degradasi ultrasonik, degradasi suhu tinggi, dan hidrolisis enzimatis (Kalsson & Singh, 1999; Zhao et al., 2016; Guo et al., 2014; Shi et al., 2019; Wang et al., 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chen et al. (2019), menunjukkan hasil hidrolisis enzimatis fukoidan selama 10 jam dapat menurunkan berat molekul fukoidan dari 819 kDa menjadi 1,5 kDa. Enzim fukoidanase memungkinkan pemanfaatan fukoidan untuk aplikasi kesehatan dan farmasi secara lebih optimal dibandingkan dengan metode kimia (Barzkar et al., 2023). Enzim fukoidanase dapat diproduksi oleh organisme laut seperti jamur, invertebrata, dan bakteri (Bakunina et al., 2002; Silchenko et al., 2013).

2.2.3 Bakteri Penghasil Fukoidan

Bakteri penghasil fukoidanase merupakan mikroorganisme laut yang dapat memiliki aktivitas fukoidanase yang dapat dimanfaatkan untuk proses hidrolisis enzimatis. Beberapa jenis bakteri penghasil fukoidanase yang telah diidentifikasi berasal dari genus *Vibrio*, *Pseudomonas*, dan *Bacillus*. Produksi enzim oleh bakteri dapat bervariasi tergantung pada kondisi lingkungan, termasuk salinitas, pH, dan ketersediaan nutrisi, yang semuanya berkontribusi terhadap aktivitas enzimatis yang dihasilkan (Barzkar et al., 2023). Berbagai penelitian telah dilakukan

untuk mengidentifikasi bakteri yang diisolasi dari berbagai organisme laut dan memiliki aktivitas fukoidanase (Tabel 1).

Tabel 1. Bakteri penghasil fukoidanase

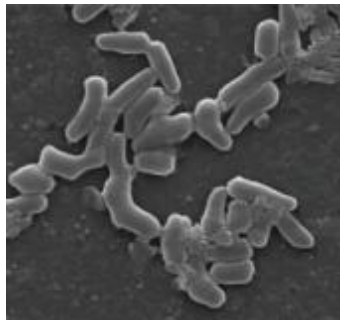
Spesies Bakteri	Sumber	Referensi
<i>Vibrio</i> sp. N-5	Pasir laut	(Furukawa et al., 1992)
<i>Cytobacillus kochii</i> GSD	Alga coklat (<i>Sargassum polycystum</i>)	(Setyawan et al., 2023)
<i>Bacillus cereus</i> PTF		
<i>Brevibacterium sediminis</i> PSA		
<i>Pseudoalteromonas citrea</i> KMM 3296	Alga coklat (<i>Fucus evanescens</i>)	(Bakunina et al., 2002)
<i>Pseudoalteromonas citrea</i> KMM 3298		
<i>Pseudoalteromonas citrea</i> KMM 3297	Teripang (<i>Apostichopus japonicas</i>)	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> PF-1	Alga coklat (<i>Undaria pinnatifida</i>)	(Kim et al., 2008)
<i>Formosa haliotis</i>	Saluran pencernaan abalon (<i>Haliotis gigantean</i>)	(Vuillemin et al., 2020; Trang et al., 2022)
<i>Mariniflexile fucanivorans</i> SW5	Alga coklat (<i>Pelvetia canaliculata</i>)	(Colin et al., 2006; Barbeyron et al., 2008)
<i>Luteolibacter algae</i> H18	Alga coklat (<i>Cladosiphon okamuranus</i>)	(Ohshiro et al., 2012; Nagao et al., 2018)
<i>Cobetia amphilecti</i>	Lumpur laut	(Liu et al., 2023)

Terdapat 10 genus bakteri yang didapatkan dari berbagai penelitian, meliputi genus, *Cytobacillus*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Brevibacterium*, *Sphingomonas*, *Formosa*, *Mariniflexile*, *Pseudoalteromonas*, *Luteolibacter*, dan *Cobetia*. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Setyawan et al. (2023), terdapat 12 isolat bakteri yang diisolasi dari *Sargassum polycystum* yang memiliki aktivitas fukoidanase dan tiga di antaranya memiliki indeks fukoidanase tertinggi. Ketiga isolat tersebut adalah *Cytobacillus kochii* strain GSD, *Bacillus cereus* strain PTF, dan *Brevibacterium sediminis* strain PSA (8,23±2,64).

Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD merupakan bakteri penghasil enzim fukoidanase yang diisolasi dari alga coklat *Sargassum polycystum* dan termasuk dalam genus *Cytobacillus*. Klasifikasi bakteri *C. kochii*, sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Class : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Famili : Bacillaceae

Genus : *Cytobacillus*
 Spesies : *Cytobacillus kochii* (Seiler et al., 2012)



Gambar 4. Morfologi *Cytobacillus kochii* GSD
 Sumber : (Xuewen et al., 2023)

C. kochii GSD memiliki ciri morfologi tubuh berbentuk batang, silinder dengan permukaan halus dan bersifat gram positif (Gambar 4) (Seiler et al., 2012; Xuewen et al., 2023). *C. kochii* GSD dapat diisolasi dan ditemukan di berbagai lokasi, mulai dari lokasi alami (tanah, sedimen laut), organisme hidup (usus manusia, cacing tanah) dan spesimen klinis (darah, urin, feses). Bakteri *C. kochii* GSD mampu tumbuh pada suhu berkisar antara 10–45°C, namun pertumbuhan optimal terjadi pada kisaran 25–37°C (Patel & Gupta, 2020). Penelitian mengenai kondisi salinitas yang mendukung pertumbuhan bakteri *C. kochii* GSD belum pernah dilakukan.

2.3 Uji Aktivitas Enzimatis Fukoidanase

Aktivitas enzimatis fukoidanase adalah kemampuan enzim fukoidanase dalam memecah ikatan glikosida pada fukoidan, sebuah polisakarida yang mengandung residu fukosa sulfat, yang umum ditemukan pada beberapa jenis alga coklat (Darmawan, 2023). Uji aktivitas enzimatis fukoidanase dapat dilakukan dengan menggunakan metode Somogyi-Nelson untuk mengukur gula pereduksi, serta uji viskositas menggunakan ostwald viscometer sebagai pendekatan tidak langsung untuk mengevaluasi degradasi fukoidan (Kim et al., 2008). Penilaian aktivitas fukoidanase dapat dilakukan dengan lebih detail menggunakan metode *carbohydrate polyacrylamide gel electrophoresis* (C-PAGE) untuk menggambar profil oligosakarida hasil hidrolisis (Vuillemin et al., 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Setyawan et al. (2023), menerapkan pendekatan kualitatif meng-

gunakan larutan *cetyl pyridinium chloride* (CPC) untuk mendeteksi zona bening akibat degradasi fukoidan pada media padat, dan metode DNS (3,5-dinitrosalisilat) secara kuantitatif untuk mengukur gula reduksi yang dilepaskan selama reaksi enzimatik. Pengukuran aktivitas spesifik juga dilakukan berdasarkan kandungan protein dari metode Bradford.

2.4 Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan Bakteri

Salinitas merupakan konsentrasi garam terlarut dalam air atau media yang berperan penting dalam menentukan tekanan osmotik lingkungan. Tekanan osmotik memengaruhi keseimbangan kadar air di dalam sel mikroorganisme dan berdampak langsung terhadap proses metabolisme serta pertumbuhannya. Perubahan salinitas dapat menghambat atau mendukung pertumbuhan mikroorganisme, tergantung pada kemampuan adaptasi masing-masing spesies (Marihati et al., 2014). Bakteri halofilik umumnya memerlukan konsentrasi NaCl minimum tertentu untuk mencapai pertumbuhan optimal. *Cytobacillus kochii* GSD, yang termasuk dalam famili Bacillaceae, diketahui sebagai bakteri penghasil enzim fukoidanase. Penelitian oleh Seiler et al. (2012), menunjukkan bahwa *Bacillus kochii*, anggota famili yang sama, tergolong bakteri halofilik yang memerlukan kadar salinitas minimal untuk tumbuh dengan baik.

Beberapa penelitian telah mengkaji pengaruh variasi salinitas terhadap pertumbuhan bakteri dari famili Bacillaceae maupun kelompok mikroorganisme lainnya. Penelitian Zainuddin et al. (2022), mengevaluasi empat tingkat salinitas (15, 20, 25, dan 30 ppt) terhadap *Bacillus firmus*, dengan hasil penelitian menunjukkan bahwa salinitas 30 ppt menghasilkan kepadatan tertinggi sebesar $40,327 \times 10^8$ sel/mL serta aktivitas protease sebesar 35,278 IU/mL. Penelitian Subagiyo et al. (2015), menguji pertumbuhan bakteri asam laktat dengan variasi salinitas 7,5 ppt, 15 ppt, dan 30 ppt, yang diukur berdasarkan *optical density* pada 600 nm setiap 6 jam, dan menunjukkan bahwa pertumbuhan optimal terjadi pada kisaran salinitas 7,5–15 ppt. Penelitian terhadap *Bacillus toyonensis* oleh Oktavia et al. (2022), dengan perlakuan salinitas 0 ppt, 15 ppt, dan 30 ppt menunjukkan pertumbuhan tertinggi pada 15 ppt setelah 48 jam inkubasi.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada April 2024 hingga Januari 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Produktivitas Perairan dan Laboratorium M, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan pada penelitian sebagai berikut.

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian sebagai berikut.

Tabel 2. Bahan penelitian

No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
1	<i>Tryptone Soy Agar</i> (TSA)	30 g/L	Himedia	Media agar kultur bakteri
2	<i>Tryptone Soy Broth</i> (TSB)	40 g/L	Himedia	Media cair kultur bakteri
3	Spiritus	-	-	Bahan bakar untuk menghasilkan nyala api pada bunsen
4	Akuades	-	Unila	Pelarut media
5	NaCl	5%	-	Pengontrol konsentrasi salinitas
6	Air laut steril	30 ppt	-	Pelarut media
7	<i>Sargassum</i> sp.	-	Rumput laut	Bahan baku utama penghasil fukoidan
8	Etanol	85%	Onemed	Pelarut pada proses maserasi <i>Sargassum</i> sp.

Tabel 2. Bahan penelitian (lanjutan)

No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
9	CaCl ₂	2%	-	Pemecah ikatan senyawa pada dinding sel alga
10	HCl	0,01 M	-	Asam yang digunakan untuk menurunkan pH larutan
11	<i>Cetyl pyridinium chloride</i> (CPC)	-	-	Bahan uji aktivitas fukoidanase

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian sebagai berikut.

Tabel 3. Alat penelitian

No	Nama Alat	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
1	Kertas saring	No. 40	Whattman	Pemisah endapan dari larutan
2	Bunsen	-	-	Sterilisasi alat
3	Tabung <i>centrifuge</i>	1000 mL	Onemed	Penyimpan media TSB
4	Gelas ukur	100 mL	-	Mengukur volume air yang digunakan
5	Spektrofotometer	320–1020 nm	VIS-722	Mengukur absorbansi dari suspensi bakteri
6	Vortex	4000 rpm	IkemeLab	Menghomogenkan bakteri
7	Refraktometer	0–100%	ATC	Mengukur konsentrasi salinitas
8	<i>Magnetic stirrer</i>	-	-	Melarutkan media
9	Erlenmeyer	1000 mL	Anumbra	Wadah pencampuran media kultur bakteri
10	<i>Spreader</i>	-	-	Meratakan suspensi bakteri pada media agar
11	Timbangan analitik	-	Sojiky HP-1/2000	Menimbang bahan
12	Cawan petri	75–100 mm	Duran	Wadah media agar
13	Inkubator	10 L	B-ONE PIN-10	Menginkubasi bakteri
14	<i>Hotplate</i>	-	DLAB MS-H280-Pro	Memanaskan larutan
16	Jarum ose	-	-	Menginokulasi bakteri

Tabel 3. Alat penelitian (lanjutan)

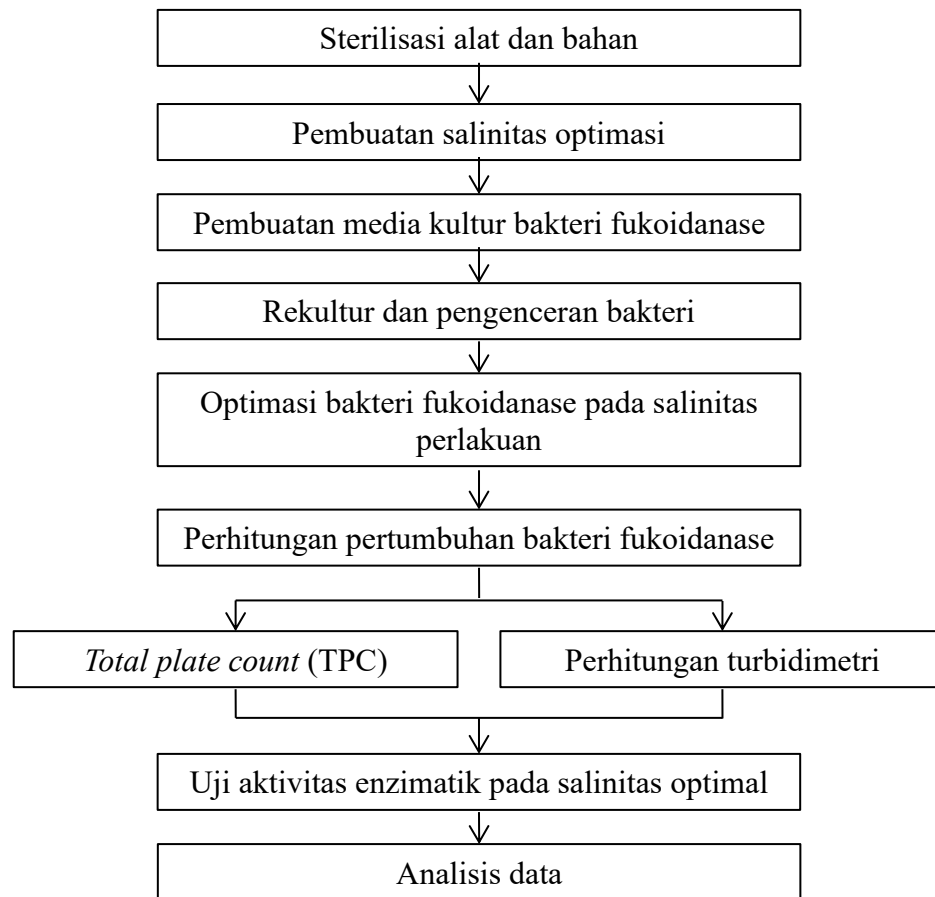
No	Nama Alat	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
17	<i>Rotary evaporator</i>	-	IKA RV 10	Memisahkan pelarut dari larutan
18	<i>Centrifuge</i>	-	800-1	Memisahkan supernatan
19	<i>Hand Counter</i>	-	JOYKO HC-5	Menghitung koloni bakteri pada cawan
20	Mikropipet	50–1000 μ L	DLAB	Memindahkan suspensi bakteri dalam jumlah kecil
21	Tabung reaksi	15 mL	Pyrex	Wadah kultur bakteri

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) untuk mengevaluasi pengaruh variasi salinitas terhadap pertumbuhan *Cytobacillus kochii* GSD dan aktivitas enzim fukoidanase yang dihasilkan. Kultur *C. kochii* GSD dikondisikan pada lima tingkat salinitas berbeda, yaitu 3,5 ppt, 5 ppt, 17,5 ppt, 30 ppt, dan 38,5 ppt, dengan tiga kali ulangan pada setiap perlakuan. pH, suhu kultur, dan komposisi nutrisi media dikondisikan seragam. Pengukuran pertumbuhan bakteri dilakukan menggunakan metode *total plate count* (TPC) dan perhitungan turbidimetri, aktivitas enzim fukoidanase dianalisis dengan uji metode *cetyl pyridinium chloride* (CPC). Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk menentukan pengaruh variasi salinitas terhadap pertumbuhan bakteri dan pengaruh aktivitas enzim terhadap waktu pengamatan. Jika ditemukan perbedaan yang signifikan, dilakukan uji lanjut *Mann-Whitney* untuk mengetahui antar kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan nyata.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi sterilisasi alat dan bahan, pembuatan optimasi salinitas, pembuatan media kultur bakteri fukoidanase, rekultur dan pengenceran bakteri, optimasi bakteri fukoidanase pada salinitas perlakuan, perhitungan pertumbuhan bakteri dengan metode *total plate count* (TPC) dan perhitungan turbidimetri, serta uji aktivitas enzimatik pada salinitas optimal (Gambar 5).



Gambar 5. Prosedur penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan cara untuk menghilangkan atau membunuh mikro-organisme (protozoa, fungi, bakteri, virus) pada peralatan laboratorium agar tetap bersih atau steril, dan sebagai upaya untuk mencegah terjadinya kontaminasi (Istini, 2020). Sterilisasi yang dilakukan pada penelitian, yaitu sterilisasi panas kering dan sterilisasi uap panas. Sterilisasi pemijaran api merupakan sterilisasi panas kering yang dilakukan di dalam *laminar air flow* (LAF) untuk peralatan yang terbuat dari logam dengan menggunakan api bunsen (Wulandari et al., 2022). Alat yang dapat disterilisasi dengan metode panas kering, yaitu peralatan kaca, instrumen logam ataupun bahan lain yang tahan suhu panas (Ikenganyia et al., 2017). Sterilisasi uap panas bertekanan dilakukan dengan menggunakan autoklaf uap dengan uap air jenuh pada suhu 121°C selama 15 menit (Pelczar & Chan, 1986). Metode sterilisasi uap panas digunakan untuk mensterilkan media, dan peralatan kaca seperti *erlenmeyer* dan cawan petri (Gupta & Shukshit, 2016).

Tahapan sterilisasi menggunakan autoklaf dimulai dengan pengecekan air di dalam autoklaf. Air harus berada pada batas yang ditentukan, yaitu 1,5 liter untuk autoklaf dengan kapasitas 18 liter. Akuades ditambahkan apabila air belum mencapai batas yang ditentukan. Peralatan yang akan disterilisasi ditempatkan di dalam autoklaf, autoklaf ditutup rapat, dan baut pengaman dikencangkan untuk memastikan tidak ada uap yang keluar. Autoklaf dihubungkan ke sumber listrik, dan tombol power diposisikan ke 'ON', hingga suhu mencapai 121°C. Pada saat suhu mencapai 121°C, tombol power diposisikan ke 'OFF' dan timer diatur selama 15 hingga 20 menit. Saat proses sterilisasi selesai, akan terdengar bunyi di autoklaf. Saat proses sterilisasi selesai, katup uap dibuka hingga tidak ada uap yang keluar dari autoklaf. Alat dan bahan yang disterilkan kemudian diambil setelah baut pengaman dan penutup autoklaf dilepas.

3.4.2 Pembuatan Salinitas

Salinitas merupakan kadar garam terlarut dalam air (Walid & Darmawan, 2018). Pemilihan konsentrasi perlakuan salinitas uji dilakukan berdasarkan perhitungan dengan metode *response surface methodology* (RSM) untuk mengoptimalkan kondisi percobaan dan mendapatkan respons yang maksimal dari variabel yang diteliti. RSM adalah sebuah metode desain eksperimen yang menggabungkan teknik statistik dengan analisis grafik atau plot. Metode RSM digunakan untuk menemukan titik optimal dari berbagai faktor yang diuji, dengan cara mengevaluasi pengaruhnya terhadap respons yang dihasilkan (Widarsaputra et al., 2022). Berdasarkan hasil perhitungan RSM, didapatkan rentang salinitas perlakuan yang terdiri atas beberapa konsentrasi, yaitu 3,5 ppt, 5 ppt, 17,5 ppt, 30 ppt, dan 38,5 ppt. Pengaturan konsentrasi dibuat dengan air laut salinitas 30 ppt dan air tawar salinitas 0 ppt. Air laut diencerkan untuk mendapatkan salinitas yang lebih rendah. Media dengan salinitas lebih tinggi diberi penambahan larutan NaCl (Oktavia et al., 2022).

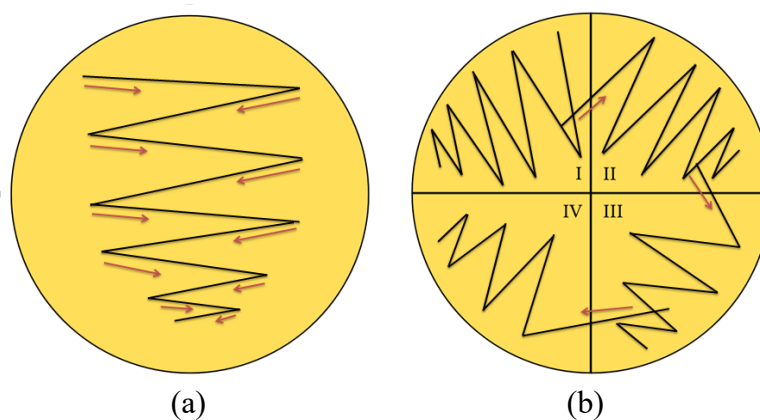
3.4.3 Pembuatan Media Kultur Bakteri Fukoidanase

Media yang digunakan pada penelitian merupakan media *tryptone soya agar* (TSA) dan *tryptone soya broth* (TSB). Pembuatan media dilakukan dengan menimbang berat bubuk media sebelum melarutkannya dengan pelarut. Media

TSA dibuat dengan mencampur 40 gram bubuk TSA ke dalam satu liter air di dalam *erlenmeyer* yang berisi pelarut yang salinitasnya telah disesuaikan dengan kebutuhan. Media TSB disiapkan dengan melarutkan 30 gram bubuk TSB dalam satu liter pelarut dan dihomogenkan di atas *hotplate* menggunakan *magnetic stirrer*. Bubuk media dan pelarutnya dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* di atas *hotplate* hingga homogen. Larutan TSB ditempatkan dalam tabung *centrifuge*, sedangkan media TSA disimpan dalam erlenmeyer, kemudian kedua media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk memastikan seluruh mikroorganisme dalam media telah mati (Purwanti & Susanti, 2016). Media TSA didinginkan hingga suhu sekitar 45–50°C sebelum dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan mengeras pada suhu kamar, sedangkan media TSB juga didinginkan sebelum digunakan. Media TSA digunakan dalam cawan petri dan TSB dalam tabung *centrifuge* dan digunakan untuk kultur mikroorganisme.

3.4.4 Rekultur dan Pengenceran Bakteri

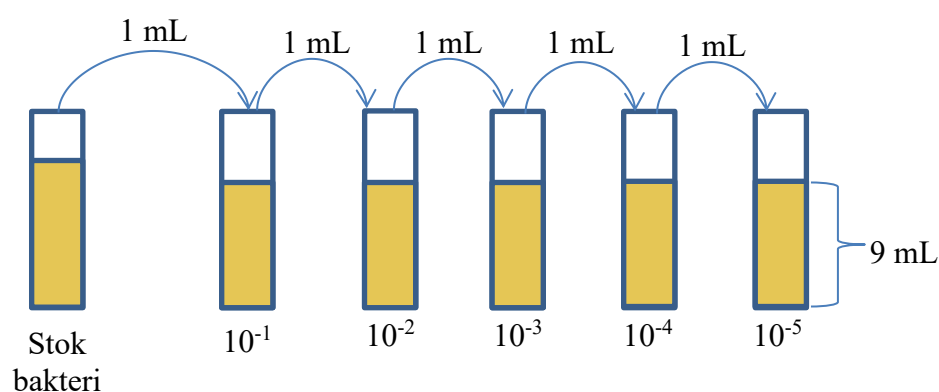
Rekultur bakteri merupakan proses pemindahan bakteri dari stok kultur yang telah tersedia ke media kultur baru untuk memperoleh koloni tunggal (single colony) yang dilakukan menggunakan metode empat kuadran (Gambar 6). Media yang digunakan dalam rekultur adalah *tryptone soya agar* (TSA) dan *tryptone soya broth* (TSB). Stok bakteri diambil menggunakan jarum ose yang telah disterilkan, kemudian diinokulasikan ke permukaan media TSA dengan pola zigzag, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C.



Gambar 6. Ilustrasi rekultur bakteri
(a) metode gores; (b) metode empat kuadran

Koloni bakteri yang tumbuh kemudian dikultur ulang untuk memperoleh koloni murni. Pencarian koloni murni dilakukan menggunakan metode empat kuadran. Sebelum inokulasi, permukaan media TSA pada cawan petri dibagi menjadi empat kuadran menggunakan garis batas dengan spidol, sehingga memudahkan proses inokulasi dan identifikasi pertumbuhan koloni. Inokulasi awal dilakukan pada kuadran pertama dengan menggunakan jarum ose steril. Jarum tersebut kemudian disterilkan ulang dan digunakan untuk menarik goresan dari ujung kuadran pertama ke kuadran kedua dengan pola zigzag. Prosedur yang sama diterapkan pada kuadran ketiga dan keempat. Pada tiap perpindahan kuadran, jarum ose disterilkan, dan bakteri diambil dari ujung goresan kuadran sebelumnya (Ibrahim et al., 2015)

Tahap berikutnya berupa pengenceran bertingkat hingga mencapai tingkat 10^{-5} , dengan perbandingan 1:9. Setiap tingkat pengenceran menghasilkan jumlah mikroorganisme yang 1/10 dari tingkat sebelumnya (Yunita et al., 2015). Proses dimulai dengan pengambilan 1 mL stok bakteri yang dimasukkan ke dalam tabung berisi media TSB, kemudian dicampur menggunakan vortex. Sebanyak 1 mL campuran dipindahkan ke tabung kedua berisi TSB dan dicampur kembali dengan metode yang sama. Langkah tersebut diulangi secara berturut-turut hingga mencapai pengenceran ke lima (Gambar 7).



Gambar 7. Alur pengenceran bertingkat

3.4.5 Optimasi Bakteri Fukoidanase pada Salinitas Perlakuan

Optimasi pertumbuhan bakteri penghasil enzim fukoidanase dilakukan menggunakan media TSA dan TSB yang disiapkan pada variasi salinitas, yaitu 3,5 ppt, 5 ppt, 17,5 ppt, 30 ppt, dan 38,5 ppt. Penyesuaian salinitas dilakukan

melalui penambahan NaCl ke dalam media dasar sebelum sterilisasi. Kultur bakteri yang telah diencerkan hingga 10^{-5} diinokulasikan ke permukaan media TSA dengan metode spread plate, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C . Metode spread plate dilakukan dengan menuangkan suspensi bakteri ke atas permukaan media padat, kemudian diratakan menggunakan spreader steril (Damayanti et al., 2020). Inokulasi pada tiap tingkat salinitas dilakukan sebanyak tiga ulangan untuk memperoleh hasil yang reliabel.

Pengamatan pertumbuhan bakteri dalam media TSB dilakukan menggunakan suspensi dengan pengenceran yang sama dan kondisi inkubasi serupa. Evaluasi dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu perhitungan jumlah koloni menggunakan metode *total plate count* (TPC) pada TSA dan turbidimetri pada TSB menggunakan spektrofotometer. Metode perhitungan turbidimetri dilakukan setiap 3 jam selama periode inkubasi 24 jam, sedangkan perhitungan TPC dilakukan dua kali, yaitu pada 24 jam dan 48 jam setelah inkubasi. Data yang diperoleh dari kedua metode digunakan untuk mengetahui pengaruh variasi salinitas terhadap kepadatan bakteri penghasil enzim fukoidanase *Cytobacillus kochii* GSD.

3.4.6 Perhitungan Pertumbuhan Bakteri Penghasil Fukoidanase

Perhitungan pertumbuhan bakteri penghasil fukoidanase *Cytobacillus kochii* GSD dilakukan dengan menggunakan metode *total plate count* (TPC) dan perhitungan turbidimetri.

A. *Total Plate Count* (TPC)

Perhitungan bakteri *total plate count* (TPC) merupakan metode perhitungan koloni bakteri yang dilakukan secara manual menggunakan *colony counter* (Pajan et al., 2016). Perhitungan TPC, dilakukan menggunakan *colony counter* sebanyak dua kali perhitungan agar grafik pertumbuhannya dapat terlihat. Hasil perhitungan akan berupa jumlah koloni bakteri yang dapat disajikan dalam bentuk tabel ataupun grafik. Standar perhitungan jumlah koloni bakteri pada metode TPC berdasarkan American Public Health Association (2004), yaitu 30-300 koloni bakteri. Perhitungan kepadatan bakteri untuk metode TPC menggunakan rumus berikut.

$$\text{Kepadatan Bakteri} = \left(\frac{\text{Jumlah koloni pada cawan}}{\text{Suspensi bakteri yang disebar}} \right) \times \text{Faktor pengenceran}$$

B. Perhitungan Turbidimetri

Perhitungan kepadatan bakteri dengan perhitungan turbidimetri (kekeruhan) dilakukan untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri dengan menggunakan alat spektrofotometer. Bakteri yang telah diencerkan menjadi 10^{-5} diinkubasi selama 24 jam sebelum dilakukan perhitungan. Perhitungan dilakukan selama 24 jam dengan interval setiap 3 jam. Prinsip perhitungan menggunakan spektrofotometer adalah dengan menentukan kekeruhan pada media yang berisi suspensi bakteri. Spektrofotometer berfungsi untuk mengukur panjang gelombang serta nilai absorbansi (Pajan et al., 2016). Absorbansi merupakan perbandingan antara intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar yang datang. Spektrofotometer menghasilkan cahaya yang dilewatkan melalui gelombang tertentu sehingga menghasilkan sinar dengan panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang kemudian diukur dengan alat fotometer, yang selanjutnya mengukur intensitas cahaya yang diabsorpsi. Hasil pengukuran terbaca langsung oleh detektor dan ditampilkan dalam bentuk angka digital ataupun grafik (Nawangsih et al., 2024).

Nilai absorbansi hasil pengukuran dikonversi menggunakan larutan standar McFarland menjadi satuan CFU/mL. Standar McFarland digunakan sebagai acuan untuk menentukan konsentrasi bakteri dalam media (Zainuddin et al., 2022). Nilai absorbansi dan perkiraan jumlah sel bakteri (CFU/mL) dilampirkan pada tabel 4.

Tabel 4. Standar McFarland

Standar McFarland	Absorbansi	Konsentrasi Bakteri (CFU/mL)
0,5	0,08–0,1	$1,5 \times 10^8$
1	0,25	$3,0 \times 10^8$
2	0,50	$6,0 \times 10^8$
3	0,75	$9,0 \times 10^8$
4	1,00	$1,2 \times 10^9$
5	1,25	$1,5 \times 10^9$
6	1,50	$1,8 \times 10^9$
7	1,75	$2,1 \times 10^9$
8	2,00	$2,4 \times 10^9$

Konversi tersebut dinyatakan dalam dalam persamaan regresi linear yang di dapatkan melalui proses kalibrasi menggunakan larutan standar McFarland yang menghasilkan nilai a dan b spesifik untuk setiap alat spektrofotometer (Rosmania dan Yanti, 2020). Persamaan regresi linear tersebut dinyatakan sebagai berikut:

$$y = a + bx$$

3.4.7 Uji Aktivitas Enzimatik pada Salinitas Optimal

Uji aktivitas enzimatik dilakukan untuk menganalisis kemampuan enzim dalam mendegradasi fukoidan. Proses uji aktivitas mencakup tiga tahap, yaitu ekstraksi fukoidan dari *Sargassum* sp., karakterisasi gugus fungsi fukoidan dengan uji *fourier transform infrared spectroscopy* (FT-IR) dan pengujian aktivitas enzimatik fukoidanase menggunakan metode *cetyl pyridinium chloride* (CPC).

A. Ekstraksi Fukoidan

Ekstraksi fukoidan dilakukan menggunakan metode asam berdasarkan penelitian Setyawan et al. (2018). Sebanyak 50 gram *Sargassum* sp. yang telah dikeringkan, digiling dan dimaserasi dalam larutan 0,1 N HCl dengan perbandingan 1:10 m/v selama 24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kain blacu untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu dimaserasi ulang dalam larutan 0,2 N HCl dengan rasio 1:10 m/v selama 24 jam, disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat dari kedua tahap maserasi digabungkan dan disaring ulang menggunakan kertas Whatman nomor 40.

Ekstrak fukoidan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (IKA RV 10, Germany) pada suhu 60°C (IKA HB 10, Germany) hingga volume ekstrak mencapai 100 mL. Ekstrak diendapkan dengan etanol dingin 96% dan disimpan di lemari es selama 2 jam. Campuran filtrat HCL 0,1 N dan filtrat HCl 0,2 N disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3.000 rpm untuk memperoleh endapan. Endapan dilarutkan dalam akuades dengan pH 2, ditambahkan kalsium klorida (CaCl_2) hingga mencapai konsentrasi akhir 2 M. Larutan didiamkan pada suhu ruang (30°C) selama 24 jam.

Larutan akuades pH2 dan CaCl_2 yang telah didiamkan selama 24 jam disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm untuk memisahkan

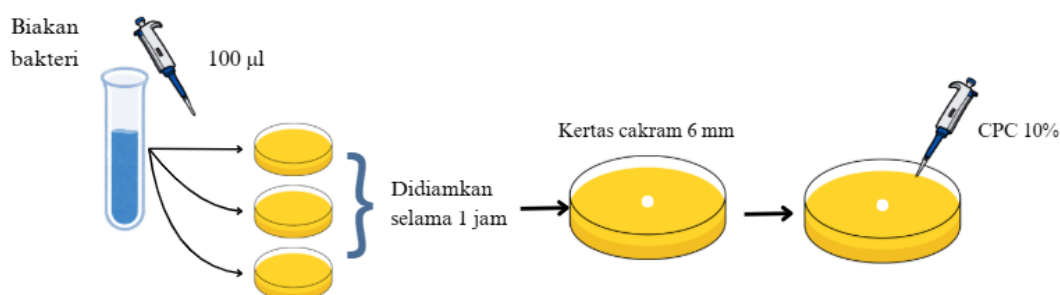
supernatan. Supernatan yang diperoleh diendapkan kembali menggunakan etanol dingin 96% selama 24 jam. Larutan disentrifugasi ulang pada kecepatan yang sama selama 15 menit, menghasilkan endapan berupa fukoidan.

B. Karakterisasi Gugus Fungsi Fukoidan Dengan Uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR)

FT-IR merupakan teknik spektroskopi yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa berdasarkan interaksi molekul dengan radiasi inframerah untuk memastikan bahwa senyawa yang diekstrak benar-benar fukoidan (Chale-Dzul et al., 2015). FT-IR digunakan untuk menentukan gugus fungsi yang khas, dengan spektrum inframerah direkam pada rentang bilangan gelombang $500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ (Sinurat, 2011).

C. Uji Aktivitas Enzim Fukoidanase

Penentuan aktivitas fukoidanase dilakukan menggunakan metode *cetyl pyridinium chloride* (CPC) dengan mengacu pada penelitian Setyawan et al. (2023), sebanyak $100\text{ }\mu\text{l}$ biakan bakteri simbion yang telah diinkubasi selama 24 jam ditetaskan dan diratakan menggunakan *rod spreader* pada cawan petri yang berisi media TSA dengan tambahan fukoidan 1 mg/mL . Media dibiarkan selama 1 jam agar bakteri dapat berdifusi ke dalamnya. Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam di dalam larutan *cetyl pyridinium chloride* ($\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{ClN}$) 10% kemudian diletakkan di permukaan agar dan ditetesi larutan. Media TSA diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C . Aktivitas fukoidanase isolat bakteri positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram.



Gambar 8. Ilustrasi uji aktivitas fukoidanase

3.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan metode statistik yang sesuai dengan prosedur penelitian. Hasil uji optimasi dianalisis secara deskriptif dan diuji menggunakan *Kruskal-Wallis* untuk menentukan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Jika hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui pasangan perlakuan yang memiliki perbedaan nyata. Hasil laju pertumbuhan bakteri dan uji aktivitas enzimatis dianalisis secara deskriptif dengan melihat kurva yang terbentuk. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik dengan bantuan *Microsoft Excel* 2010.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Salinitas 30 ppt merupakan kondisi terbaik untuk mendukung pertumbuhan bakteri secara optimal dan konsisten.
2. Salinitas 30 ppt mendukung aktivitas optimal dengan zona aktivitas terbesar 20,97 mm pada 72 jam.

5.2 Saran

Perlu dilakukan kajian lanjutan terhadap berat molekul fukoidan hasil hidrolisis enzimatis oleh bakteri *Cytobacillus kochii* GSD, serta uji *in vivo* untuk menganalisis efektivitas fukoidan secara lebih mendalam dalam aplikasi lanjutannya.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Latif, H. M. R., Dawood, M. A. O., Alagawany, M., Faggio, C., Nowosad, J., & Kucharczyk, D. (2022). Health benefits and potential applications of fucoidan (FCD) extracted from brown seaweeds in aquaculture: An updated review. *Fish and Shellfish Immunology*, 122, 115–130.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.01.039>
- American Public Health Association. (2004). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (21st ed). APHA Press.
- AlgaeBase. (1998). *Sargassum C. Agardh, 1820*. <https://www.algaebase.org/>
- Arisandi, A., Wardani, M. K., Badami, K., & Araninda, G. D. (2017). Dampak perbedaan salinitas terhadap viabilitas bakteri *Vibrio fluvialis*. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 9(2), 91–97.
<https://doi.org/10.20473/jipk.v9i2.7636>
- Astuti, R. I., Saju, Y. B. P., Aribah, D., & Wahyudi, A. T. (2022). Skrining dan identifikasi bakteri laut penghasil enzim selulase yang berasosiasi dengan spons. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 27(1), 70–75.
<https://doi.org/10.18343/jipi.27.1.70>
- Bakunina, I. Y., Nedashkovskaya, O. I., Alekseeva, S. A., Ivanova, E. P., Romanenko, L. A., Gorshkova, N. M., Isakov, V. V., Zvyagintseva, T. N., & Mikhailov, V. V. (2002). Degradation of fucoidan by the marine proteobacterium *Pseudoalteromonas citrea*. *Mikrobiologiya*, 71(1), 49–55.
<https://doi.org/10.1023/A:1017994131769>
- Barbeyron, T., L'Haridon, S., Michel, G., & Czjzek, M. (2008). Mariniflexile fucanivorans sp. nov., a marine member of the Flavobacteriaceae that degrades sulphated fucans from brown algae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(9), 2107–2113.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.65674-0>
- Barzkar, N., Rungsardthong, V., Tamadoni Jahromi, S., Laraib, Q., Das, R., Babich, O., & Sukhikh, S. (2023). A recent update on fucoidonase: source, isolation methods and its enzymatic activity. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1129982>
- Basmal, J. (2010). Teknologi pembuatan pupuk organik cair kombinasi hidrolisat rumput laut *Sargassum* sp. dan limbah ikan. *Squalen*, 5(2), 59–66.

- Chale-Dzul, J., Moo-Puc, R., Robledo, D., & Freile-Pelegri n, Y. (2015). Hepatoprotective effect of the fucoidan from the brown seaweed *Turbinaria tricosata*. *Journal of Applied Phycology*, 27(5), 2123–2135. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0429-9>
- Chen, Q., Kou, L., Wang, F., & Wang, Y. (2019). Size-dependent whitening activity of enzyme-degraded fucoidan from *Laminaria japonica*. *Carbohydrate Polymers*, 225, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115211>
- Chen, Z., Chen, W., & Du, H. (2025). Phylogeographic pattern of *Sargassum hemiphyllum* var. *chinense* (phaeophyceae, ochrophyta) in Chinese Coastal Waters. *Plants*, 14(9), 1–25. <https://doi.org/10.3390/plants14091269>
- Choi, J. Il, & Kim, H. J. (2013). Preparation of low molecular weight fucoidan by gamma-irradiation and its anticancer activity. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 358–362. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.002>
- Colin, S., Deniaud, E., Jam, M., Descamps, V., Chevolot, Y., Kervarec, N., Yvin, J. C., Barbeyron, T., Michel, G., & Kloareg, B. (2006). Cloning and biochemical characterization of the fucanase FcnA: definition of a novel glycoside hydrolase family specific for sulfated fucans. *Glycobiology*, 16(11), 1021–1032. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwl029>
- Cunha, L., & Grenha, A. (2016). Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications. *Marine Drugs*, 14(3), 1–41. <https://doi.org/10.3390/md14030042>
- Damayanti, N. W. E., Abadi, M. F., & Bintari, N. W. D. (2020). Perbedaan jumlah bakteriuri pada wanita lanjut usia berdasarkan kultur mikrobiologi menggunakan teknik cawan tuang dan cawan sebar. *Meditory*, 8(1), 1–4. <https://doi.org/10.33992/m.v8i1.969>
- Darmawan, M. (2023). Isolasi, penapisan, karakterisasi, dan identifikasi bakteri penghasil fukoidanase dari *Sargassum polycystum*. (Tesis Tidak Terpublikasi). Universitas Lampung.
- Fajri, M. I., Samidjan, I., & Rachmawati, D. (2020). Pengaruh jarak tanam rumput laut (*Sargassum* sp.) yang berbeda terhadap pertumbuhan. *Sains Akuakultur Tropis*, 4(2), 156–160. <https://doi.org/10.14710/sat.v4i2.6920>
- Fernando, I. P. S., Sanjeewa, K. K. A., Lee, H. G., Kim, H. S., Prasanna Vaas, A. P. J., de Silva, H. I. C., Nanayakkara, C. M., Abeyunga, D. T. U., Lee, D. S., Lee, J. S., & Jeon, Y. J. (2020). Fucoidan purified from *Sargassum polycystum* induces apoptosis through mitochondria-mediated pathway in HL-60 and MCF-7 Cells. *Marine Drugs*, 18(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/md18040196>
- Fernando, I. P. S., Sanjeewa, K. K. A., Samarakoon, K. W., Kim, H. S., Gunasekara, U. K. D. S. S., Park, Y. J., Abeyunga, D. T. U., Lee, W. W., & Jeon, Y. J. (2018). The potential of fucoidans from *Chronospora minima* and *Sargassum polycystum* in cosmetics: antioxidant, anti-inflammatory, skin-whitening, and antiwrinkle activities. *Journal of Applied Phycology*, 30(6), 3223–3232. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1415-4>

- Furqonita, A., Aritonang, A. B., & Agus, M. A. (2021). Sintesis TiO₂ terdoping Bi³⁺ dan uji aktivitas fotokatalis antibakteri *E. coli* dengan bantuan sinar tampak. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(2), 69–80. <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/IJoPAC>
- Furukawa, S. I., Fujikawa, T., Koga, D., & Ide, A. (1992). Purification and some properties of Eeo-type fucoidanases from *Vibrio* sp. N-5. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 56(11), 1829–1834. <https://doi.org/10.1271/bbb.56.1829>
- Garuba, E. O., Adeleye, P. A., & Onilude, A. A. (2020). Purification and properties of thermostable fucoidanase produced by recently isolated terrestrial *Aspergillus flavus* FS018. *Trends in Peptide and Protein Sciences*, 5(3), 1–7. <https://doi.org/tpps.v5i0.30913>
- Gazali, M., Nurjanah, N., & Zamani, N. P. (2018). Eksplorasi senyawa bioaktif alga cokelat *Sargassum* sp. Agardh sebagai antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 167–178. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i1.21543>
- Gregory, G. J., & Boyd, E. F. (2021). Stressed out: Bacterial response to high salinity using compatible solute biosynthesis and uptake systems, lessons from Vibrionaceae. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 1014–1027. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.01.030>
- Guo, X., Ye, X., Sun, Y., Wu, D., Wu, N., Hu, Y., & Chen, S. (2014). Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucoidan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(5), 1088–1095. <https://doi.org/10.1021/jf404717y>
- Gupta, N. V., & Shukshith, K. S. (2016). Qualification of autoclave. *International Journal of PharmTech Research*, 9(4), 220–226.
- Hikariastri, P., Winarno, H., Kusmardi, K., Laksmiawati, D. R., & Abdillah, S. (2019). Aktivitas antiinflamasi crude extract fukoidan dari *Sargassum crassifolium* pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 97–105. <https://doi.org/10.22435/jki.v9i2.1547>
- Hu, S., Wang, J., Wang, J., Li, S., Jiang, W., & Liu, Y. (2017). Renoprotective effect of fucoidan from *Acaudina molpadioides* in streptozotocin/high fat diet-induced type 2 diabetic mice. *Journal of Functional Foods*, 31, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.01.031>
- Husni, A., Izmi, N., Ayunani, F. Z., Kartini, A., Husnayain, N., & Isnansetyo, A. (2022). Characteristics and antioxidant activity of fucoidan from *Sargassum hystrix*: effect of extraction method. *International Journal of Food Science*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3689724>
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 159–163. <https://doi.org/10.25026/mpc.v1i1.16>

- Idrus, S., Hadinoto, S., Smith, H., & Loupatty, V. D. (2019). Kandungan mineral fukoidan rumput laut *Sargassum crassifolium* dari perairan Pantai Desa Hutumuri Ambon. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 4(1), 163–167. <https://snllb.ulm.ac.id/prosiding/index.php>
- Ikenganyia, E. E., Anikwe, M. A. N., Omeje, T. E., & Adinde, J. O. (2017). Plant tissue culture regeneration and aseptic techniques. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology*, 1(3), 1–6. <https://doi.org/10.9734/AJB2T/2017/31724>
- Istini. (2020). Pemanfaatan plastik polipropilen standing pouch sebagai salah satu kemasan sterilisasi peralatan laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(3), 41–46.
- Jeon, Y. J., Wijesinghe, W. A. J. P., & Kim, S. K. (2011). Functional properties of brown algal sulfated polysaccharides, fucoidans. *Advances in Food and Nutrition Research*, 64, 163–178. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387669-0.00012-0>
- Junaidi, L. (2022). Simple extraction and molecular weight characterization of fucoidan from Indonesian *Sargassum* sp. *Biopropal Industri*, 4(2), 49–57. <https://doi.org/10.36974/jbi.v4i2.808>
- Kalsson, A., & Singh, S. K. (1999). Acid hydrolysis of sulphated polysaccharides. Desulphation and the effect on molecular mass. *Carbohydrate Polymers*, 38(1), 7–15. [https://doi.org/10.1016/s0144-8617\(98\)00085-x](https://doi.org/10.1016/s0144-8617(98)00085-x)
- Kim, W. J., Kim, S. M., Lee, Y. H., Kim, H. G., Kim, H. K., Moon, S. H., Suh, H. H., Jang, K. H., & Park, Y. I. (2008). Isolation and characterization of marine bacterial strain degrading fucoidan from Korean *Undaria pinnatifida* sporophylls. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(4), 616–623.
- 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., & Park, Y. I. (2010). Anticoagulating activities of low-molecular weight fuco-oligosaccharides prepared by enzymatic digestion of fucoidan from the sporophyll of Korean *Undaria pinnatifida*. *Archives of Pharmacal Research*, 33(1), 125–131. <https://doi.org/10.1007/s12272-010-2234-6>
- Kim, W. J., Park, J. W., Park, J. K., Choi, D. J., & Park, Y. Il. (2015). Purification and characterization of a fucoidanase (FNase S) from a marine bacterium *Sphingomonas paucimobilis* PF-1. *Marine Drugs*, 13(7), 4398–4417. <https://doi.org/10.3390/md13074398>
- Klinfoong, R., Thummakasorn, C., Ungwiwatkul, S., Boontanom, P., & Chantarasiri, A. (2022). Diversity and activity of amylase-producing bacteria isolated from mangrove soil in Thailand. *Biodiversitas*, 23(10), 5519–5531. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d231064>
- Kusaykin, M. I., Silchenko, A. S., Zakharenko, A. M., & Zvyagintseva, T. N. (2016). Fucoidanases. *Glycobiology*, 26(1), 3–12. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv072>

- Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671–1695. <https://doi.org/10.3390/molecules13081671>
- Lim, S. J., & Aida, W. M. W. (2017). *Extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed In Seaweed Polysaccharides: Isolation, Biological and Biomedical Applications*. Elsevier Inc.
- Liu, S., Wang, Q., Shao, Z., Liu, Q., He, Y., Ren, D., Yang, H., & Li, X. (2023). Purification and characterization of the enzyme fucoidanase from *Cobetia amphilecti* utilizing fucoidan from *Undaria pinnatifida*. *Foods*, 12(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods12071555>
- Liu, X., Liu, B., Wei, X. L., Sun, Z. L., & Wang, C. Y. (2016). Extraction, fractionation, and chemical characterisation of fucoidans from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(5), 406–413. <https://doi.org/10.17221/322/2015-CJFS>
- Maharani, P., Ikasari, E., Purwanto, U., & Bagiana, I. (2022). Optimasi Na-alginat dan Ca-klorida pada nanopartikel ekstrak terpurifikasi fukoidan dari rumput laut cokelat (*Sargassum polycystum*). *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal*, 5(2), 38–45. <https://doi.org/10.35799/pmj.v5i2.45100>
- Mansour, M. Ben, Balti, R., Yacoubi, L., Ollivier, V., Chaubet, F., & Maaroufi, R. M. (2019). Primary structure and anticoagulant activity of fucoidan from the sea cucumber *Holothuria polii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1145–1153. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.129>
- Marihati, Hariastuti, N., Nilawati, Eddy, S., & H., D. W. (2014). Penggunaan bakteri halofilik sebagai biokatalisator untuk meningkatkan kualitas dan produktifitas garam NaCl di meja kristalisasi. *Jurnal Riset Industri*, 8(3), 191–196.
- Marudhupandi, T., Ajith Kumar, T. T., Lakshmana Senthil, S., & Nanthini Devi, K. (2014). In vitro antioxidant properties of fucoidan fractions from *Sargassum tenerrimum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 17(3), 402–407. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.402.407>
- Nagao, T., Arai, Y., Yamaoka, M., Komatsu, F., Yagi, H., Suzuki, H., & Ohshiro, T. (2018). Identification and characterization of the fucoidanase gene from *Luteolibacter algae* H18. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(5), 567–572. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.05.016>
- Nagappan, H., Pee, P. P., Kee, S. H. Y., Ow, J. T., Yan, S. W., Chew, L. Y., & Kong, K. W. (2017). Malaysian brown seaweeds *Sargassum siliculosum* and *Sargassum polycystum*: Low density lipoprotein (LDL) oxidation, angiotensin converting enzyme (ACE), α -amylase, and α -glucosidase inhibition activities. *Food Research International*, 99, 950–958. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.01.023>
- Nawangsih, E. N., Khaerunnisa, K. N., Achmad, N., & Koswara, T. (2024). Kesenjangan jumlah koloni probiotik yoghurt beku kering antara metode TPC dan spektrofotometer. *Journal of Innovation Research and Knowledge*, 3(9), 1963–1968.

- Ohshiro, T., Harada, N., Kobayashi, Y., Miki, Y., & Kawamoto, H. (2012). Microbial fucoidan degradation by *Luteolibacter algae* H18 with deacetylation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 76(3), 620–623. <https://doi.org/10.1271/bbb.110911>
- Oktavia, D. A., Nursyirwani, N., & Yoswaty, D. (2022). Optimization the growth of proteolytic bacteria *Bacillus toyonensis* at different salinity and concentration of tofu wastewater. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 5(2), 176–183. <https://doi.org/10.31258/ajoas.5.2.176-183>
- Pajan, S. A., Waworuntu, O., & Leman, M. A. (2016). Potensi antibakteri air perasan bawang putih (*Allium sativum* L) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(4), 77–81.
- Pakidi, C. S., & Suwoyo, H. S. (2017). Potensi dan pemanfaatan bahan aktif alga coklat *Sargassum* sp. *Jurnal Ilmu Perikanan*, 6(1), 551–562.
- Panjaitan, R. S., & Natalia, L. (2021). Ekstraksi polisakarida sulfat dari *Sargassum polycystum* dengan metode microwave assisted extraction dan uji toksisitasnya. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 16(1), 23–32. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v16i1.692>
- Patel, S., & 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., cyto bacillus gen. nov., mesobacillus gen. nov., neobacillus gen. nov., metabacillu. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 406–438. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003775>
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1986). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press.
- Peng, Y., Xie, E., Zheng, K., Fredimoses, M., Yang, X., Zhou, X., Wang, Y., Yang, B., Lin, X., Liu, J., & Liu, Y. (2013). Nutritional and chemical composition and antiviral activity of cultivated seaweed *Sargassum naozhouense* Tseng et Lu. *Marine Drugs*, 11, 20–32. <https://doi.org/10.3390/md11010020>
- Purwanti, N. U., & Susanti, R. (2016). Uji aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak etanol rimpang *Acorus* sp. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*, 2(1), 256–268. <https://doi.org/https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/view/29465>
- Puspantari, W., Kusnandar, F., Nuryani Lioe, H., & Laily, N. (2020). Penghambatan fraksi fukoidan rumput laut coklat (*Sargassum polycystum* dan *Turbinaria conoides*) terhadap α -amilase dan α -glukosidase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 122–136. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30925>
- Qi, Y., Wang, L., You, Y., Sun, X., Wen, C., Fu, Y., & Song, S. (2022). Preparation of low-molecular-weight fucoidan with anticoagulant activity by photocatalytic degradation method. *Foods*, 11(6), 1–12. <https://doi.org/10.3390/foods11060822>

- Rosmania, R., & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76–86. <https://doi.org/10.56064/jps.v22i2.564>
- Saetan, U., Nontasak, P., Palasin, K., Saelim, H., Wonglapsuwan, M., Mayakun, J., Pongparadon, S., & Chotigeat, W. (2021). Potential health benefits of fucoidan from the brown seaweeds *Sargassum plagiophyllum* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology*, 33(5), 3357–3364. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02491-3>
- 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. <https://doi.org/10.28932/jmh.v2i3.1235>
- Seiler, H., Schmidt, V., Wenning, M., & Scherer, S. (2012). *Bacillus kochii* sp. nov., isolated from foods and a pharmaceuticals manufacturing site. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(5), 1092–1097. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.027771-0>
- Setyawan, A., Isnansetyo, A., Murwantoko, Indarjulianto, S., & Handayani, C. R. (2018). Comparative immune response of dietary fucoidan from three indonesian brown algae in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *AACL Bioflux*, 11(6), 1707–1723.
- Setyawan, A., Juliasih, N. L. G. R., Darmawan, M., Susanto, G. N., & Sarida, M. (2023). Screening, characterization, and identification of fucoidanase producing bacteria from *Sargassum polycystum*. *AACL Bioflux*, 16(3), 1357–1371.
- Shi, D., Qi, J., Zhang, H., Yang, H., Yang, Y., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.127>
- Silchenko, A. S., Kusaykin, M. I., Kurilenko, V. V., Zakharenko, A. M., Isakov, V. V., Zaporozhets, T. S., Gazha, A. K., & Zvyagintseva, T. N. (2013). Hydrolysis of fucoidan by fucoidanase isolated from the marine bacterium, *Formosa algae*. *Marine Drugs*, 11(7), 2413–2430. <https://doi.org/10.3390/md11072413>
- Sinurat, E. (2011). Isolasi dan karakterisasi serta uji aktivitas fukoidan sebagai anti koagulan dari rumput laut coklat (*Sargassum crassifolium*). (Tesis Tidak Terpublikasi). Universitas Indonesia
- Sinurat, E., & Kusumawati, R. (2017). Optimasi metode ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi* sonder. *Jurnal Kelautan Dan Perikanan*, 12(2), 125–134.
- Souza, R. B., De Queiroz, I. N. L., da Silva Neto, A. A., Carneiro, J. G., Rodrigues, J. A. G., & Benevides, N. M. B. (2015). Analysis of two precipitation methods on the yield, structural features and activity of sulfated polysaccharides from *Gracilaria cornea* (Rhodophyta). *Acta Scientiarum*, 37(1), 31–39. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v37i1.24016>

- Subagiyo, Margino, S., Triyanto, & Setyati, W. A. (2015). Pengaruh pH, suhu dan salinitas terhadap pertumbuhan dan produksi asam organik bakteri asam laktat yang diisolasi dari intestinum udang penaeid. *Indonesian Journal of Marine Sciences*, 20(4), 187–194. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.4.187-194>
- Sugimoto, A., Koike, T., Kuboki, Y., Komaba, S., Kosono, S., Aswathy, M., Anzai, I., Watanabe, T., Toshima, K., & Takahashi, D. (2024). Synthesis of low molecular weight fucoidan analogue and its inhibitory activities against heparanase and SARS-CoV-2 infection. *Angewandte Chemie - International Edition*, 64, 1–7. <https://doi.org/10.1002/anie.202411760>
- Suresh, V., Senthilkumar, N., Thangam, R., Rajkumar, M., Anbazhagan, C., Rengasamy, R., Gunasekaran, P., Kannan, S., & Palani, P. (2013). Separation, purification and preliminary characterization of sulfated polysaccharides from *Sargassum plagiophyllum* and its in vitro anticancer and antioxidant activity. *Process Biochemistry*, 48(2), 364–373. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.12.014>
- 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., & Meyer, A. S. (2022). The endo- α (1,4) specific fucoidanase Fhf2 from *Formosa haliotis* releases highly sulfated fucoidan oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.823668>
- Triastinurmiartiningsih, Ismanto, & Ertina. (2011). Variasi morfologi dan anatomi *Sargassum* spp. di Pantai Bayah Banten. *Ekologia*, 11(2), 1–10.
- Tuller, J., De Santis, C., & Jerry, D. R. (2012). Dietary influence of fucoidan supplementation on growth of *Lates calcarifer* (bloch). *Aquaculture Research*, 45(4), 1–6. <https://doi.org/10.1111/are.12029>
- Utami, H., Sari, Z. S. M., Hanif, M., Darni, Y., Ginting, S. br, & Purba, E. (2023). Studi eksperimen isolasi fukoidan dari rumput laut *Sargassum binderi* Sonder: efek suhu dan waktu ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*, 29(2), 79–86. <http://ejournal.ft.unsri.ac.id/index.php/jtk>
- Vuillemin, M., Silchenko, A. S., Cao, H. T. T., Kokoulin, M. S., Trang, V. T. D., Holck, J., Ermakova, S. P., Meyer, A. S., & Mikkelsen, M. D. (2020). Functional characterization of a new GH107 Endo- α -(1,4)-fucoidanase from the marine bacterium *Formosa haliotis*. *Marine Drugs*, 18(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/MD18110562>
- Walid, M., & Darmawan, A. K. (2018). Sistem cerdas pendugaan salinitas air laut berdasarkan citra landsat menggunakan metode adaptive neuro fuzzy inference system (ANFIS). *Jurnal Buana Informatika*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.24002/jbi.v9i1.1283>

- Wang, C. Y., Wu, T. C., Hsieh, S. L., Tsai, Y. H., Yeh, C. W., & Huang, C. Y. (2015). Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from *Sargassum cristaeifolium*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 766–777. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.07.002>
- Wang, Y., Niu, D., Que, F., Li, Y., & Chen, Q. (2021). Low molecular weight fucoidan prepared by fucoidanase degradation – A promising browning inhibitor. *Lwt*, 148, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111739>
- Wang, Y., Xing, M., Cao, Q., Ji, A., Liang, H., & Song, S. (2019). Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: a review of recent studies. *Marine Drugs*, 17(3), 1–18. <https://doi.org/10.3390/md17030183>
- Widarsaputra, A. Y., Prawatya, Y. E., & Sujana, I. (2022). Response surface methodology (RSM) untuk optimasi pengolahan keripik nanas menggunakan mesin vacuum frying. *Industrial Engineering and Management System*, 6(2), 70–77. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jtinUNTAN/issue/view/>
- Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi Peralatan dan media kultur jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), 16–19. <https://doi.org/10.22146/a.77010>
- Xu, W., Cun, Y., & Hongxiang, P. (2023). Process optimization and antimicrobial effect of *Cytobacillus kochii* H protease. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 38(1), 47–57. <https://doi.org/10.19303/j.issn.1008-0384.2023.01.007>
- Yu, L., Xu, X., Xue, C., Chang, Y., Ge, L., Wang, Y., Zhang, C., Liu, G., & He, C. (2013). Enzymatic preparation and structural determination of oligosaccharides derived from sea cucumber (*Acaudina molpadioides*) fucoidan. *Food Chemistry*, 139, 702–709. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.055>
- Yuliana, C., Hertadi, R., & Wahyuningrum, D. (2019). Produksi dan optimasi biosurfaktan dari bakteri halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18. *Chemical Engineering Research Articles*, 2(2), 56–65.
- Yunita, M., Hendrawan, Y., & Yulianingsih, R. (2015). Analisis kuantitatif mikrobiologi pada makanan penerbangan (aerofood ACS) garuda indonesia berdasarkan TPC (total plate count) dengan metode pour plate. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 3(3), 237–248.
- Zainuddin, M., Pringgengies, D., Radjasa, O. K., Haeruddin, H., Sabdaningsih, A., & Herawati, V. E. (2022). Optimasi pH dan salinitas media kultur terhadap pertumbuhan dan aktivitas protease ekstraseluler bakteri *Bacillus firmus* dari ekosistem padang lamun Nusa Lembongan Bali. *Journal of Tropical Marine Science*, 5(2), 140–148. <https://doi.org/10.33019/jour.trop.mar.sci.v5i2.2862>
- Zhao, X., Guo, F., Hu, J., Zhang, L., Xue, C., Zhang, Z., & Li, B. (2016). Antithrombotic activity of oral administered low molecular weight fucoidan from *Laminaria Japonica*. *Thrombosis Research*, 144, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2016.03.008>