

**OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM PENGHASIL
FUKOIDANASE DARI BAKTERI *Cytobacillus kochii* GSD PADA KONDISI
SUHU YANG BERAGAM**

SKRIPSI

Oleh

**Rizqy Hadi Saputra
NPM 2114221010**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM PENGHASIL
FUKOIDANASE DARI BAKTERI *Cytobacillus kochii* GSD PADA KONDISI
SUHU YANG BERAGAM**

Oleh

Rizqy Hadi Saputra

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM PENGHASIL FUKOIDANASE DARI BAKTERI *Cytobacillus kochii* GSD PADA KONDISI SUHU YANG BERAGAM

Oleh

RIZQY HADI SAPUTRA

Berat molekul yang tinggi pada fukoidan dapat membatasi aktivitas biologis. Hidrolisis enzimatis menggunakan enzim fukoidanase dari bakteri dapat menjadi metode yang efisien untuk menghasilkan fukoidan dengan berat molekul yang lebih rendah. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi optimasi suhu lingkungan dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri penghasil fukoidanase, *Cytobacillus kochii* GSD, dan aktivitas enzim fukoidanase. Optimasi pertumbuhan bakteri dianalisis menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dan Spektrofotometri UV-Vis, dan aktivitas enzimatis fukoidanase diamati dengan adanya zona bening yang dihasilkan degradasi fukoidan menggunakan *cetylpyridinium chloride* (CPC) 10% (m/v). Hasil menunjukkan bahwa suhu 35°C optimal untuk pertumbuhan bakteri *C. kochii* GSD dengan kepadatan sel tertinggi mencapai $3,07 \times 10^8$ CFU/ml pada jam ke-48 jam. Bakteri *C. kochii* GSD memiliki fase pertumbuhan tertinggi dijam ke-48 pada suhu 35°C sebesar $3,93 \times 10^9$ CFU/ml. Aktivitas enzim bakteri *C. kochii* GSD, tertinggi pada jam ke-72 dengan aktivitas sebesar 30,88 mm. Bakteri *C. kochii* GSD memiliki potensi sebagai bakteri penghasil fukoidanase untuk menghasilkan oligosakarida serta diharapkan dapat meningkatkan produksi enzim fukoidanase pada bidang akuakultur dan kesehatan.

Kata kunci: *Cytobacillus kochii* GSD, Enzim Fukoidanase, Hidrolisis Enzimatis, Suhu.

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF FUCOIDANASE PRODUCING BACTERIA *Cytobacillus kochii* GSD TOWARD BACTERIAL GROWTH AND ENZYME ACTIVITY AT DIFFERENT TEMPERATURES

By

RIZQY HADI SAPUTRA

The high molecular weight of fucoidan limited its biological activity. Enzymatic hydrolysis using fucoidanase enzymes from bacteria served as an efficient method to produce fucoidan with lower molecular weight. This study aimed to evaluate the optimization of environmental temperature in enhancing the growth of fucoidanase-producing bacterium, *Cytobacillus kochii* GSD, and its fucoidanase enzyme activity. The optimization of bacterial growth was analyzed using the *Total Plate Count* (TPC) method and UV-Vis spectrophotometry, while fucoidanase enzymatic activity was observed through the clear zones formed by fucoidan degradation using 10% (m/v) *cetylpyridinium chloride* (CPC). The results showed that the temperature of 35°C was optimal for the growth of *C. kochii* GSD, with the highest cell density reaching 3.07×10^8 CFU/ml at the 48th hour. *C. kochii* GSD reached its highest growth phase at the 48th hour at 35°C, with a cell density of 3.93×10^9 CFU/ml. The highest enzyme activity of *C. kochii* GSD was observed at the 72nd hour, with a clear zone diameter of 30.88 mm. *C. kochii* GSD showed potential as a fucoidanase-producing bacterium for generating oligosaccharides and was expected to enhance fucoidanase production in aquaculture and health.

Keyword: *Cytobacillus kochii* GSD, Enzymatic Hydrolysis, Fucoidanase Enzyme, Temperature.

Judul skripsi : OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS
ENZIM PENGHASIL FUKOIDANASE DARI
BAKTERI *Cytobacillus kochii* GSD PADA
KONDISI SUHU YANG BERAGAM

Nama Mahasiswa : **Rizqy Hadi Saputra**

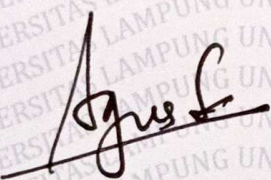
Nomor Pokok Mahasiswa : 2114221010

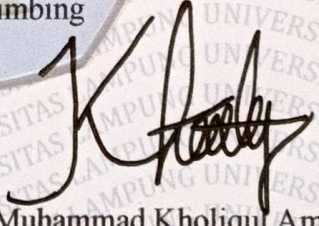
Program Studi : Ilmu Kelautan

Fakultas : Pertanian

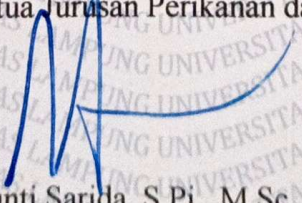


1. Komisi Pembimbing


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


Muhammad Kholiqui Amiin, S.Pi., M.Si.
NIP. 199407132022031010

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

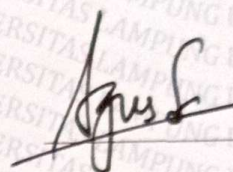

Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

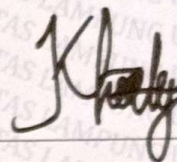
Ketua

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

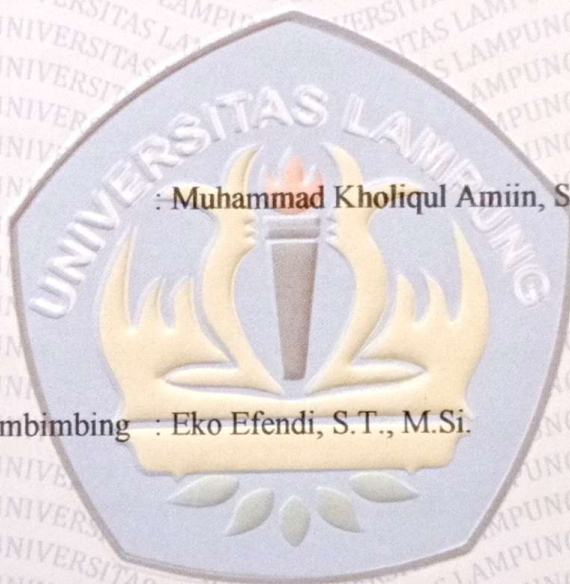
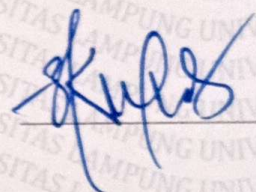


Sekretaris

: Muhammad Kholiqul Amiin, S.Pi., M.Si.



Penguji Bukan Pembimbing : Eko Efendi, S.T., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Tanggal lulus ujian skripsi: 14 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 **“Optimasi Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Penghasil Fukoidanase Dari Bakteri *Cytobacillus Kochii* GSD Pada Kondisi Suhu Yang Beragam”** 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, Juni 2025

Yang membuat pernyataan



Rizqy Hadi Saputa
NPM. 2114221010

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung, pada tanggal 06 Januari 2003 sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Tarmizi Syarif dan Ibu Amanah.

Penulis menempuh Pendidikan formal di Taman Kanak-kanak Dwi Karsa, Bandar Lampung, Lampung pada tahun 2007-2009, kemudian melanjutkan Pendidikan dasar di SD Negeri 1 Langkapura, Bandar Lampung, Lampung pada tahun 2009-2015.

Penulis lalu menempuh Pendidikan menengah pertama di SMPN 26 Bandar Lampung pada tahun 2015-2018, dan Pendidikan menengah atas di SMAN 16 Bandar Lampung 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 melalui jalur SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (HIMAPIK) sebagai anggota pada periode 2022/2023.

Penulis juga pernah menjadi asisten dosen pada beberapa mata kuliah, yaitu Renang pada tahun 2022/2023, Avertebrata Laut pada tahun 2022/2023, Botani Laut pada tahun 2023/2024, Mikrobiologi Laut pada tahun 2023/2024, Oseanografi Perikanan pada tahun 2024/2025, dan Bioteknologi Laut pada tahun 2024/2025. Penulis pernah

mengikuti magang mandiri selama satu bulan pada tahun 2022 di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung, Provinsi Lampung. Penulis juga bergabung sebagai tim pelaksana dalam Program Penguatan Kapasitas Organisasi Kemahasiswaan (PPK Ormawa) dan lolos pendanaan KEMENDIKBUDRISTEK pada tahun 2023.

Pada bulan Januari hingga Februari 2024, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Sri Tunggal, Kecamatan Buay Bahuga, Kabupaten Way Kanan, Provinsi Lampung. Penulis juga telah melaksanakan kegiatan Praktik Umum di Laboratorium Produktivitas Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung selama 30 hari pada bulan Juli 2024 dan menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Optimasi Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Penghasil Fukoidanase Dari Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD Pada Kondisi Suhu Yang Beragam”

Kepada orang tua tercinta, Bapak Tarmizi Syarif dan Ibu Amanah yang tiada henti
mendoakan, memberikan dukungan serta motivasi.

SANWACANA

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

Skripsi dengan judul “Optimasi Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Penghasil Fukoidanase Dari Bakteri *Cytobacillus Kochii* GSD Pada Kondisi Suhu Yang Beragam” 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 FP Unila;
2. Munti Sarida, S.Pi., M.Si., Ph.D selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan;
3. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P selaku Dosen Pembimbing Utama;
4. Muhammad Kholiqul Amiin, S.Pi., M.Si selaku Dosen Pembimbing Kedua;
5. Eko Efendi, S.T., M.Si selaku Koordinator Program Studi Ilmu Kelautan sekaligus Penguji Utama;
6. Anma Hari Kusuma, S.I.K., M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik
7. Tarmizi Syarif dan Amanah selaku orang tua penulis serta keluarga besar;
8. Wanda Andella Putri, Alifia Adibila Nurhalisa, Assyifa Nur Haliza, dan Dwi Okta Viani selaku tim riset RIIM IV-BRIN

Bandar Lampung, 23 Juni 2025

Rizqy Hadi Saputra

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Kerangka Pikir Penelitian	5
1.6 Hipotesis Penelitian.....	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 <i>Sargassum</i> sp.....	9
2.3 Fukoidan.....	13
2.4 Enzim Fukoidanase	13
2.5 Bakteri Penghasil Fukoidanase	14
2.6 Hidrolisis Enzimatis.....	15
2.7 Kondisi Suhu Saat Pertumbuhan Bakteri.....	16
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat	17
3.2 Bahan dan Alat.....	17
3.3 Rancangan Penelitian	21
3.4 Prosedur Penelitian.....	22
3.4.1 Pengambilan dan Pengeringan Sampel.....	23
3.4.2 Ekstraksi Fukoidan	23
3.4.3 Cek Sediaan Bakteri	24
3.4.4 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	24
3.4.5 Inokulasi Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> (GSD).....	25

3.4.6 Pembuatan Media <i>Tryptone Soy Agar</i> (TSA).....	26
3.4.7 Pembuatan Media <i>Tryptone Soy Broth</i> (TSB).....	27
3.4.8 Pengenceran Bertingkat Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	27
3.4.9 Uji Optimasi Suhu	28
3.4.10 Uji Optimasi Fase Pertumbuhan Bakteri	28
3.4.11 Perhitungan Bakteri di Cawan Petri	29
3.4.12 Perhitungan Bakteri di Spektrofotometer	29
3.4.13 Uji Aktivitas Fukoidanase	30
3.5 Analisis Data	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Hasil	32
4.1.1 Karakteristik Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> (GSD)	32
4.1.2 Karakterisasi Fukoidan <i>S. polycystum</i>	33
4.1.2.1 Rendemen Fukoidan.....	33
4.1.2.2 <i>Fourier Transformed Infra-Red</i> (FT-IR)	33
4.1.3 Uji Optimasi Suhu Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> (GSD)	34
4.1.3.1 Kepadatan Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD.....	34
4.1.3.2 Laju Pertumbuhan Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	35
4.1.3.3 Uji Aktivitas Enzimatis di Suhu Optimal	38
4.2 Pembahasan.....	39
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	48
5.1 Simpulan	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	7
2. <i>Sargassum polycystum</i> (Agardh, 1824)	10
3. <i>Cytobacillus kochii</i>	11
4. Alur penelitian.....	22
5. Ilustrasi gambar inokulasi <i>streak plate</i> dicawan petri.....	25
6. Ilustrasi gambar inokulasi <i>streak plate</i> 4 kuadran dicawan petri.....	26
7. Ilustrasi gambar pengenceran bertingkat	28
8. Ilustrasi gambar suspensi bakteri kedalam media agar	28
9. Spektrum FT-IR fukoidan <i>S. polycystum</i>	33
10. Kepadatan bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD dengan perbedaan suhu.....	34
11. Fase pertumbuhan bakteri <i>C. kochii</i> GSD disuhu 26.5°C.....	35
12. Fase pertumbuhan bakteri <i>C. kochii</i> GSD disuhu 30°C.....	36
13. Fase pertumbuhan bakteri <i>C. kochii</i> GSD disuhu 35°C.....	36
14. Fase pertumbuhan bakteri <i>C. kochii</i> GSD disuhu 40°C.....	37
15. Fase pertumbuhan bakteri <i>C. kochii</i> GSD disuhu 43,4°C.....	38
16. Zona bening yang dihasilkan bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	39
17. A. Zona bening setelah diberikan CPC 10% disuhu 35°C, B. Tidak ada zona bening setelah diberikan akuades disuhu 35°C.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan dalam penelitian.....	17
2. Bahan yang digunakan dalam penelitian.....	19
3. Karakteristik koloni bakteri.....	31
4. Rendemen fukoidan pada <i>Sargassum polycystum</i> (%)	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pengujian statistik	57
2. Proses ekstraksi fukoidan dari <i>Sargassum polycystum</i>	66
3. Dokumentasi ekstraksi fukoidan	67
4. Pengujian pertumbuhan bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	68
5. Hasil pewarnaan gram bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	69
6. Pengujian aktivitas enzimatis dengan suhu optimal	70
7. Perhitungan rendemen fukoidan	70
8. Perhitungan pengenceran bahan ekstraksi fukoidan.....	71

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Sumberdaya di area pesisir memiliki peranan penting seperti sumber makanan, kawasan agrobisnis dan agroindustri, rekreasi serta pariwisata (Puja et al., 2024). Berbagai keragaman sumberdaya di area pesisir memiliki nilai komersial tinggi diantaranya ikan, kerang, dan makroalga (Ayhuan et al., 2018). Sekitar 6000 spesies makroalga yang ditemukan di dunia dan di Indonesia memiliki 628 spesies yang tersebar di perairan dangkal tropis (Setiawati et al., 2017; Dimpos et al., 2022). Kementerian Kelautan dan Perikanan (2023) mencatat produksi makro-alga mencapai 9,23 juta ton, termasuk spesies seperti *Gracilaria* sp., *Haliminea* sp., *Gelidium* sp., dan *Sargassum* sp.

Sargassum sp. merupakan alga coklat yang tersebar di perairan tropis dan subtropis, berperan penting pada ekosistem pesisir (Nurhidayati et al., 2020). *Sargassum* sp. memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami yang mengandung alginat dan fukoidan, komponen bioaktif dengan aktivitas antioksidan, antikanker, dan antikoagulan yang bermanfaat bagi industri kesehatan (Yang et al., 2021). Dalam proses ekstraksi fukoidan dipengaruhi oleh spesies alga, musim, lokasi tumbuh, dan umur panen (Sinurat & Kusumawati, 2017). Fukoidan merupakan polisakarida tersulfasi kompleks yang berperan sebagai penyusun utama dinding sel alga coklat. Komponen utama fukoidan terdiri dari L-fukosa sulfat, dan juga mengandung berbagai monosakarida lainnya, seperti galaktosa, *mannosa*, *xilosa* dan glukosa.

Fukoidan dalam rumput laut coklat cukup tinggi, mencapai sekitar 25-30% dari berat rumput laut setelah dikeringkan (Chadwick et al., 2025). Berat molekul

fukoidan menunjukkan variasi yang sangat besar, mulai dari 43-1600 kDa. Menurut Pozharitskaya et al. (2020), perbedaan karakteristik fukoidan berasal dari kandungan sulfat (9%-40%), fukosa (25%-93%), dan asam uronat (>25%). Pengaruh berat molekul fukoidan dari *Fucus vesiculosus* dapat dijadikan sebagai agen anti-mikroba dan anti-kanker (Cabral et al., 2021), fukoidan dari *Sargassum hemiphyllum* menunjukkan kemampuannya sebagai terapi anti-kanker (Sung et al., 2022), serta fukoidan dari *Sargassum fusiforme* memiliki efek anti-inflamasi (Javed et al., 2024). Manfaat fukoidan tentu memiliki potensi secara biologis, namun terdapat pernyataan menurut Wu et al. (2025) bahwa fukoidan dengan berat molekul lebih tinggi dapat menyebabkan risiko penggumpalan darah. Didukung dengan pernyataan menurut Vulliemin et al. (2020); Ramos de le pana (2022), sifat fukoidan dengan berat molekul tinggi menjadi hambatan besar dalam persetujuan peraturan dalam bidang klinis kesehatan serta penerapan dalam produk makanan sangat terbatas karena adanya aroma tidak sedap yang dihasilkan gugus aldehida dan asam lemak (Khalafu et al., 2017).

Fukoidan dengan berat molekul rendah (*Low molecular weight fucoïdan*) (LMWF) diperoleh dari *Sargassum* sp. LMWF menunjukkan sifat prebiotik yang dapat difermentasi mikrobiota usus, memberikan berbagai efek fisiologis, efektif dalam produk kesehatan dan industri (Wang & Chen, 2016). Berdasarkan hasil penelitian Haggag et al. (2023), LMWF dapat digunakan secara oral sebagai agen anti-inflamasi dan penekan stres oksidatif dalam pengelolaan tukak lambung. Diperkuat dengan pernyataan Cui et al. (2015) LMWF didapati sitotoksitas lebih tinggi pada beberapa garis sel kanker manusia dibandingkan dengan fukoidan molekul tinggi, dapat melindungi fungsi endotel, memperbaiki hipertensi, dan mengurangi komplikasi kardiovaskular. Beberapa penelitian mendukung bahwa fukoidan dengan molekul rendah lebih baik dibandingkan molekul tinggi, seperti dilaporkan Zhao et al. (2016) menyatakan fukoidan dengan berat molekul rendah (LMWF) yang diekstrak dari *Laminaria japonica* menunjukkan penyerapan dan bio-availabilitas oral yang lebih baik dibandingkan fukoidan dengan berat molekul sedang (*medium molecular weight fucoïdan*) (MMWF). Fukoidan dengan berat

molekul rendah dapat secara efektif meningkatkan tingkat pengendalian penyakit pasien dengan kanker kolorektal metastatik sebesar 92,8% melalui terapi adjuvant (Tsai et al., 2017). Aktivitas imunologis menurut pernyataan Nguyen et al. (2024) berada pada rentang 13,5 kDa hingga 40 kDa, sehingga pemutusan ikatan glikosidik pada fukoidan untuk menjadi LMWF dapat dilakukan menggunakan enzim fukoidanase (Barzkar et al., 2023).

Proses pemutusan ikatan glikosidik dapat dilakukan melalui metode hidrolisis enzimatis dengan memanfaatkan bakteri penghasil enzim fukoidanase. Hidrolisis enzimatis berfungsi menyelidiki struktur fukoidan serta pembentukan oligomernya (Kusaykin et al., 2016). Enzim fukoidanase dihasilkan dari berbagai organisme laut seperti bakteri, jamur, alga, moluska (Barzkar et al., 2023). Beberapa penelitian telah berhasil mengidentifikasi enzim ini dari berbagai spesies mikroorganisme. Barzkar et al. (2022) melaporkan keberadaan enzim fukoidanase terdapat pada spesies *Vibrio* sp. Adapun penelitian yang dilakukan oleh Darmawan (2023) menemukan tiga jenis bakteri penghasil fukoidanase yang diisolasi dari *Sargassum polycystum*, yaitu bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD), *Bacillus cereus* (PTF), dan *Brevibacterium sediminis* (PSA).

Pemanfaatan bakteri penghasil enzim fukoidanase untuk keperluan komersial dapat dilakukan menggunakan berbagai uji optimasi lingkungan maupun media seperti suhu, pH, salinitas, co-substrat serta nitrogen. Suhu merupakan faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan, metabolisme, dan aktivitas mikroorganisme, termasuk fase pertumbuhan bakteri, kepadatan sel, kebutuhan nutrisi, aktivitas enzim, serta komposisi selnya (Jiwintarum et al., 2021). Beberapa pertumbuhan bakteri seperti *Bacillus firmus* berada direntang suhu optimal 30°C (Zainuddin et al., 2022), bakteri *Cytobacillus oceanisediminis* NB2 berada direntang suhu optimal 37°C (Yadav et al., 2022). Aktivitas enzimatis pada bakteri penghasil fukoidanase telah diteliti untuk mengetahui skala kapabilitas enzim fukoidanase dalam memecah fukoidan menjadi oligosakarida dengan berat molekul rendah (Kusaykin et al., 2016). Bakteri *Cobetia amphilecti* menghasilkan enzim fukoidanase disuhu optimal 30°C

(Liu et al., 2023), dan bakteri *Muricauda eckloniae* disuhu optimal 37°C (Mikkelsen et al., 2023).

Adanya potensi bakteri simbiosis penghasil fukoidanase *Cytobacillus kochii* GSD yang diperoleh dari *Sargassum polycystum* sampai saat ini belum ada pengetahuan ilmiah yang tersedia mengenai pengoptimalan pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait optimasi suhu terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD agar dapat tumbuh secara optimal.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang dihasilkan adalah:

1. Berapa suhu yang optimal untuk pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD)?
2. Bagaimana pengaruh suhu optimal terhadap aktivitas enzim fukoidanase yang dihasilkan oleh bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD)?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan sebagai berikut:

1. Menganalisis pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD) dengan suhu yang optimal.
2. Menganalisis aktivitas enzim fukoidanase pada suhu optimal yang dihasilkan bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD).

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian yang dihasilkan adalah:

1.4.1 Manfaat Secara Ilmiah

1. Dapat memberikan informasi dari optimasi suhu yang optimal bagi pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD) dalam memproduksi enzim fukoidanase dari ekosistem laut yang bersimbiosis antara mikroorganisme laut dengan makroalga.
2. Dapat dijadikan referensi untuk penelitian lebih lanjut dalam bidang bioteknologi serta dapat mengoptimalkan enzim fukoidanase guna aplikasi komersial yang lebih luas.

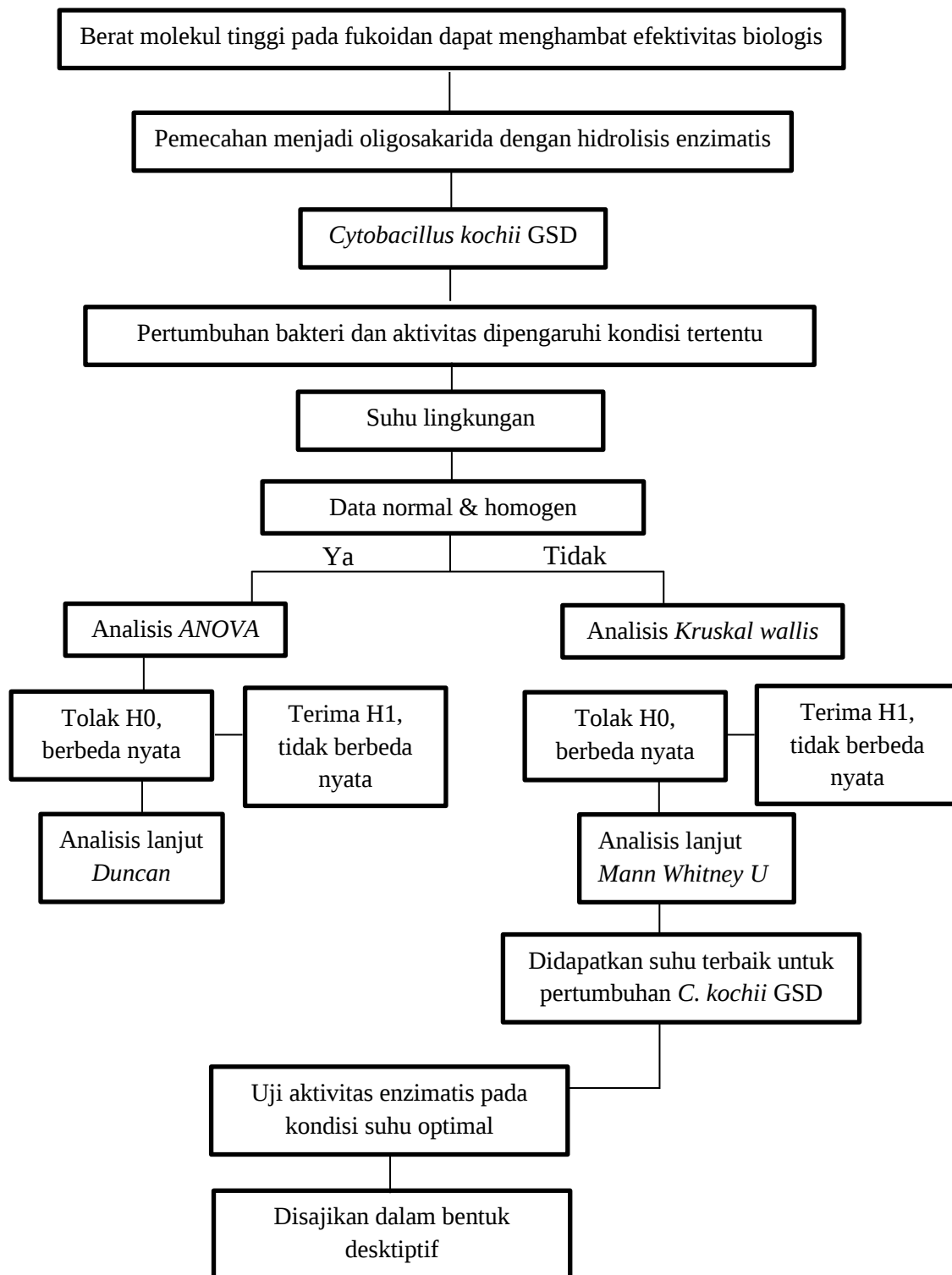
1.4.2 Manfaat Secara Praktis

Dapat dijadikan sebagai potensi untuk bidang perikanan sebagai immunostimulan dalam menjaga kestabilan respon imun terhadap udang vanname dan kerapu cantang.

1.5 Kerangka Pikir Penelitian

Komponen polisakarida yang berasal dari fukoidan memiliki berat molekul tinggi sehingga menjadi hambatan besar dalam peran efektivitas biologis dan persetujuan peraturan dalam bidang klinis kesehatan dan bidang lainnya. Untuk menguraikan molekul menjadi bentuk yang lebih sederhana, yaitu oligosakarida, diperlukan metode hidrolisis enzimatis. Hidrolisis enzimatis memerlukan keberadaan bakteri penghasil fukoidanase untuk mereduksi fukoidan. Telah ditemukan bakteri simbiosis yang memiliki aktivitas enzim fukoidanase tertinggi di *Sargassum polycystum* yaitu bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD) (Darmawan, 2023). Keberadaan Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD memerlukan kondisi lingkungan yang optimal guna mendukung laju pertumbuhan serta aktivitas enzimatisnya. Suhu merupakan salah

satu parameter lingkungan yang berperan signifikan dalam mengatur efisiensi metabolisme dan kinerja enzim bakteri. Pengujian optimasi suhu menggunakan suhu 26,5 °C; 30 °C; 35 °C; 40 °C dan 43,4 °C serta dilakukan uji aktivitas fukoidanase terhadap pertumbuhan bakteri pada suhu yang optimal. Data akan dianalisis menggunakan spss versi 27 dengan analisis *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) menggunakan perangkat lunak SPSS versi 27 untuk menguji adanya perbedaan antar berbagai suhu. Jika hasil analisis asumsi menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen, maka analisis dilanjutkan dengan analisis *Duncan* untuk menentukan perbedaan signifikan antar perlakuan suhu. Apabila data tidak berdistribusi normal atau tidak memenuhi asumsi homogenitas varians, maka digunakan analisis non-parametrik sebagai alternatif, yaitu analisis *Kruskal-Wallis*, yang kemudian dilanjutkan dengan analisis *Mann-Whitney U* untuk mengetahui kelompok suhu yang memiliki perbedaan signifikan. Selanjutnya data yang didapati dari uji aktivitas enzimatis akan ditabulasi kedalam bentuk grafik serta dianalisis secara deksriptif (Gambar 1).



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

1.6 Hipotesis Penelitian

Pada penelitian ini, menggunakan hipotesis sebagai berikut:

1. Pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD

H0: $\tau_i = 0$: Semua perlakuan suhu memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.

H1: $\tau_i \neq 0$: Minimal terdapat satu perlakuan suhu memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum* sp.

Sargassum sp. merupakan alga coklat kelas *Phaeophyceae* dan tumbuh pada sebagian besar perairan laut di Indonesia (Safitri et al., 2021). Beberapa temuan jenis *Sargassum* sp. yang berada di perairan Indonesia yaitu *Sargassum duplicatum*, *S. hystrix*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. microphyllum*, dan *S. Polyceratium* (Lestari, 2016). *Sargassum* sp. memiliki karakteristik seperti berwarna coklat, tumbuh pada substrat dasar yang kuat dengan *thallus* berbentuk silindris, bagian daunnya melebar, lonjong atau menyerupai pedang, gelembung udara (*bladder*) biasanya soliter serta panjang *thallus* dapat mencapai tujuh meter (Hidayat et al., 2018). *Sargassum* sp. biasanya tumbuh di antara arus dan ombak pada kedalaman sekitar 0,5 hingga 10 meter. Warna *Sargassum* sp berasal dari kandungan pigmen seperti fucoxanthin, klorofil a dan c, dan xantofil (Lutfiawan et al., 2015).

Sargassum sp. memainkan peran penting dalam kehidupan ekosistem laut. Secara ekologis, menurut pernyataan Ibrahim et al. (2015) *Sargassum* sp. berkontribusi sebagai tempat perlindungan, mencari makan, dan asuhan bagi biota kecil, termasuk epifauna. Di balik peran ekologis dan biologisnya dalam menjaga stabilitas ekosistem laut dan memberikan perlindungan bagi biota lain, *Sargassum* sp. memiliki kandungan berupa alginat dan iodine yang digunakan pada industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Mazumder et al., 2016; Nadi et al., 2019). Alginat merupakan polimer linier organik yang terdiri dari polisakarida, monomer - L asam guluronat (G) dan -D asam mannuronat (M), atau kombinasi dua monomer (Wulandari, 2022). Dari sudut pandang lain banyaknya *Sargassum* sp. di perairan Indonesia tidak menutupi adanya

sumberdaya yang merata. Di perairan Lampung hanya ada spesies *Sargassum* sp. yaitu salah satunya *Sargassum polycystum*. Adapun klasifikasi menurut pernyataan Agardh, (1824) sebagai berikut:

Divisi : Phaeophyta

Kelas : Phaeophyceae

Ordo : Fucales

Famili : Sargassaceae

Genus : *Sargassum*

Spesies : *Sargassum polycystum*



Gambar 2. *Sargassum polycystum* (Agardh, 1824)
Sumber: (algaebase.org)

Sargassum polycystum memiliki ciri khas yang tidak dimiliki oleh *Sargassum* sp. lain yaitu adanya nodul (tonjolan) atau duri pada *thallus* serta mempunyai *holdfast*, *stipe* serta *blade* (Ghazali, 2023). *Sargassum polycystum* yang tumbuh secara alami di habitat perairan laut. Warna coklat keemasan merupakan hasil dari dominasi pigmen *fucoxanthin*, yang merupakan karakteristik utama alga coklat dari kelas *Phaeophyceae*. Struktur bercabang dari *Sargassum polycystum* berperan sebagai habitat mikro bagi berbagai organisme laut kecil seperti krustasea, moluska, dan ikan juvenil. S.

polycystum tidak hanya penting sebagai produsen primer, tetapi juga menyediakan perlindungan dan sumber makanan bagi biota lainnya (Andirasdini et al., 2023).

2.2 *Cytobacillus kochii*

Menurut GBIF Secretariat (2023) klasifikasi *Cytobacillus kochii* yaitu:

Domain : Bacteria

Filum : Bacillota

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Bacillaceae

Genus : *Cytobacillus*

Spesies : *Cytobacillus kochii*



Gambar 3. *Cytobacillus kochii*

Sumber: (Xuewen et al., 2023)

Bacillus kochii pertama kali dicetuskan oleh Robert Koch, seorang ahli mikrobiologi yang terkenal dengan upaya besarnya untuk menemukan *Bacillus anthracis* (Seiler et al., 2012). Bakteri tersebut termasuk kedalam gram positif (Balai Veteriner Lampung, 2024). Sel vegetatif pada flagella berukuran 0,5 hingga 0,863–13 μm . Koloni berwarna putih kekuningan, berbentuk bulat dan memiliki bau yang tidak sedap. Diameter koloni berkisar antara 3–5 mm. Aktivitas oksidase menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus kochii* tumbuh dengan cara aerob, namun tidak menghasilkan *hydroxyacetone*, melainkan memetabolisme glukosa dan hidrogen sulfida. *Bacillus kochii* mampu menghidrolisis kasein, DNA, dan gelatin, yang mendukung

pertumbuhannya. Terdapat bakteri yang memiliki kesamaan karakteristik. Bakteri tersebut menjadi salah satu kandidat pendegradasi fukoidanase yaitu bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.

Cytobacillus kochii merupakan salah satu jenis bakteri yang dapat menjadi kandidat pendegradasi fukoidanase. Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD berasal dari isolasi dengan metode sebar *thallus* (GS) diperoleh dari 4 isolat bakteri yang di beri kode isolat GSB, GSC, GSD, dan PSA (Darmawan, 2023), dengan indeks uji aktivitas fukoidanase kualitatif sebesar $10,66 \pm 2,26$ pada isolat GSD. Penggunaan sumber karbon seperti glukosa dan maltosa dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri, yang terlihat dari aktivitas protease. Selain itu, bakteri juga menunjukkan aktivitas nitrogen ketika diberi epton, ragi, KNO_3 serta NaNO_3 (Xuewen et al., 2023).

Bakteri *Cytobacillus kochii* memiliki kemampuan untuk menghasilkan protease. Enzim protease yang mengubah ikatan peptida dari protein menjadi oligopeptida dan asam amino. (Xuewen et al., 2023). Mengenai pertumbuhan kurva bakteri, *strain Cytobacillus kochii* memiliki tingkat aktivitas protease tertinggi dalam kurun waktu 24 jam dan 48 jam dengan ciri khas memiliki bau yang tidak sedap pada bakteri, berwarna putih kekuningan, berbentuk bulat, dan termasuk golongan Gram positif (Xuewen et al., 2023). Penelitian sebelumnya oleh Darmawan (2023) menunjukkan bahwa setelah 48 jam dan 72 jam, isolat GSD (*Cytobacillus kochii*) memiliki aktivitas fukoidanase tertinggi, yaitu 0,1475 U/ml dan 0,1877 U/ml. Berbagai strain bakteri menunjukkan waktu yang berbeda ketika memasuki fase kematian, dan penurunan aktivitas enzim terjadi karena autolisis, yaitu proses penurunan aktivitas bakteri akibat kerusakan sel dan protein (Xuewen et al., 2023). Dibuktikan terdapat beberapa kesamaan karakteristik *Bacillus kochii* yang ada pada *Cytobacillus kochii* GSD seperti koloni berwarna krem, memiliki bau tidak sedap, Gram positif, morfologi berbentuk bulat serta adanya indikasi beberapa sumber karbon terhadap pertumbuhan bakteri.

2.3 Fukoidan

Fukoidan merupakan polisakarida tersulfat dengan L-fukosa dan sulfat sebagai komposisi utamanya (Kusaykin et al., 2016). Fukoidan dapat disebut dengan berbagai nama seperti fukan, galaktofukan tersulfat, atau uronofukoidan. Banyaknya jenis nama, didapatkan sebuah aktivitas biologis diantaranya aktivitas antikoagulan, antioksidan, antikanker dan berperan penting sebagai penangkap radikal bebas, yang dapat mencegah kerusakan oksidatif pada organisme hidup (Khalafu et al., 2017) dan umumnya ditemukan di rumput laut coklat dan beberapa echinodermata laut, termasuk bulu babi dan teripang. Selain tersulfasi dengan fukosa dan sulfat, fukoidan juga mengandung monosakarida lain seperti manosa, galaktosa, glukosa, *xilosa*, dan asam glukuronat (Wang et al., 2021).

Salah satu dari banyak bioaktivitas yang terkandung dalam polisakarida fukoidan adalah aktivator sel NK (*natural killer*), dan sistem kekebalan alami tubuh (Darmawan, 2023). Menurut Sanjeevaa et al. (2019) fukoidan juga memiliki kemampuan untuk meredakan infeksi bakteri sehingga penurunan kemurnian molekul rendah dan viskositas dapat menunjukkan resistensi terhadap aktivitas transformasi sel (Choi & Kim, 2015). Struktur fukoidan juga dipengaruhi oleh banyak variabel, termasuk jenis alga, waktu panen, musim, tahap pertumbuhan, arus laut, kecerahan, salinitas, suhu, dan kedalaman (Sinurat & Kusumawati, 2017).

2.4 Enzim Fukoidanase

Fukoidanase yang sebelumnya disebut sebagai *αL-fucosidases*, memiliki kemampuan untuk diekstraksi sebagai metabolit ekstraseluler dan intraseluler. Fukoidanase sebagai enzim juga berperan dalam mengkatalis fukoidan dan polisakarida yang tersulfasi (Barzkar et al., 2023). Struktur fukoidanase terbagi dalam dua tahap yaitu endo dan ekso. Endo-fukoidanase dapat memecahkan ikatan glikosida dalam molekul fukoidan dan menghasilkan oligosakarida dengan berbagai tingkat polimerisasi. Molekul fukoidan nonsulfat atau sulfat dapat dilepaskan dari ujung

fukoidan yang tidak mereduksi oleh ekso-fukoidanase (Kusaykin et al., 2015). Enzim tersebut termasuk dalam ikatan endo- α (1,3) fukoidanase (ikatan endo- α 1,3-l-fukanase; EC 3.2.1.211) dan ikatan endo- α (1,4)-fukoidanase (ikatan endo- α -1,4-l-fukanase; EC 3.2.1.212) dimana molekul tersebut berhubungan dengan hidrolase glikosida yang terdapat pada substrat fukoidan dengan memiliki karakteristik glikosidik, pola sulfasi dan asetilasi (Mikkelsen et al., 2023). Ikatan tersebut tergolong kompleks serta lazimnya terbilang heteropolisakarida sehingga klasifikasi fukoidanase cukup rumit (Darmawan, 2023). Menurut penjelasan Takayama et al., (2002) menemukan dua fukoidanase tambahan dari *Alteromonas* sp. SN-1009, yang memperluas jaringan struktural. Jaringan struktural ini termasuk gen FcnA (CAI47003.1) dari *M. fukanivorans* SW5T, gen Fda1 (AAO00508.1) dan Fda2 (AAO00509.1) dari *Alteromonas* sp. SN-1009, dan gen SVI_0379 (BAJ00350.1) dari *Shewanella violacea* DSS.

Pengoptimalan aktivitas bakteri dari enzim tersebut tidak terlepas dari kondisi lingkungan. Menurut Liu et al., (2023) menyatakan aktivitas fukoidanase dengan menentukan stabilitas hidup bakteri berada dalam rentang suhu 20–50°C serta pH 5–10. Dalam hal optimum pH yang ideal untuk endo-fukoidanase yaitu *Lambis* sp. (Silchenko et al., 2016). Adapun seperti bakteri laut *Formosa algae* KMM 3553 hidup kisaran pH yang luas yaitu 6,5-9,1 (Silchenko et al., 2016).

2.5 Bakteri Penghasil Fukoidanase

Enzim yang mampu menghidrolisis ikatan glikosidik antara residu α -L-fukosa tersulfat dalam molekul fukoidan disebut fukoidanase. Berdasarkan data CAZy, terdapat beberapa urutan asam amino fukoidanase yang telah diidentifikasi dari berbagai bakteri laut, di antaranya ditemukan pada bakteri *Wenylingzhuangia fucanilytica* CZ1127T yang dapat menghidrolisis fukoidan *Fucus evanescens* dengan berat 160 kDa menjadi 88,78 kDa, ZU98,16 kDa, 106,91 kDa, dan 88,83 kDa (Zueva et al., 2020). Selain itu, bakteri laut strain *Formosa* KMM 3553, yang diisolasi dari alga coklat mensintesis enzim α -L-fukanase dengan aktivitas endo-spesifik dan

memecah ikatan 1,4 dalam molekul fukoidan. Enzim fukanase ini mampu menghasilkan fuko-oligosakarida tersulfasi, yang diketahui memiliki aktivitas imunomodulasi (Silchenko et al., 2015).

Beberapa enzim fukoidanase dapat ditemukan di organisme laut lainnya (Vuillemin et al., 2020) seperti bakteri, *invertebrata*, dan beberapa jamur dengan spesies *Vibrio* sp. (Barzkar et al., 2022), *Pseudoalteromonas* sp. Didapati pula bakteri laut *Fucanobacter lyticus* yang diisolasi dari *Sargassum* sp. yang termasuk dalam genera *Fucales* dan *Chordariales* dan terbukti efektif untuk hidrolisis fukoidan (Barzkar, 2023).

2.6 Hidrolisis Enzimatis

Adanya perbedaan dari beberapa metode enzimatis seperti hidrolisis fisik (tekanan tinggi, iradiasi, plasma dingin, ultra-sonik atau cahaya berdenyut dan medan listrik), dan kimia (glikosilasi, asilasi, deamidasi, fosforilasi atau hidrolisis pada pH ekstrem) menyebabkan perubahan struktur protein secara signifikan, dan tidak ramah lingkungan (Samel & Wojciechowski, 2024). Sehingga untuk memecah fukoidan menjadi fukoidanase dapat menggunakan enzimatis. Dilaporkan bahwa fukoidanase memiliki kemampuan untuk mendegradasi fukoidan sebesar 98% melalui hidrolisis enzimatis selama dua jam (Hifney et al., 2018).

Fukoidan yang dihasilkan dari degradasi enzimatis ditemukan lebih aman dari sisa reagen berbahaya, sehingga dapat digunakan pada makanan fungsional (Lahrsen et al., 2018). Proses hidrolisis enzimatis berfungsi menyelidiki struktur fukoidan serta pembentukan oligomernya (Kusaykin et al., 2016). Enzim tersebut bekerja secara tertentu pada satu jenis ikatan dalam molekul polimer dan digunakan untuk depolimerisasi fukoidan.

2.7 Kondisi Suhu Saat Pertumbuhan Bakteri

Pertambahan jumlah atau volume sel dan ukurannya disebut pertumbuhan. Organisme seperti bakteri mengalami peningkatan volume, ukuran, dan jumlah sel. Kondisi peningkatan bakteri dapat di analisis melalui empat fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Saraswati et al., 2021). Pola pertumbuhan ini mengarah pada perkembangan sel bakteri. Untuk menunjang pertumbuhan bakteri diperlukan nutrisi yang memadai. Menurut pernyataan Karo et al. (2024), nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhannya terdiri dari karbon, nitrogen, unsur non-logam seperti sulfur, fosfor, unsur logam seperti Ca, Zinc, Na, K, Cu, Mn, Mg, Fe, vitamin, air, dan energi.

Selain nutrisi yang diperlukan dalam menunjang perkembangan bakteri, beberapa faktor penting lainnya seperti optimasi lingkungan meliputi suhu, pH serta salinitas memainkan peran penting akan hal metabolisme pertumbuhan bakteri (Zainudddin et al., 2022). Dalam optimasi suhu, dapat mempengaruhi daya tahan pertumbuhan sel. Ada beberapa jenis bakteri yang dapat hidup pada suhu tertentu, seperti bakteri psikrofilik, mesofilik, dan termofilik. Bakteri psikrofilik dapat hidup dengan suhu 0-19°C, bakteri mesofilik dapat tumbuh pada suhu antara 25-40°C dengan suhu optimal 37°C (Gemilang, 2023). Apabila suhu rendah dapat memperlambat metabolisme kinerja pertumbuhan sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat mendenaturasi protein enzim.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Adapun waktu dan tempat dilaksanakan yaitu:

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret 2024 - Januari 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan stok bakteri enzim fukoidanase yang berasal dari *Sargassum polycystum* yaitu bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD). Analisis optimasi serta pengujian aktivitas fukoidanase dilakukan di laboratorium Produktivitas Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan Alat digunakan untuk menunjang pelaksanaan penelitian di laboratorium Produktivitas Perairan, Universitas Lampung (tabel 1 & 2)

Tabel 1. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Bahan	Konsentrasi	Spesifikasi	Kegunaan
1.	<i>Trypticase Soy Agar</i>	40 gr/L	Himedia	Untuk pembuatan media padat.
2.	<i>Trypticase Soy Broth</i>	30 gr/L	Himedia	Untuk pembuatan media cair guna merekultur bakteri.

No	Bahan	Konsentrasi	Spesifikasi	Kegunaan
3.	Spirtus	-	Teknis	Untuk larutan sterilisasi.
4.	Alkohol	96%	Teknis	Untuk larutan sterilisasi.
5.	Air laut steril	100%	Teknis	Untuk larutan campuran media.
6.	Asam sulfat 1%	1%	Teknis	Untuk pembuatan larutan McFarland.
7.	Barium Klorida 1%	1%	Teknis	Untuk pembuatan larutan McFarland.
8.	C ₂₁ H ₃₈ ClN	10%	Pro analisis	Untuk uji aktivitas fukoidanase.
9.	Akuades	-	Teknis	Untuk larutan campuran media.
10.	CaCl ₂	-	Supelco	Untuk ekstraksi fukoidan.
11.	<i>Sargassum polycystum</i>	-	Rumput laut	Untuk ekstraksi fukoidan.
12.	<i>Cytobacillus kochii</i> GSD	-	Bakteri	Untuk uji bakteri penghasil enzim fukoidanase.

Tabel 2. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Spesifikasi	Merek	Kegunaan
1.	<i>Autoclave</i>	Kapasitas 18L	GEA	Untuk sterilisasi.
2.	Bunsen	-	-	Untuk sterilisasi.
3.	Jarum ose	-	-	Untuk inokulasi bakteri.
4.	Cawan petri	Kapasitas 15ml	Labotiq	Untuk tempat menumbuhkan bakteri.
5.	Laminar <i>air flow</i>	-	Esco	Untuk media meja steril dan dapat meminimalisir mikroba atau kontaminasi dari luar ruangan.
6.	Tabung <i>Erlenmeyer</i>	Kapasitas 500ml	Duran	Untuk membuat media agar dan broth.
7.	Gelas ukur	Kapasitas 250ml	Onemed	Untuk mengukur kadar air.
8.	<i>Hotplate</i>	Kapasitas 3L	Dlab	Untuk melarutkan campuran berbagai bahan pada media.

No	Alat	Spesifikasi	Merek	Kegunaan
9.	Inkubator	Kapasitas 10L	B-One	Untuk menginkubasi mikroba.
10.	Jas laboratorium	Ukuran XL	-	Untuk pelindung tubuh agar tetap steril.
11.	Kamera ponsel	-	Infinix	Untuk dokumentasi
12.	Laptop	-	Advan <i>Workplus</i>	Untuk menganalisis data serta digunakan dalam penyusunan laporan.
13.	Lemari pendingin/kulkas	100-250 L	Sharp	Untuk meyimpan media dan sediaan bakteri.
14.	Kertas saring	Nomor 40	Whatman	Untuk mencatat data dan jadwal kegiatan
15.	Pipet tetes	Kapasitas 1ml	-	Untuk menyaring larutan.
16.	Tabung <i>centrifuge</i>	Kapasitas 10ml	Onemed	Untuk wadah pengenceran bakteri
17.	Timbangan digital	Kapasitas 0,001-500g	Sojiky	Untuk menimbang bahan.
18.	Kain kasa	Kapasitas 10 lembar	Onemed	Untuk menutup tabung centrifuge.
19.	Karet gelang	-	Python	Untuk merekatkan alat dalam <i>plastic wrap</i> .
20.	Spektrofotometer UV-Vis	Gelombang 200-800nm	B-One	Untuk menghitung nilai absorbansi.
21.	Tisu	Kapasitas 500 lembar	Nice	Untuk membersihkan lapisan yang tersisa pada media.
22.	Plastik anti panas	Kapasitas 500-1000ml	Diana	Untuk membungkus media.
23.	<i>Plastic wrap</i>	-	Klinpak	Untuk merekatkan cawan petri.
24.	<i>Hand Tally counter</i>	-	Kenko	Untuk penghitungan koloni pada cawan petri.
25.	Kapas	Berat 50g	Onemed	Untuk penutup tabung reaksi.
26.	Corong kaca	Diameter 40mm	Herma	Untuk membawa alat maupun bahan ketempat lain.
27.	Penggaris	Panjang 30cm	Butterfly	Untuk memberi garisan pada cawan petri.

No	Alat	Spesifikasi	Merek	Kegunaan
28.	<i>Spreader</i>	-	-	Untuk meratakan pengenceran pada cawan petri.
29.	Mikropipet	Kapasitas 20-200 μ l	Dlab	Untuk pemindahan sampel bakteri.
30.	<i>Blue tip</i>	Kapasitas 1000 μ l	Onemed	Untuk pengenceran bakteri pada volume 1000 μ l.
31.	Rak tabung	Kapasitas 12 susun	-	Untuk menata tabung <i>centrifuge</i> saat pengenceran.
32.	Tabung <i>Cuvet</i>	Kapasitas 3ml	-	Untuk menaruh sampel bakteri saat diukur pada spektrofotometri.
33.	<i>Vortex</i>	Kecepatan 0-2500 RPM	Dlab	Untuk menghomogenkan media.
34.	Gelas beaker 50ml	Kapasitas 50ml	Borosilicate	Untuk wadah larutan.
35.	Botol <i>spray</i>	10ml	Mr. DIY	Untuk wadah alkohol 70%.
36.	Spidol hitam	-	Snowman	Untuk menghitung koloni pada cawan petri.
37.	<i>Trash bag</i>	10 Lembar	Matador	Untuk sediaan tempat sampah.
38.	Spatula	-	-	Untuk mengambil media.
39.	<i>Yellow tip</i>	Kapasitas 100 μ l	Onemed	Untuk pengenceran bakteri pada volume 100 μ l.
40.	Gelas beaker 500ml	500ml	Pyrex	Untuk wadah larutan.
41.	<i>Waterbath</i>	Kapasitas 24 liter.	Cole-palmer	Untuk menghangatkan larutan bahan dengan bantuan air panas maupun uap air panas.
42.	Kertas cakram	Diameter 6	Macherey-Nagel	Untuk menguji aktivitas fukoidanase.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilaksanakan merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) karena melibatkan perlakuan berupa variasi suhu terhadap pertumbuhan *Cytobacillus kochii* GSD. Rancangan percobaan menggunakan 5 perlakuan suhu dan 3 ulangan.

P1: Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD ditumbuhkan pada suhu 26,5°C

P2: Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD ditumbuhkan pada suhu 30°C

P3: Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD ditumbuhkan pada suhu 35°C

P4: Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD ditumbuhkan pada suhu 40°C

P5: Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD ditumbuhkan pada suhu 43,4°C

Model liner rancangan acak lengkap (RAL) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

i = perlakuan suhu

j = ulangan

Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j

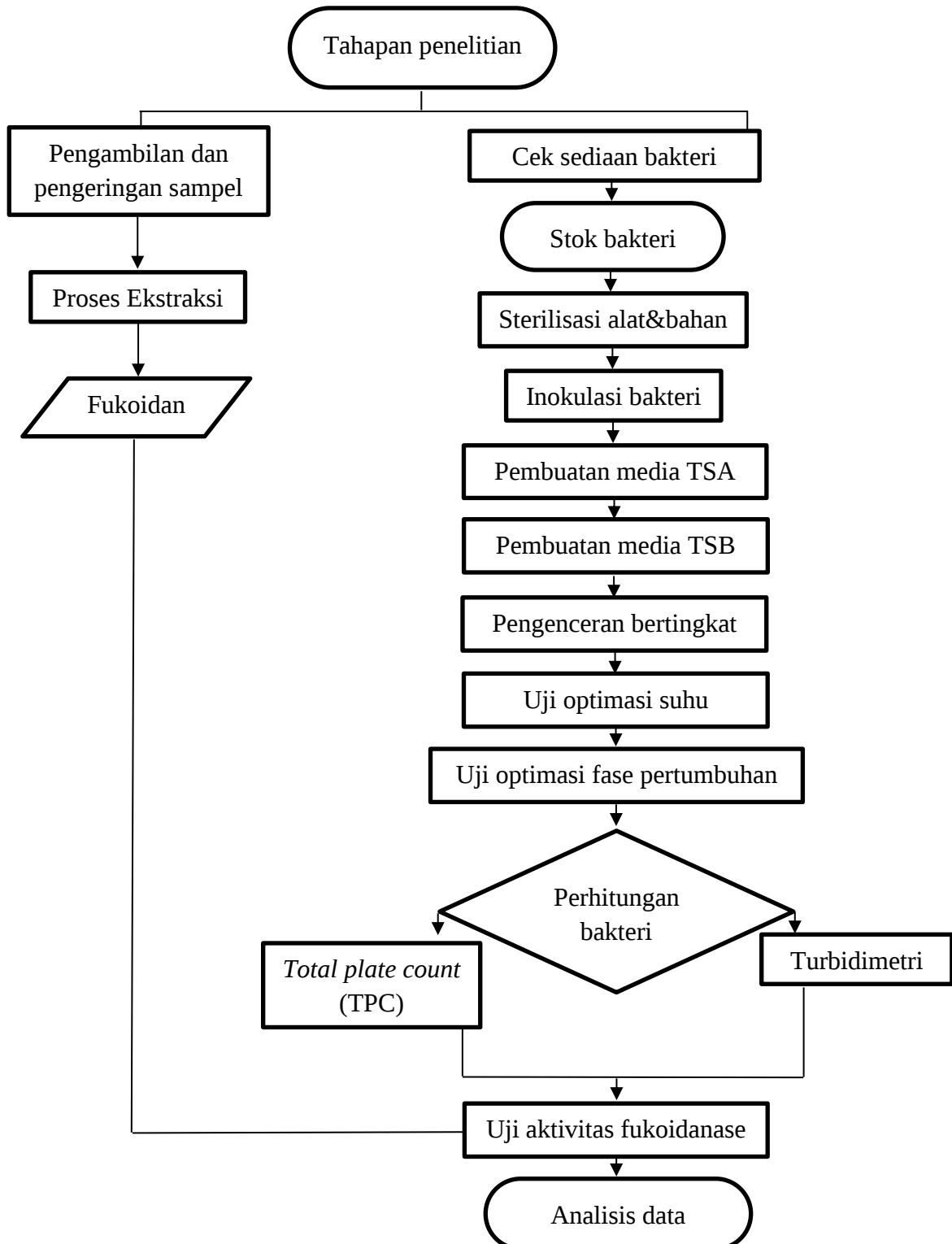
μ = rata-rata umum

τ_i = pengaruh perlakuan suhu ke-i

ε_{ij} = galat percobaan perlakuan ke-i ulangan ke-j

3.4 Prosedur Penelitian

Terdapat beberapa tahapan yang dilakukan dalam penelitian (Gambar 4).



Gambar 4. Alur penelitian

3.4.1 Pengambilan dan Pengeringan Sampel

Sampel alga cokelat *Sargassum* sp. diperoleh dari perairan Lampung, tepatnya di Pantai Sebalang (Lampung Selatan). Setelah dikumpulkan, *Sargassum* sp. jenis *S. polycystum* dicuci menggunakan air tawar bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran serta substrat yang masih melekat pada akarnya. *Sargassum polycystum* yang telah dikeringkan, selanjutnya dihaluskan menggunakan mesin penggiling dan disimpan dalam suhu ruang.

3.4.2 Ekstraksi Fukoidan

Sebanyak 50 g *Sargassum polycystum* kering yang telah dihaluskan menjadi serbuk digunakan sebagai bahan baku ekstraksi fukoidan. Tahap awal dilakukan dengan merendam serbuk dalam larutan HCl 0,1 N (Merck) dengan rasio 1:10 (m/v) selama 24 jam. Penggunaan larutan asam bertujuan untuk membantu melepaskan senyawa fukoidan dari dinding sel alga. Campuran kemudian disaring menggunakan kain putih untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu hasil penyaringan dimaserasi ulang menggunakan larutan HCl 0,2 N dengan rasio yang sama dan waktu yang serupa, untuk mengoptimalkan ekstraksi senyawa fukoidan yang belum terekstrak pada maserasi pertama. Filtrat dari kedua tahap tersebut digabungkan dan disaring ulang dengan kertas saring Whatman No. 40 guna memperoleh larutan yang lebih jernih. Filtrat gabungan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (IKA RV 10, Germany) pada suhu 60°C (IKA HB 10, Germany), hingga volumenya berkurang menjadi 100 mL. Selanjutnya, ekstrak difraksinasi dengan penambahan etanol dingin 96% (v/v) dalam perbandingan yang sama, lalu didiamkan dalam lemari pendingin selama 2 jam agar fukoidan mengendap. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan endapan fukoidan dari supernatan. Endapan yang diperoleh dilarutkan kembali dalam akuades yang telah diatur pH-nya hingga mencapai pH 2. Selanjutnya, ditambahkan kalsium klorida (CaCl_2 Merck) hingga konsentrasi akhir mencapai 2 M. Penambahan CaCl_2 dilakukan

untuk membentuk kompleks fukoidan yang dapat mempermudah pemurnian. Larutan kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang agar proses presipitasi berlangsung optimal. Setelah itu, larutan kembali disentrifugasi dengan kecepatan yang sama untuk memperoleh supernatan. Supernatan tersebut dipresipitasi kembali menggunakan etanol 96% dan didiamkan selama 24 jam. Proses akhir dilakukan dengan sentrifugasi untuk mendapatkan endapan berupa fukoidan.

3.4.3 Cek Sediaan Bakteri

Sebelum penelitian dimulai, sediaan bakteri diperiksa. Tujuan dari pengecekan adalah untuk mengetahui ketersediaan isolat. Isolat bakteri yang berasal digunakan dalam penelitian ini berasal dari *Sargassum polycystum* mengandung bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD).

3.4.4 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang dapat disterilisasi yaitu tabung *centrifuge*, cawan petri, *erlenmeyer*, gelas *beaker*, tabung reaksi, jarum ose, *spreader* serta bahan media padat dan cair sebelum dituang ke dalam cawan petri. Seluruh peralatan dan media tersebut kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf. Autoklaf diaktifkan dengan menekan tombol on dan dibiarkan hingga suhu mencapai 121°C/psi (Gupta & Shukshith, 2016) serta waktu yang ideal sekitar 15 – 20 menit. Setelah suhu mencapai titik tersebut, tombol pemanas (*heat*) dimatikan dan waktu sterilisasi diatur selama 30 menit menggunakan timer. Begitu waktu sterilisasi selesai dan timer berbunyi, penutup uap autoklaf dibuka dengan hati-hati. Selanjutnya peralatan dan media yang telah melalui proses sterilisasi diambil dan siap digunakan. Menurut pernyataan Astuty & Angkejaya, (2022) bahwa sterilisasi berguna untuk membunuh dan membersihkan semua bentuk mikroba hidup di peralatan dan bahan yang digunakan.

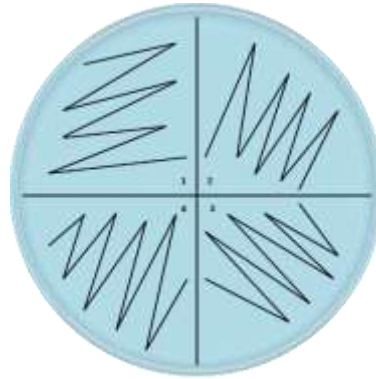
3.4.5 Inokulasi Bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD)

Isolat bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD) dikultur pada media TSA (*Tryptone Soy Agar*) dan media TSB (*Tryptone Soy Broth*). Kultur dilakukan menggunakan wadah cawan petri untuk media padat dan tabung *centrifuge* untuk media cair. Tahapan dilakukan dengan menggunakan stok bakteri yang telah tersedia sebelumnya, diambil menggunakan jarum ose steril dan digoreskan kedalam media agar menggunakan teknik *streak plate*.



Gambar 5. Ilustrasi gambar inokulasi *streak plate* dicawan petri

Proses inokulasi diawali dengan pengambilan suspensi bakteri *Cytobacillus kochii* GSD menggunakan jarum ose steril yang telah dipanaskan menggunakan bunsen, kemudian goreskan secara zig-zag dari satu sisi ke sisi lainnya pada media agar (Gambar 5). Goresan dilakukan dengan tekanan ringan dan merata untuk memastikan bakteri terdistribusi secara optimal di seluruh permukaan media. Selanjutnya diinokulasi selama 24 jam guna menumbuhkan bakteri *C.kochii* GSD. Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD yang telah tumbuh, dikultur kembali menggunakan metode *streak* 4 kuadran.



Gambar 6. Ilustrasi inokulasi *streak plate* 4 kuadran dicawan petri

Proses inokulasi diawali dengan pengambilan suspensi bakteri *Cytobacillus kochii* GSD menggunakan jarum ose steril, kemudian dilakukan goresan zig-zag di kuadran pertama (Gambar 6). Setelah itu, jarum ose disterilisasi kembali, lalu sebagian goresan dari kuadran sebelumnya ditarik ke kuadran berikutnya, hingga kuadran keempat. Pola tersebut menghasilkan tingkat pengenceran alami pada permukaan media, yang memiliki pertumbuhan koloni tunggal tersebar di kuadran akhir.

3.4.6 Pembuatan Media *Tryptone Soy Agar* (TSA)

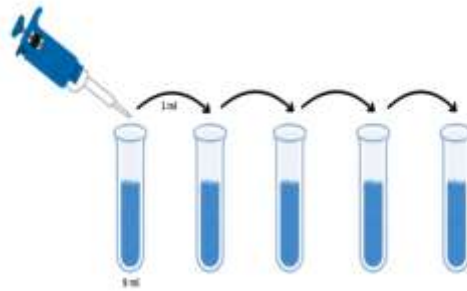
Media *Tryptone soy agar* (TSA) ditimbang sebanyak 8gr, bubuk media TSA dimasukkan kedalam erlenmeyer ukuran 500ml. Tambahkan larutan air laut steril sebanyak 200ml kedalam erlenmeyer. Media dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* yang diletakkan di atas *hot plate* hingga tercampur secara merata. Setelah homogen, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Gupta & Shukshith, 2016). Setelah proses sterilisasi, media didinginkan dalam *laminary air flow* hingga mencapai suhu hangat. Tahap selanjutnya media dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 10-15 ml.

3.4.7 Pembuatan Media *Tryptone Soy Broth* (TSB)

Media *Tryptone soy broth* (TSB) ditimbang sebanyak 3gr, bubuk media TSB dimasukkan kedalam erlenmeyer ukuran 250ml. Media dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* yang diletakkan di atas *hot plate* hingga tercampur secara merata. Setelah homogen, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Gupta & Shukshith, 2016). Setelah homogen, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media didinginkan dalam *laminary air flow* hingga mencapai suhu hangat. Tahap selanjutnya media dituang ke dalam tabung *centrifuge* masing-masing sebanyak 9 ml.

3.4.8 Pengenceran Bertingkat Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD

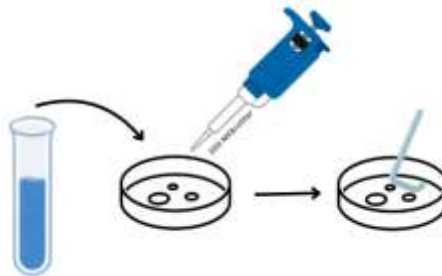
Metode dilusi, atau dikenal sebagai metode pengenceran bertingkat, merupakan teknik pengenceran berurutan yang dilakukan dengan mencampurkan suspensi mikroorganisme ke dalam media padat maupun cair untuk memperoleh konsentrasi bakteri yang terukur (Hasriyani et al., 2020). Sebanyak 1000 μL isolat bakteri sebelumnya yang telah dikultur disuspensikan ke dalam tabung *centrifuge* yang berisi 9 mL media cair steril untuk menghasilkan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, sebanyak 1000 μL dari suspensi 10^{-1} diambil dan dimasukkan ke dalam tabung *centrifuge* kedua yang juga berisi 9 mL media cair steril, sehingga menghasilkan pengenceran 10^{-2} , kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Prosedur diulangi secara berurutan untuk memperoleh tingkat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} . Masing-masing tingkat pengenceran diperoleh dengan mengambil 1000 μL dari pengenceran sebelumnya dan mencampurkannya ke dalam tabung yang berisi 9 mL media cair steril, disertai homogenisasi menggunakan *vortex* agar distribusi sel merata (Gambar 7)



Gambar 7. Ilustrasi gambar pengenceran bertingkat

3.4.9 Uji Optimasi Suhu

Bakteri yang telah diencerkan, masing-masing dalam tabung *centrifuge* dengan tingkatan 10^{-1} sampai 10^{-5} diambil sebanyak 50 μL dan disuspensikan ke dalam media padat (agar) sebanyak 3 ulangan dan diratakan menggunakan *spreader* steril (Gambar 8). Selanjutnya diinkubasikan kedalam inkubator dengan suhu yang telah ditentukan.



Gambar 8. Ilustrasi gambar suspensi bakteri kedalam media agar

3.4.10 Uji Optimasi Fase Pertumbuhan Bakteri

Isolat bakteri yang telah diencerkan pada tingkat pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-5} dan telah diinkubasi selama 24 jam kemudian dianalisis menggunakan

spektrofotometer untuk mengukur nilai absorbansi. Sebanyak 2 ml larutan blanko berupa media cair steril dimasukkan ke dalam *kuvet*, lalu kuvet tersebut ditempatkan pada alat spektrofotometer. Sebelum dilakukan pengukuran, panjang gelombang spektrofotometer disetel pada 620 nm untuk menyesuaikan tingkat kekeruhan suspensi bakteri. Selanjutnya suspensi isolat bakteri dimasukkan ke dalam *kuvet* pengganti, lalu *kuvet* tersebut diletakkan kembali ke dalam spektrofotometer untuk mengamati dan mencatat nilai absorbansi yang ditampilkan.

3.4.11 Perhitungan Bakteri di Cawan Petri

Perhitungan pada media cawan petri dilakukan sebanyak 2 kali dalam rentang waktu 24 dan 48 jam berdasarkan media agar yang telah ditumbuhi bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD). Perhitungan *total plate count* menggunakan standar jumlah koloni antara 30-300. Pemilihan perhitungan rentang dari 30-300 disebabkan jika koloni lebih dari 300 tidak valid untuk dihitung karena berisiko tinggi terhadap kesalahan perhitungan, sedangkan jumlah koloni kurang dari 30 dianggap tidak memenuhi validitas statistik (Mubarak et al., 2019). Perhitungan dilakukan secara manual menggunakan *colony counter* dikombinasikan menggunakan spidol hitam. Kepadatan yang dihitung pada cawan petri dimulai pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-5} . Kirana et al. (2023) menyatakan perhitungan standar *plate count* (SPC) menggunakan rumus:

$$\text{Kepadatan sel bakteri (Cfu/ml): } \frac{\text{Jumlah koloni}}{\text{Volume(ml)} \times \text{Faktor pengenceran}}$$

3.4.12 Perhitungan Bakteri di Spektrofotometer

Perhitungan menggunakan spektrofotometer dilakukan dalam rentang waktu 24 jam dengan interval waktu setiap 3 jam pengamatan menggunakan alat spektrofotometri. Penggunaan alat tersebut menggunakan media TSB dan Larutan

standar *McFarland* digunakan sebagai acuan untuk menyesuaikan tingkat kekeruhan suspensi bakteri, sehingga konsentrasi bakteri berada dalam rentang tertentu yang diinginkan (Rosmania & Yanti, 2020). Jumlah bakteri akan secara cepat terbaca sehingga nantinya terlihat nilai kekeruhan pada bakteri tersebut. Menurut pernyataan Seniati et al., (2019) konsentrasi melihat tingkat kekeruhan menggunakan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 620 nm. Persamaan regresi liner dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel bakteri. Persamaan disajikan yaitu:

$$y = a + bx$$

Keterangan:

y = Kepadatan bakteri CFU/ml (variabel terikat)

a = Konstanta dari persamaan regresi linear

b = Koefisien dari persamaan regresi linear

x = Waktu pengamatan (variabel bebas)

3.4.13 Uji Aktivitas Fukoidanase

Sejumlah 100 µl bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD) disuspensikan kedalam cawan petri dengan media TSA dan 1 mg/ml fukoidan. Bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD) dibiarkan berdifusi ke dalam media selama 1 jam. Kertas cakram (diameter 6 mm) ditempatkan pada permukaan agar dan ditetaskan dengan larutan *cetyl pyridinium chloride* (C₂₁H₃₈ClN) 10%. Media TSA diinkubasi pada suhu 36 °C selama 24 jam. Isolat bakteri *Cytobacillus kochii* (GSD) yang positif akan menunjukkan aktivitas fukoidanase dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil uji optimasi suhu menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dianalisis secara kuantitatif menggunakan *Microsoft Excel* dan *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% (p<0,05)

menggunakan perangkat lunak SPSS versi 27 untuk menguji adanya perbedaan antar berbagai suhu. Jika hasil uji asumsi menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen, maka analisis dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk menentukan perbedaan signifikan antar perlakuan suhu. Apabila data tidak berdistribusi normal atau tidak memenuhi asumsi homogenitas varians, maka digunakan analisis non-parametrik sebagai alternatif, yaitu uji *Kruskal-Wallis*, yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* untuk mengetahui kelompok suhu yang memiliki perbedaan signifikan. Selanjutnya data yang didapati dari uji aktivitas enzimatis akan ditabulasi kedalam bentuk grafik serta dianalisis secara deksriptif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Adapun simpulan yang diperoleh dari penelitian yaitu:

1. Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD dapat tumbuh optimal pada suhu 35°C.
2. Aktivitas enzim fukoidanase dari bakteri *Cytobacillus kochii* GSD disuhu optimal 35°C yaitu sebesar 30,88 mm pada jam ke-72.

5.2 Saran

1. Diperlukan inkubasi bakteri *Cytobacillus kochii* GSD pada suhu 35°C untuk menghasilkan fukoidan dengan molekul yang lebih rendah.
2. Enzim fukoidanase secara komersil dapat diproduksi untuk dimanfaatkan sebagai pendegradasi fukoidan sehingga perlu dilakukan uji *in vivo* fukoidan hasil degradasi pada organisme budidaya seperti udang vanname dan kerapu cantang untuk mendukung pengembangan imunostimulan di bidang akuakultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Agardh, C. (1824). *Sargassum polycystum*. <https://www.algaebase.org>.
- Agustina, N., Asih, E. N. N., & Kartika, A. G. D. (2022). Jenis gram dan morfologi koloni bakteri air baku garam. *Jurnal Ilmu Kelautan Lesser Sunda*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.29303/jikls.v2i1.44>.
- Al-Shimmery, S. M., & Al-Thwani, A. N. (2024). Synthesis of novel selenium nanohybrid for biotechnology and risk assessment of multi-drug resistance bacteria. *Results in Engineering*, 24, 102910, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102910>.
- Andirasdin, I. F., Muchtia, A., Tulloh, N. H., & Fitri, R. (2023). Identifikasi makroalga di perairan Pantai Air Manis Padang. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 3(1), 1176–1187. <https://semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id/index.php/prosiding/article/view/689>
- Aryaldi, R., Saida, S., & Nontji, M. (2021). Identifikasi morfologi dan uji pelarut fosfat bakteri rhizosfer tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L.). *AGrotekMAS. Jurnal Indonesia Ilmu Pertanian*, 2(1), 1–10. <https://jurnal.fp.umi.ac.id/index.php/agrotekmas/article/view/137>.
- Asih, E. N. N., Fitri, D. A., Kartika, A. G. D., Astutik, S., & Efendy, M. (2023). Potensi bakteri halofilik ekstrim dari tambak garam tradisional sebagai penghambat aktivitas bakteri *Salmonella* sp. *Journal of Marine Research*, 12(3), 382-390. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jmr/article/viewFile/35372/29527>.
- Astuty, E., & Angkejaya, O. W. (2022). Pelatihan sterilisasi alat dan bahan medis pada anggota tim bantuan medis vertebrae fakultas kedokteran Universitas Pattimura. *Society: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(5), 284–290. <https://edumediasolution.com/society/article/view/137>.
- Ayhuan, H. V., Zamani, N. P., & Soedharma, D. (2018). Tentang analisis struktur komunitas makroalga ekonomis penting di perairan intertidal Manokwari, Papua Barat. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*, 8(1), 19-38. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jtpk/article/view/17104>.
- Barzkar, N., Jahromi, S. T., & Vianello, F. (2022). Marine microbial fibrinolytic enzymes: An overview of source, production, biochemical properties and thrombolytic activity. *Marine Drugs*, 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.3390/md20010046>.

- Barzkar, N., Rungsardthong, V., Jahromi, T. A., Laraib, Q., Das, R., Babich, O., & Sukhikh, S. (Eds.). (2023). A recent update on fucoidanase: Source, isolation methods and its enzymatic activity. *Frontiers in Marine Science*, 161(2), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1129982>.
- Cabral, E. M., Mondala, J. R. M., Oliveira, M., Przyborska, J., Fitzpatrick, S., Rai, D. K., & Curtin, J. (2021). Influence of molecular weight fractionation on the antimicrobial and anticancer properties of a fucoidan-rich extract from the macroalgae *Fucus vesiculosus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186(2), 994-1002. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.182>.
- Chadwick, M., Carvalho, L. G., Vanegas, C., & Dimartino, S. (2025). A comparative review of alternative fucoidan extraction techniques from seaweed. *Journal Marine Drugs*, 23(1), 36-55. <https://doi.org/10.3390/md23010027>.
- Chan, H. Y., & Farida, H. (2018). Perbandingan pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* pada media agar darah domba dengan preinkubasi STHB (Supplemented Todd Hewitt Broth) dan media agar darah domba gentamisin tanpa preinkubasi STHB. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 7(1), 219–239. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/medico/article/view/19372>.
- Choi, J. I., & Kim, H. J. (2015). Preparation of low molecular weight fucoidan by gamma-irradiation and its anticancer activity. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 97(2), 358-362. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.002>.
- Cui, W., Zheng, Y., Zhang, Q., Wang, J., Wang, L., Yang, W., & Luo, D. (2015). Low-molecular-weight fucoidan protects endothelial function and ameliorates basal hypertension in diabetic Goto-Kakizaki rats. *Laboratory Investigation*, 94(4), 382-393. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.12>.
- Darmawan, M. (2023). Isolasi, penapisan, karakterisasi, dan identifikasi bakteri penghasil enzim fukoidanase dari *Sargassum polycystum* (No publikasi 68772) [Tesis, Universitas Lampung]. Repository Universitas Lampung.
- Dimpos, J. S., Yulianto, B., & Riniatsih, I. (2022). Makroalga yang berasosiasi dengan ekosistem lamun di perairan Teluk Awur dan Bandengan, Jepara, Jawa Tengah. *Journal of Marine Research*, 11(2), 237-244. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jmr/article/view/33821>.
- Elshazly, M. A., Elakhras, A. A., Elshami, A. A., Ahmad, S. S., & Elmahdy, M. A. (2025). Investigating the effectiveness of a bacterial self-healing mechanism for repairing cracks in sustainable cement mortar at low temperatures. *Results in Engineering*, 25, 103907, 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.103907R>.
- GBIF Secretariat. (2023). *Cytobacillus kochii*. In GBIF Backbone Taxonomy. <https://www.gbif.org/species/11139731>.

- Gemilang, P. S. (2023). Gangguan kesehatan pada masyarakat yang disebabkan oleh bakteri mesofilik. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Biologi dan Sains*, 2(2), 56–61. <https://journal.unindra.ac.id/index.php/jpmbio/article/view/2376>.
- Ghazali, M. (2023). Diversity and distribution of *Sargassum* sp. on Lombok Island. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 322-329. <https://jurnal.fkip.unram.ac.id/index.php/JBT/article/view/6183>.
- Ginting, E. L., Rangian, L., Wantania, L. L., & Wullur, S. (2019). Isolasi bakteri simbiosis alga merah dari perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2), 394–400. <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/platax/article/view/23728>.
- Gupta, N. V., & Shukshith, K. S. (2016). Qualification of autoclave. *International Journal of PharmTech Research*, 9(4), 220-226. [https://sphinx.sai.com/2016/ph_vol9_no4/1/\(220-226\)V9N4PT.pdf](https://sphinx.sai.com/2016/ph_vol9_no4/1/(220-226)V9N4PT.pdf).
- Haggag, Y. A., Abd Elrahman, A. A., Ulber, R., & Zayed, A. (2023). Fucoidan in pharmaceutical formulations: A comprehensive review for smart drug delivery systems. *Marine Drugs*, 21(2), 1-23. <https://doi.org/10.3390/md21020112>
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari pedas dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jitpi/article/view/6742>.
- Hasriyani, Z., Zulfa, A., Anggun, L., & Murhayati, R. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% biji lada hitam (*Piper nigrum* L) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 5(2), 14-18. <https://jurnal2.umku.ac.id/index.php/IJF/article/view/1172>.
- Hidayat, T., Nurilmala, M., & Anwar, E. (2018). Karakterisasi rumput laut tropika dari Kepulauan Seribu sebagai sumber bahan baku kosmetik. *Creative Research Journal*, 4(2), 49–62. <https://crjournal.jabarpov.go.id/index.php/crj/article/view/165>.
- Hifney, A. F., Fawzy, M. A., Abdel-Gawad, K. M., & 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(3), 387-395. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.026>.
- 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(1), 3689724, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2022/3689724>.
- Ibrahim, A. M., Subiyanto, & Ruswahyuni. (2015). Hubungan kerapatan rumput laut *Sargassum* sp. dengan kelimpahan epifauna di pantai Barakuda pulau Kemojan, kepulauan Karimunjawa, Jepara. *Journal of Maqueres*, 3(2), 36-44. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/maqueres/article/view/4852>.

- Intan, C. F., Rosyidah, R. A., & Aini, R. 2021. Kontaminasi bakteri alat stetoskop dengan media bap dan mca di ruang penyadapan darah udd pmi Kabupaten Sleman Diy. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 1(3) :106-116. <https://doi.org/10.55606/jikki.v1i3.530>.
- Izert, M. A., Klimecka, M. M., & Górna, M. W. (2021). Applications of bacterial degrons and degraders—Toward targeted protein degradation in bacteria. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 669762, 1-21. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.669762>.
- Javed, A., Song, B. R., Lee, C. H., Alam, M. B., Kim, S. L., & Lee, S. H. (2024). Glycoprotein from *Sargassum fusiforme* exhibiting anti-inflammatory responses in vitro and in vivo via modulation of TLR4/MyD88 and NF- κ B signaling. *International Journal of Biological Macromolecules*, 272, 132574, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132574>.
- Jiwintarum, Y., Diarti, M. W., & Zaeniati, B. L. (2021). Variasi suhu inkubasi mempengaruhi jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus*. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 15(1), 76-83. <https://doi.org/10.33860/jik.v15i1.415>.
- Karygianni, L., Ren, Z., Koo, H., & Thurnheer, T. (2020). Biofilm matrixome: Extracellular components in structured microbial communities. *Trends in Microbiology*, 28(8), 668–681. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X20300871>.
- Kassem, A., Abbas, L., Coutinho, O., Opara, S., Najaf, H., Kasperek, D., & Tiquia-Arashiro, S. (2023). Applications of Fourier Transform-Infrared spectroscopy in microbial cell biology and environmental microbiology: Advances, challenges, and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1304081, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1304081>.
- Kementerian Kelautan & Perikanan. (2023). *Menteri trenggono fokus bangun hulu perikanan untuk sokong hilirisasi*. <https://www.kkp.go.id/news/news-detail/menteri-trenggono-fokus-bangun-hulu-perikanan-untuk-sokong-hilirisasi-ZY15.html>.
- Khalafu, S. H. S., Aida, W. M. W., & Lim, S. J. (2017). Effects of deodorisation methods on volatile compounds, chemical properties and antioxidant activities of fucoidan isolated from brown seaweed (*Sargassum* sp.). *Journal of Algal Research*, 27(2), 507-515. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.06.018>.
- Kirana, S. C., Lestari, T. D., Budiarto, Puspitasari, Y., Witaningrum, A. M., & Permatasari, D. A. (2023). *Total plate count* dalam isi telur ayam ras di pasar tradisional Kecamatan Waru, Kabupaten Sidoarjo. *Current Biomedicine*, 1(2), 86–94. <https://doi.org/10.29244/currbiomed.1.2.86-94>.
- Karo, I. H. B., Rasyidah, R., & Nasution, R. A. (2024). Pembuatan media pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan umbi ubi jalar putih Ipomoea batatas. *Jurnal Teknik dan Science*, 3(3), 77–83. <https://journal.admi.or.id/index.php/JTS/article/view/1894>.

- Kusaykin, M. I., Chizhov, A. O., Grachev, A. A., Alekseeva, S. A., Bakunina, I. Y., Nedashkovskaya, O. I., Sova, V. V., & Zvyagintseva, T. N. (2015). A comparative study of specificity of fucoidanases from marine microorganisms and invertebrates. *Journal of Applied Phycology*, 18(3–5), 369–373. <https://doi.org/10.1023/b:doib.0000033525.32259.15>.
- 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>.
- Lahrsen, E., Liewert, I., & Alban, S. (2018). Gradual degradation of fucoidan from *Fucus vesiculosus* and its effect on structure, antioxidant and antiproliferative activities. *Carbohydrate Polymers*, 192 (1), 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.056>.
- Lestari, D., I. 2016. Efektivitas rumput laut *Sargassum* sp. sebagai sumber alternatif penghasil biogas. (No publikasi 56704) [Skripsi. Surabaya]. Repository Universitas Airlangga.
- 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>.
- 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 (1555), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods12061555>.
- Lutfiawan, M., Karnan, & Lalu, J. (2015). Analisis pertumbuhan *Sargassum* sp. dengan sistem budidaya yang berbeda di Teluk Ekas Lombok Timur sebagai bahan pengayaan mata kuliah ekologi tumbuhan. *Jurnal Biologi Tropis*, 15(2), 135–144. <https://jurnalfkip.unram.ac.id/index.php/JBT/article/view/202>.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. 2018. *Brock biology of microorganisms*: Pearson. United Kingdom. 1064 hlm.
- Mazumder, A., Holdt, S. L., De, Francisci, D., Alvarado-Morales, M., Mishra, H. N., & Angelidaki, I. (2016). Extraction of alginate from *Sargassum* sp. muticum: Process optimization and study of its functional activities. *Journal of Applied Phycology*, 28(6), 3625–3634. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0872-x>.
- Mikkelsen, D. M., Tran, N. H. V., Meier, S., Nguyen, T. T., Holck, S., Cao, T. T. H., Van, T. T. T., Thinh, D. P., Meyer, S. A., & Morth, J. P. (2023). Structural and functional characterization of the novel endo- α (1,4)-fucoidanase Mef1 from the marine bacterium *Muricauda eckloniae*. *Structural Biology*, 152(2), 1–18. <https://doi.org/10.1107/s2059798323008732>.
- Monsur, H. A., Jaswir, I., Simsek, S., Amid, A., & Alam, Z. (2017). Chemical structure of sulfated polysaccharides from brown seaweed (*Turbinaria*

- turbinata*). *International Journal of Food Properties*, 20(7), 1457–1469.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1211144>.
- Mubarak, Z., Chismirina, S., & Daulay, H. H. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak propolis alami dari sarang lebah terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), 175–186.
<https://jurnal.usk.ac.id/JDS/article/view/5421>.
- Nadi, I. B., Z, S. B., Reani, A. S., A, J. C., & Bentiss, F. (2019). *Sargassum muticum* extract based on alginate biopolymer as a new efficient biological corrosion inhibitor for carbon steel in hydrochloric acid pickling environment: Gravimetric, electrochemical, and surface studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141(1), 137–149.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.253>.
- Naoe, T., Hasebe, A., Horiuchi, R., Makita, Y., Okazaki, Y., Yasuda, K., Matsuo, K., Yoshida, Y., Tsuga, K., Abe, Y., & Yokoyama, A. (2020). Development of tissue conditioner containing *cetylpyridinium chloride* montmorillonite as new antimicrobial agent: Pilot study on antimicrobial activity and biocompatibility. *Journal of Prosthodontic Research*, 64(4), 436–443.
<https://doi.org/10.1016/j.jpor.2019.12.002>.
- Nguyen, A. N., Van Ngo, Q., Quach, T. T. M., Ueda, S., Yuguchi, Y., Matsumoto, Y., & Thanh, T. T. T. (2024). Fucoidan from brown seaweed *Tubularia decurrens*: Structure and structure-anticancer activity relationship. *International Journal of Biological Macromolecules*, 259, 129326.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129326>.
- Nurhidayati, L., Fitriaini, Y., Abdillah, S., Mumpuni, E., & Rafi, M. (2020). Sifat fisikokimia dan aktivitas antioksidan crude fukoidan hasil ekstraksi dari *Sargassum cinereum*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(1), 68–74.
<http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/jifi/article/download/823/522>.
- Ojkic, N., Serbanescu, D., & Banerjee, S. (2019). Surface-to-volume scaling and aspect ratio preservation in rod-shaped bacteria. *Journal eLife*, 8, e47033.
<https://doi.org/10.7554/eLife.47033>.
- Panjaitan, R. S., & Natalia, L. (2020). 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>.
- Pozharitskaya, O. N., Obluchinskaya, E. D., & Shikov, A. N. (2020). Mechanisms of bioactivities of fucoidan from the brown seaweed *Fucus vesiculosus* L. of the Barents Sea. *Marine Drugs*, 18(5), 1-17.
<https://doi.org/10.3390/md18050275>.
- Puja, L. M., Azmin, N., & Ariyansyah. (2024). Keragaman makroalga berdasarkan karakter morfologis di pantai ria kecamatan Woja Kabupaten Dompu. *Jurnal*

- Sains dan Terapan*, 3(1), 17–23.
<https://jurnal.jomparnd.com/index.php/js/article/view/732>.
- Rahmayanti, S., Massinai, A., & Mashoreng, S. (2019). Kepadatan bakteri simbion rumput laut (*Eucheuma spinosum*) yang berasal dari perairan Puntondo, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*, 6(1), 309–314.
<https://journal.unhas.ac.id/index.php/proceedingsimnaskp/article/view/7775/4169>.
- 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, 100235, 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100235>.
- Rani, V., Shakila, R. J., Jawahar, P., & Srinivasan, A. (2017). Influence of species, geographic location, seasonal variation and extraction method on the fucoidan yield of the brown seaweeds of Gulf of Mannar, India. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79(1), 65–71.
<https://doi.org/10.4172/pharmaceutical-sciences.1000202>.
- Ren, X., Cai, S., Zhong, Y., Tang, L., Xiao, M., Li, S., & Fu, X. (2024). Marine-derived fucose-containing carbohydrates: Review of sources, structure, and beneficial effects on gastrointestinal health. *Foods*, 13(21), 3460-3475.
<https://doi.org/10.3390/foods13213460>.
- Rosmania, & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86.
<https://ejurnal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/article/view/564>.
- Rozi, A. (2018). Laju kemunduran mutu ikan lele (*Clarias* sp.) pada penyimpanan suhu chilling. *Jurnal Perikanan Tropis*, 5(2), 169–182.
<https://jurnal.utu.ac.id/jptropis/article/view/1036>.
- Rivas-Marin, E., Peeters, S. H., Claret Fernández, L., Jogler, C., van Niftrik, L., Wiegand, S., & Devos, D. P. (2020). Non-essentiality of canonical cell division genes in the planctomycete *Planctopirus limnophila*. *Scientific Reports*, 10(1), 66-78. <https://www.nature.com/articles/s41598-019-56978-8>.
- Rizki, Z., Fitriana, F., & Jumadewi, A. (2022). Identifikasi jumlah angka kuman pada dispenser metode TPC (*Total Plate Count*). *Jurnal SAGO Gizi Dan Kesehatan*, 4(1), 38-43.
<https://ejournal.poltekkesaceh.ac.id/index.php/gikes/article/view/1052>.
- Safitri, W., Cokrowati, N., & Diniarti, N. (2021). Pertumbuhan *Sargassum* sp. dengan berat bibit berbeda pada sistem budidaya rakit apung di Teluk Ekas Lombok Timur. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 3(3), 147–153.
<https://eprints.unram.ac.id/37911/1/Repository%2023%20nunik%20cokrowati%202021.pdf>.

- Samel, A., & Wojciechowski, K. (2024). Lupine protein enzymatic hydrolysates obtained in a simultaneous extraction-hydrolysis process as foaming agents. *Journal of Food Science and Technology*, 204, 1116713, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116713>.
- Sanjeewa, K. A., Jayawardena, T. U., Kim, S. Y., Kim, H. S., Ahn, J. K., & Jeon, Y. J. (2019). Fucoidan isolated from invasive *Sargassum horneri* inhibit LPS-induced inflammation via blocking NF- κ B and MAPK pathways. *Alga Research*, 41, 10561, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101561>
- Saraswati, P. W., Nocianitri, K. A., & Arihantana, N. M. I. H. (2021). Pola pertumbuhan *Lactobacillus* sp. F213 selama fermentasi pada sari buah terung belanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* (ITEPA), 10(4), 621. <https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10.i04.p08>.
- 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(1), 1092–1097. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.027771-0>.
- Seniati, S., Marbiah, M., & Irham, A. (2019). Pengukuran kepadatan bakteri *Vibrio harveyi* secara cepat dengan menggunakan spektrofotometer. *Agrokompleks*, 19(2), 12–19. <https://core.ac.uk/download/pdf/328108983.pdf>.
- Setiawati, T., & Sari, M. (2017). Analisis kandungan vitamin C makroalga serta potensinya bagi masyarakat di kawasan Pantai Timur Cagar Alam Pananjung Pangandaran. *Jurnal Istek*, 10(2), 212–225. <https://journal.uinsgd.ac.id/index.php/istek/article/view/1489>.
- Setyawan, A., Isnansetyo, A., Murwantoko, M., 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. <https://bioflux.com.ro/docs/2018.1707-1723.pdf>.
- Silchenko, A. S., Kusaykin, M. I., Kurilenko, V. V., Zakharenko, A. M., Isakov, V. V., & Zaporozhets, T. S. (2016). Hydrolysis of fucoidan by fucoidanase isolated from the marine bacterium *Formosa algae*. *Marine Drugs*, 11(1), 2413–2430. <https://doi.org/10.3390/md11072413>.
- Sinurat, E., & Kusumawati, R. (2017). Optimasi metode ekstraksi fukoidan kasar dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi* Sonder. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 12(2), 125-134. <https://www.bbp4b.litbang.kkp.go.id/jurnal-jpbkp/index.php/jpbkp/article/view/388>.
- Sung, C. J., Wang, H. H., Sun, K. H., Hsieh, C. C., Huang, R., Sun, G. H., & Tang, S. J. (2022). Fucoidan from *Sargassum hemiphyllum* inhibits the stemness of cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transitions in bladder cancer cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 221, 623-633. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.047>.

- Takayama, M., Sakai, T., & Kato, I. (2002). Enzymes capable of degrading a sulfated fucose-containing polysaccharide and their encoding genes. *U.S. Patent*, US6489155B1.
- Tsai, H. L., Tai, C. J., Huang, C. W., Chang, F. R., & Wang, J. Y. (2017). Efficacy of low-molecular-weight fucoidan as a supplemental therapy in metastatic colorectal cancer patients: A double-blind randomized controlled trial. *Marine Drugs*, 15(4), 122, 1-12. <https://doi.org/10.3390/md15040122>.
- Vulliemin, M., Silchenko, A. S., Cao, H. T. T., Kokoulin, M. S., Trang, V. T. D., & Holck, J. (2020). Functional characterization of a new GH107 endo- α -(1, 4)-fucoidanase from the marine bacterium *Formosa haliotis*. *Marine Drugs*, 18(2), 562, 1-17. <https://doi.org/10.3390/md18110562>.
- Wang, C. Y., & Chen, Y. C. (2016). Extraction and characterization of fucoidan from six brown macroalgae. *Marine Science and Technology*, 24(2), 319-328. <http://dx.doi.org/10.6119/JMST-015-0521-3>.
- Wang, S., Huang, C., Chen, C., Chang, C., Huang, C., Dong, C., & Chaang, J. (2021). Isolation and purification of brown algae fucoidan from *Sargassum siliquosum* and the analysis of anti-lipogenesis activity. *Journal of Biochemical Engineering*, 116, 107798, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107798>.
- Wang, Y. C., Lv, Y. H., Wang, S., Wang, J. Y., Yang, W. X., Ju, F., & Wang, C. (2024). The role of bacterial communication in activated sludge at low temperatures. *Cell Reports Physical Science*, 5(9), 4027–4036. <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2024.102169>.
- Wu, J., Xiong, S., Huang, Z., Luo, P., & Liu, H. (2025). Inhibition of urate induced pyroptosis and reabsorption transporters overexpression in human renal tubular epithelial cells by low molecular weight fucoidan, as well as its anticoagulation and antioxidation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139 (1), 454-460. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.139454>.
- Wulandari, I. (2022). Pengaruh penjualan rumput laut *Sargassum sp.* terhadap pertumbuhan ekonomi masyarakat di Teluk Sasah Kabupaten Bintan tahun 2022. *Jurnal Ekonomi dan Bisnis*, 11(3), 1515-1521. <https://stiemitutagien.ac.id/ojs/index.php/OJS/article/view/1050/900>.
- 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://www.fjnyxb.cn/en/article/doi/10.19303/j.issn.1008-0384.2023.01.007>.
- Yadav, M., Kumar, T., Kanakan, A., Maurya, R., Pandey, R., & Chauhan, N. S. (2022). Isolation and characterization of human intestinal bacteria *Cytobacillus oceanisediminis* NB2 for probiotic potential. *Frontiers in Microbiology*, 13, 932795. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932795>.

- Yang, S. H., Seo, J., & Koo, Y. (2021). Alginate and fucoidan change the bacterial community in different directions, and the alginate or fucoidan degrading bacteria isolated from paddy soil promotes plant growth. *Journal Archives of Microbiology*, 203, 5183-519. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02480-7>.
- Yuan, S., Jin, Z., Ali, A., Wang, C., & Liu, J. (2022). Caproic acid-producing bacteria in Chinese Baijiu brewing. *Frontiers in Microbiology*, 13, 883142, 1-9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.883142>.
- Zainuddin, M., Pringgenies, D., Radjasa, O. K., Haeruddin, Sabdaningsih, A., & Herawati, A. E. (2022). Optimasi kondisi inkubasi kultur (suhu dan agitasi) terhadap pertumbuhan dan aktivitas protease ekstraseluler bakteri *Bacillus firmus* asosiasi sponge (*Porifera: Demospongiae*) dari Nusa Lembongan Bali Indonesia. *Journal of Marine Research*, 11(3), 547-556. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jmr/article/view/35001>.
- Zhao, X., Guo, F., Hu, J., Zhang, L., Xue, C., Zhang, Z., & Li, B. (2016). Antithrombotic activity of orally administered low molecular weight fukoidan from *Laminaria japonica*. *Thrombosis Research*, 144(3), 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2016.03.008>.
- Zueva, A. O., Silchenko, A. S., Rasin, A. B., Kusaykin, M. I., Usultreva, R. V., Kalinovsky, A. I., Kurilenko, V. V., Zvyagintseva, T. N., Thinh, P. D., & Ermakova, S. P. (2020). Expression and biochemical characterization of two recombinant fucoidanases from the marine bacterium *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127T. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 3025-3037. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.131>