

**UJI OPTIMASI DERAJAT KEASAMAN (pH) TERHADAP PERTUMBUHAN
DAN AKTIVITAS ENZIM FUKOIDANASE BAKTERI *Cytobacillus kochii* GSD**

SKRIPSI

Oleh

**WANDA ANDELLA PUTRI
NPM 2154221003**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**UJI OPTIMASI DERAJAT KEASAMAN (pH) TERHADAP PERTUMBUHAN
DAN AKTIVITAS ENZIM FUKOIDANASE BAKTERI *Cytobacillus kochii* GSD**

Oleh

WANDA ANDELLA PUTRI

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**

ABSTRACT

THE OPTIMIZATION ASSAY OF PH IN GROWTH AND FUKOIDANASE ENZYMATIC ACTIVITY BY *Cytobacillus kochii* GSD

By

WANDA ANDELLA PUTRI

Fukoidan is a sulfated polysaccharide with bioactive benefits such as antioxidant, anticancer, and anticoagulant properties. The utilization of fukoidan is limited due to its high molecular weight. Enzymatic hydrolysis by *Cytobacillus kochii* GSD can break down fukoidan molecules into oligosaccharides. The growth of *Cytobacillus kochii* GSD bacteria as a fukoidanase producing bacterium is influenced by various environmental factors, one of which is pH. pH is an important factor in bacterial growth for enzymatic production, but the optimal conditions for fukoidanase enzyme production have not yet been identified. The study was aimed to determine the growth of *Cytobacillus kochii* GSD bacteria under five pH conditions (3.6; 5; 7; 9; and 10.3) by counting the number of bacterial colonies using the total plate count method and turbidimetry, as well as analyzing the enzymatic activity of the bacteria at the optimal pH to observe the clear zone produced by adding a 10% *cetyl pyridinium chloride* (CPC) solution. The results showed that the optimal growth of *Cytobacillus kochii* GSD occurred at pH 7, with a colony count reaching 24.8×10^7 CFU/mL after 48 hours of incubation. Growth rate measurements using the turbidimetry method with a UV-Vis spectrophotometer indicated optimal growth at pH 7, with a peak growth of approximately 3.64×10^9 CFU/mL. Enzymatic activity testing using a 10% CPC solution produced the largest clear zone of 25,9 mm at 72 hour. Fucan extraction from *Sargassum* sp. yielded an average yield of 1,19%, with a maximum of 1,40% and a minimum of 0,86%, and FTIR spectroscopy confirmed the presence of fucan with O-H, C-H, C=O, S=O, and C-O groups. It is concluded that *Cytobacillus kochii* GSD bacteria grow optimally at pH 7. The fucan extracted under optimal environmental conditions is expected to be developed and utilized in the fields of food, health, and aquaculture.

Keyword: *Cytobacillus kochii* GSD, Enzymatic Activities, Fukoidanase, Fucoidan, pH

ABSTRAK

UJI OPTIMASI DERAJAT KEASAMAN (pH) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM FUKOIDANASE BAKTERI *Cytobacillus kochii* GSD

Oleh

WANDA ANDELLA PUTRI

Fukoidan adalah polisakarida sulfat dengan manfaat bioaktif seperti anti-oksidan, antikanker, dan antikoagulan. Pemanfaatan fukoidan terbatas karena berat molekulnya yang tinggi. Hidrolisis enzimatis oleh *Cytobacillus kochii* GSD dapat memecah molekul fukoidan menjadi oligosakarida. Pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD sebagai bakteri penghasil enzim fukoidanase dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, salah satunya adalah pH. pH adalah faktor penting dalam pertumbuhan untuk memproduksi enzimatis bakteri kondisi optimal untuk produksi enzim fukoidanase masih belum ditemukan. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD pada 5 kondisi pH (3,6; 5; 7; 9; dan 10,3) dengan menghitung jumlah koloni bakteri dengan metode *total plate count* dan turbidimetri serta menganalisa aktivitas enzimatis bakteri pada pH optimal untuk melihat zona bening yang dihasilkan dengan pemberian larutan *cetyl pyridium chloride* (CPC) 10%. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan *Cytobacillus kochii* GSD paling optimal terdapat pada pH 7, dengan jumlah koloni mencapai $24,8 \times 10^7$ CFU/mL setelah 48 jam inkubasi. Pengukuran laju pertumbuhan dengan metode turbidimetri menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan pertumbuhan optimal pada pH 7 dengan puncak pertumbuhan sekitar $3,64 \times 10^9$ CFU/mL. Uji aktivitas enzimatis menggunakan larutan 10% CPC menghasilkan zona bening terbesar 25,9 mm pada jam ke-72. Ekstraksi fukoidan dari *Sargassum sp.* Menghasilkan rendemen rata-rata 1,19%, dengan nilai tertinggi 1,40% dan terendah 0,86%, serta spektrum FTIR membuktikan keberadaan fukoidan dengan gugus O-H, C-H, C=O, S=O, dan C-O. Disimpulkan bahwa bakteri *Cytobacillus kochii* GSD tumbuh optimal pada pH 7, hasil fukoidan yang telah dipecah pada kondisi lingkungan optimal diharapkan dapat dikembangkan dan dimanfaatkan pada bidang pangan, kesehatan dan akuakultur.

Kata Kunci: Aktivitas Enzimatis, *Cytobacillus kochii* GSD, Fukoidan, Fukoidanase, pH

Judul skripsi : UJI OPTIMASI DERAJAT KEASAMAN (pH)
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS
ENZIM FUKOIDANASE BAKTERI *Cytobacillus*
kochii GSD

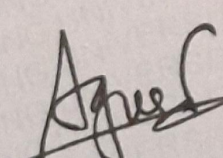
Nama Mahasiswa : Wanda Andella Putri

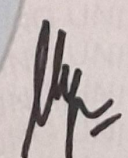
Nomor Pokok Mahasiswa : 2154221003

Program Studi : Ilmu Kelautan

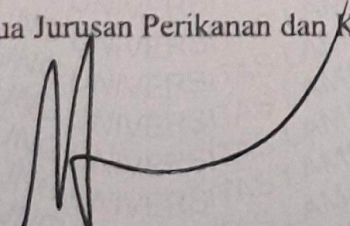
Fakultas : Pertanian




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


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

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

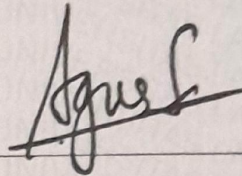

Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

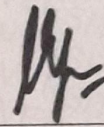
Ketua

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

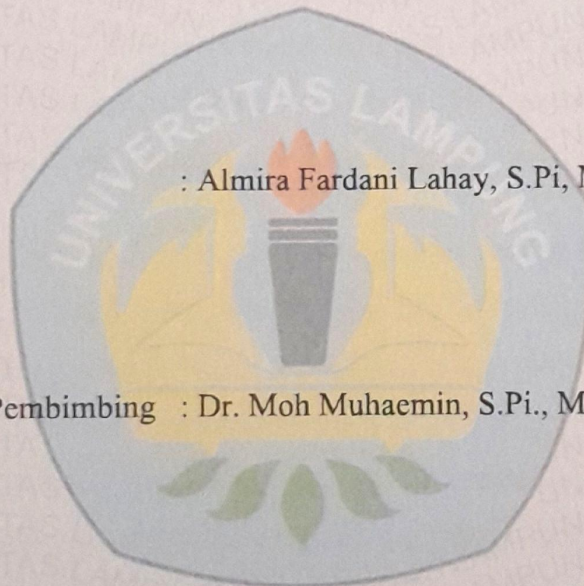
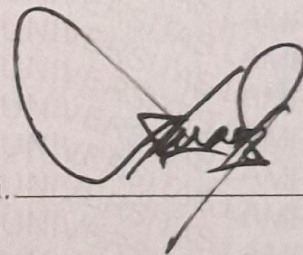


Sekretaris

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



Penguji Bukan Pembimbing : Dr. Moh Muhaemin, S.Pi., M.Si.



Dekan Fakultas Pertanian

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

Tanggal lulus ujian skripsi: 4 Juni 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 **“Uji Optimasi Derajat Keasaman (pH) Terhadap Pertumbuhan Dan Aktivitas Enzim Fukoidanase Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD”** 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, 15 Agustus 2025

Yang membuat pernyataan



Wanda Andella Putri
NPM. 2154221003

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kota Jakarta Barat, Provinsi DKI Jakarta, pada 2 Maret 2003 sebagai anak pertama dari pasangan (Almarhum) Luthfi Yuliandi dan Lela Nurfarina. Pada tahun 2007-2009 penulis menempuh pendidikan formal di Taman Kanak-Kanak Anggrek, Jakarta Barat, 2009-2015 dilanjutkan dengan pendidikan dasar di SD Negeri Kalimulya 4, Depok, Jawa Barat, 2015-2018 penulis lalu menempuh pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 3 Depok dan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Grobogan, Jawa Tengah, pada tahun 2018-2021. Pada tahun 2021, penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Penulis menjadi anggota Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (HIMAPIK) pada periode 2022/2023 dan aktif sebagai tim publikasi media sosial Program Studi Ilmu Kelautan pada tahun 2023-2024. Penulis juga memiliki pengalaman sebagai asisten dosen pada beberapa mata kuliah, yaitu Kimia Dasar, Avertebrata Laut, Botani Laut, Mikrobiologi Laut, Oseanografi Perikanan, dan Bioteknologi Laut. Penulis memiliki pengalaman mengikuti program magang mandiri pada tahun 2022 di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang berlokasi di Ancol, Jakarta. Penulis juga pernah terlibat dalam kegiatan pengisian borang UI Greenmetric *Sustainable Development Goals* (SDGs) Universitas Lampung pada tahun 2023 dan 2024.

Pada tahun 2024, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Pisang Indah, Kecamatan Bumi Agung, Kabupaten Way Kanan, Provinsi Lampung. Pada bulan Februari hingga Juli 2024, penulis terpilih dalam program RIIM-IV BRIN (Riset Inovasi Indonesia Maju), sebuah program pendanaan riset nasional yang diakui sebagai bagian dari skema Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) melalui jalur

Studi Independen dan dari program tersebut penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Optimasi Derajat Keasaman (pH) Dalam Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Fukoidanase Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD”. Penulis juga telah menyelesaikan kegiatan Praktik Umum di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dengan judul “Optimasi pH Pertumbuhan Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD Sebagai Bakteri Penghasil Fukoidanase”.

Kepada orang tua penulis Ibu Lela Nurfarina dan Bapak Alamsyah Hakim serta
Ayahanda, Bapak (almarhum) Luthfi Yuliandi dan kelima adik penulis.

SANWACANA

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

Skripsi dengan judul “*Uji Optimasi Derajat Keasaman (pH) Dalam Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Fukoidanase Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD*” 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. Moh Muhaemin, S. Pi., M. Si. selaku Dosen Penguji Utama;
6. Eko Efendi, S. T., M. Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik.
7. Ibu Lela Nurfarina, Bapak Alamsyah Hakim, Bapak almarhum Luthfi Yuliandi selaku orang tua penulis, dan adik-adik penulis serta keluarga besar.
8. Rizqy Hadi Saputra, Alifia Adibila Nurhalisa, Dwi Okta Viani, dan Assyifa Nur Haliza selaku tim riset RIIM IV-BRIN dan Riset RIIM IV-BRIN selaku lembaga pendanaan riset.

Bandar Lampung, Agustus 2025

Wanda Andella Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Kerangka Pikir	4
1.6 Hipotesis Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Sargassum</i> sp.....	7
2.1.1 Klasifikasi	7
2.1.2 Morfologi	7
2.1.3 Kandungan Bioaktif	8
2.2 Fukoidan.....	9
2.3 Hidrolisis Enzimatik	11
2.4 Enzim Fukoidanase	12
2.5 Faktor Lingkungan	14
2.6 Aktivitas Enzimatik.....	16
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.3 Rancangan Penelitian	19
3.4 Prosedur Penelitian.....	20
3.4.1 Preparasi Sampel.....	21
3.4.2 Ekstraksi Fukoidan.....	21
3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan	22
3.4.4 Penyesuaian pH Media.....	22
3.4.5 Pembuatan Media.....	23
3.4.6 Inokulasi Bakteri	23

3.4.7 Uji Optimasi pH	24
3.4.8 Perhitungan Kelimpahan Bakteri	25
3.4.9 Laju Pertumbuhan Bakteri	27
3.4.10 Uji Aktivitas Fukoidanase.....	28
3.5 Rendemen Fukoidan.....	28
3.6 Analisis Data	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Uji Optimasi pH	29
4.1.1 Perhitungan Bakteri Metode <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	29
4.1.2 Laju Pertumbuhan Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	33
4.2 Karakteristik Fukoidan <i>Sargassum</i> sp.....	35
4.2.1 Rendemen Fukoidan.....	36
4.2.2 <i>Fourier Transformed Infra Red</i> (FT-IR).....	37
4.3 Uji Aktivitas Enzimatik	39
V. SIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Simpulan	42
5.2 Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat penelitian	17
2. Bahan penelitian.....	19
3. <i>Doubling time</i> (waktu pengandaan) bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	34
4. Rendemen fukoidan pada <i>Sargassum</i> sp. (%)	36
5. Pita serapan gelombang FT-IR.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian	5
2. Morfologi <i>Sargassum</i> sp.....	7
3. Struktur kimia fukoidan.....	10
4. Skema pemecahan struktur fukoidan.....	11
5. Pemecahan fukoidan oleh enzim fukoidanase yang dihasilkan bakteri laut <i>Formosa haliotis</i>	13
6. Morfologi bakteri <i>Cytobacillus kochii</i>	14
7. Pengaruh pH terhadap laju reaksi enzim	16
8. Alur penelitian	20
9. Ilustrasi inokulasi dengan metode <i>streak</i>	24
10. Ilustrasi pengenceran bertingkat.....	25
11. Ilustrasi kultur bakteri pada variasi pH.....	25
12. Kelimpahan bakteri pada cawan petri waktu inkubasi 48 jam	30
13. <i>Total plate count</i> (TPC) waktu pengamatan 24 dan 48 jam	31
14. Laju pertumbuhan bakteri waktu pengamatan 24-48 jam	33
15. Spektrum FT-IR fukoidan <i>Sargassum</i> sp.	37
16. Aktivitas fukoidanase pada waktu produksi 24-96 jam.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Proses ekstraksi fukoidan dari <i>Sargassum</i> sp.....	55
2. Perhitungan pengenceran bahan ekstraksi fukoidan	56
3. Perhitungan rendemen <i>Sargassum</i> sp.	57
4. Perhitungan bahan pembuatan larutan pH	58
5. Dokumentasi ekstraksi fukoidan dari <i>Sargassum</i> sp.....	59
6. Dokumentasi uji optimasi pH pertumbuhan bakteri <i>Cytobacillus kochii</i> GSD	60
7. Hasil analisis statistik.....	62

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Sargassum sp. merupakan salah satu jenis rumput laut coklat bernilai ekonomi tinggi dengan jumlah yang cukup melimpah dan tersebar luas di perairan Indonesia (Fauziee et al., 2021). *Sargassum* sp. mengandung senyawa bioaktif seperti antioksidan, florotanin, fukosantin, dan pada dinding rumput laut coklat terdiri atas beberapa polisakarida seperti asam alginat, laminaran dan fukoidan (Li et al., 2017; Podungge et al., 2018). Fukoidan merupakan polisakarida sulfat yang terdiri dari fukosa dengan kandungan monosakarida lainnya seperti galaktosa, manosa, xilosa, dan glukosa yang dihasilkan dari rumput laut jenis *Sargassum*, *Turbinaria*, dan *Padina* dengan jumlah kandungan yang signifikan, berkisar antara 40-80% dari berat rumput laut yang telah dikeringkan (Sinurat & Maulida, 2018). Kandungan fukoidan pada *Sargassum* sp. diduga dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon oleh bakteri genus *Bacillus* dan *Brevibacterium* untuk menghasilkan fukoidanase (Darmawan, 2023).

Fukoidan memiliki berbagai bioaktivitas yang bermanfaat di bidang kesehatan, seperti antibakteri, antivirus, antijamur, antikanker, serta antikoagulan (Sinurat et al., 2015; Utami et al., 2023). Ukuran molekul yang besar menjadi kendala dalam pemanfaatannya karena menghambat penyerapan oleh tubuh. Pemecahan struktur fukoidan menjadi bentuk yang lebih sederhana dapat dimanfaatkan dan menunjukkan peningkatan aktivitas biologis, serta lebih efektif digunakan pada aplikasi medis dan farmasi (Zhao et al., 2016; Flórez-Fernández et al., 2017; Xie & Cheong, 2022). Hasil penelitian oleh Sinurat et al. (2015) menunjukkan bahwa fukoidan dengan berat molekul rendah (*low molecular weight/LWM*) memiliki aktivitas biologis yang lebih tinggi dibandingkan dengan berat molekul tinggi.

Agar dapat memproduksi fukoidan dengan berat molekul lebih rendah, metode hidrolisis enzimatis telah dikembangkan sebagai solusi yang lebih cepat dan aman dibandingkan metode hidrolisis kimiawi. Hidrolisis enzimatis merupakan suatu metode yang menghasilkan asam amino bebas serta peptida rantai pendek dengan proses reaksi yang berlangsung lebih efisien (Cruz-Casas et al., 2021). Produk hasil hidrolisis enzimatis juga dinilai aman dan tidak mengandung zat kimia berbahaya sehingga berpotensi dimanfaatkan di bidang kesehatan dan pangan (Lahrsen et al., 2018). Metode hidrolisis enzimatis fukoidan dilakukan menggunakan enzim spesifik bernama fukoidanase yang bekerja dengan memutus ikatan glikosida antar residu L-fukosa tersulfat yang akan menghasilkan oligosakarida bermassa molekul rendah dengan aktivitas bioaktif tertentu (Trang et al., 2022).

Keberadaan enzim fukoidanase telah terdeteksi pada berbagai organisme laut seperti bakteri, invertebrata, serta beberapa jenis jamur (Kusaykin et al., 2015). Tiga isolat bakteri dari *Sargassum polycystum* juga telah teridentifikasi sebagai kandidat penghasil fukoidanase, yaitu *Cytobacillus kochii* GSD, *Bacillus cereus* (PFT), dan *Brevibacterium sediminis* (PSA) (Darmawan, 2023). Aktivitas tertinggi tercatat pada isolat bakteri *Cytobacillus kochii* GSD, yang bermanfaat untuk memproduksi enzim dalam skala besar untuk meminimalkan pemanfaatan *Sargassum sp.*

Pemanfaatan isolat bakteri *Cytobacillus kochii* GSD sebagai penghasil enzim fukoidanase dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, salinitas, dan pH. pH merupakan salah satu faktor penting bagi pertumbuhan bakteri karena setiap bakteri memiliki rentang pH optimal yang berbeda. pH dalam pertumbuhan bakteri dapat mempengaruhi baik pertumbuhannya hingga produksi enzim yang dihasilkan (Fajar et al., 2022; Sinaga et al., 2023). Aktivitas enzimatis mampu tercapai secara maksimal pada pH optimal dan akan menurun tajam pada kondisi ekstrem akibat kerusakan struktur molekul. Perubahan pH juga memengaruhi kestabilan protein yang membentuk enzim karena kondisi sangat asam atau basa dapat menyebabkan denaturasi dan hilangnya fungsi biologis (Nurkhotimah et al., 2017).

Kajian mengenai optimasi pH untuk pertumbuhan *Cytobacillus kochii* GSD serta evaluasi aktivitas enzim fukoidanase masih terbatas. Penentuan pH optimal perlu di-

lakukan untuk mendukung efektivitas bakteri *Cytobacillus kochii* GSD sebagai agen hidrolisis enzimatis fukoidan. Penemuan pH optimal menjadi dasar untuk melakukan evaluasi aktivitas enzim untuk mengetahui kemampuan fukoidanase dalam menghidrolisis fukoidan menjadi oligosakarida dengan berat molekul rendah (Trang et al., 2022). Studi yang dilakukan Qiu et al., 2022 menunjukkan *Flavobacterium algicola* menghasilkan enzim fukoidanase dengan suhu optimal 40 °C, aktivitas stabil pada rentang suhu 25–55 °C, dan pH 9. Hasil serupa ditunjukkan oleh *Cobetia amphilecti* yang memiliki suhu optimal 30 °C dan pH 8 (Liu et al., 2023). Pengujian terhadap aktivitas enzim pada pH optimal *Cytobacillus kochii* GSD memberikan informasi penting untuk meningkatkan efisiensi aplikasi fukoidanase di sektor kesehatan, industri dan perikanan, termasuk pengolahan fukoidan untuk keperluan medis dengan pendekatan berkelanjutan guna menekan eksploitasi *Sargassum sp.* di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian yaitu:

1. Bagaimana pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD yang dipengaruhi oleh kondisi pH tertentu?
2. Bagaimana aktivitas enzim fukoidanase yang dihasilkan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD pada pH optimal?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian dilakukan yaitu:

1. Menganalisa pH optimal yang mendukung pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD untuk meningkatkan efisiensi produksi enzim fukoidanase.
2. Menganalisa aktivitas enzim fukoidanase dari bakteri *Cytobacillus kochii* GSD pada kondisi pH optimal.

1.4 Manfaat Penelitian

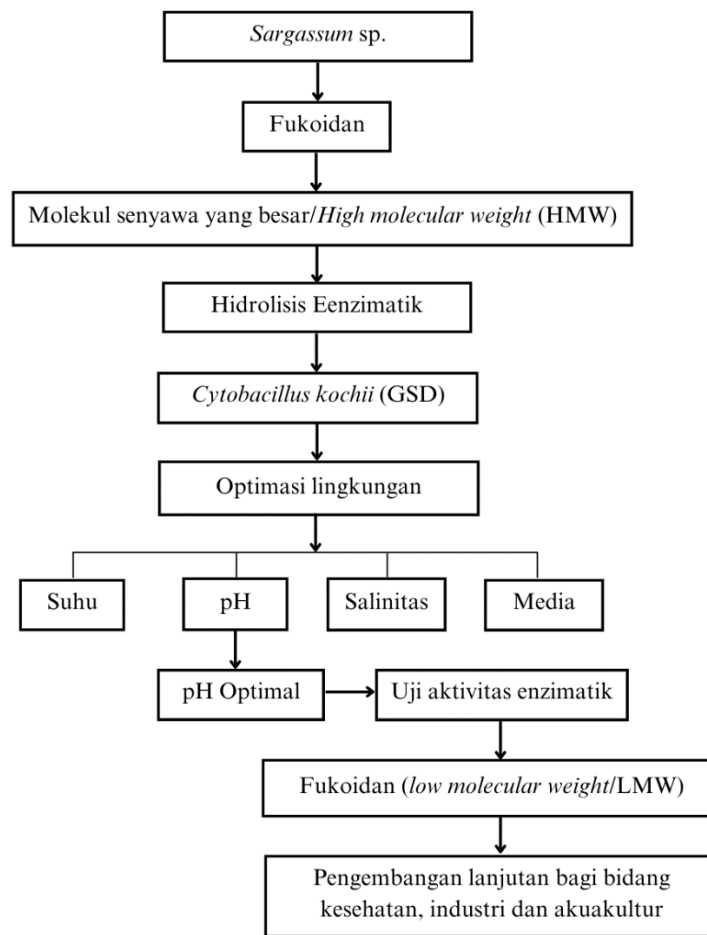
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kondisi lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan *Cytobacillus kochii* GSD khususnya pH dan berperan

dalam meningkatkan produksi enzim fukoidanase secara berkelanjutan dalam skala besar sehingga hasil yang diperoleh dapat dimanfaatkan secara aplikatif di berbagai bidang seperti bidang kesehatan, medis, industri dan perikanan.

1.5 Kerangka Pikir

Sargassum sp. merupakan salah satu rumput laut coklat dengan nilai ekonomis yang tinggi dan dapat menghasilkan salah satu senyawa potensial yaitu fukoidan. Fukoidan adalah polisakarida sulfat yang memiliki bentuk berat molekul tinggi (*high molecular weight*/HMW) sehingga sulit diserap tubuh dan perlu dipecah menjadi berat molekul rendah (*low molecular weight*/LMW). Salah satu metode yang aman dan efektif untuk memecah berat molekul fukoidan adalah metode hidrolisis enzimatis menggunakan enzim fukoidanase yang dapat diproduksi oleh organisme laut seperti bakteri, salah satunya dihasilkan oleh bakteri yang bersimbion dengan rumput laut coklat yaitu *Cytobacillus kochii* GSD.

Produksi enzim fukoidanase sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang terdiri atas suhu, pH, salinitas dan media tumbuh yang digunakan. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi adalah pH. pH yang tidak sesuai dapat mengganggu fungsi enzim, menghambat pertumbuhan bakteri, dan menurunkan produksi enzim. Tahap berikutnya setelah menemukan kondisi pH yang optimal dilakukan uji aktivitas enzimatis pada pH optimal tersebut untuk mengetahui kemampuan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD dalam memecah enzim fukoidan pada pH yang optimal. Hasil penelitian diharapkan dapat mendukung pemanfaatan fukoidan secara aplikatif baik pada bidang kesehatan, medis, industri dan perikanan (Gambar 1).



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

1.6 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis pada penelitian adalah sebagai berikut:

1. Pertumbuhan Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD

$$H_0: \tau_i = 0$$

Tidak terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan pH terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.

$$H_1: \tau_i \neq 0$$

Terdapat minimal satu perlakuan pH yang memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD.

2. Aktivitas Enzim Fukoidanase

H₀: Tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap aktivitas enzim fukoidanase yang dihasilkan oleh *Cytobacillus kochii* GSD pada berbagai waktu inkubasi pada pH optimal.

H₁: Terdapat perbedaan yang nyata terhadap aktivitas enzim fukoidanase yang dihasilkan oleh *Cytobacillus kochii* GSD pada setidaknya satu waktu inkubasi pada pH optimal.

II. TINJAUAN PUSTAKA

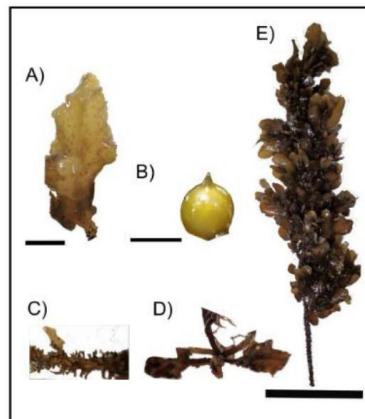
2.1 *Sargassum* sp.

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Sargassum* sp. (Argardh, 1824) adalah sebagai berikut:

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

2.1.2 Morfologi



Gambar 2. Morfologi *Sargassum* sp.; a. blade, b. gas bladder, c. stipe, d. holdfast dan e. thallus

Sumber: (Yip et al., 2018)

Spesies *Sargassum* sp. secara umum memiliki bentuk *thallus* gepeng, cabang yang menyerupai pepohonan di daratan, daun melebar tumbuh memanjang, yang pinggir daun yang bergerigi, berombak, memiliki gelembung udara (*gas bladder*) yang umumnya soliter, dengan batang utama bulat bertekstur agak kasar, dan

memiliki *holdfast* (bagian yang digunakan untuk melekat) berbentuk cakram atau bulat. Memiliki warna coklat dengan ukuran yang relatif besar sekitar 20-50 cm, tumbuh dan berkembang pada dasar substrat yang kuat (Gambar 2). Memiliki bentuk keseluruhan menyerupai semak yang berbentuk radial atau simetris bilateral yang dilengkapi bagian sisi pertumbuhan (Achmadi & Arisandi, 2021).

Sargassum sp. juga memiliki berbagai kandungan senyawa bioaktif pada setiap bagian tubuhnya, termasuk pigmen, polifenol, dan polisakarida. Pigmen utama fukosantin tidak hanya memberi warna coklat keemasan, juga berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker. Polifenol terutama florotanin dalam dinding selnya, melindungi dari stress lingkungan serta berperan sebagai antioksidan, antibakteri, dan neuroprotektif (Wang et al., 2023). Polisakarida seperti fukoidan membantu perlindungan sel dan memiliki manfaat imunomodulator, antikoagulan, serta antivirus (Fitton et al., 2019; Cai et al., 2021).

2.1.3 Kandungan Bioaktif

Rumput laut coklat mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk pigmen seperti fukosantin, florotanin, astaxanthin, fukoidan, dan karotenoid, serta senyawa polifenol seperti asam fenolik, flavonoid, dan tanin (Lomartire & Gonçalves, 2022). Senyawa-senyawa tersebut memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan. Polifenol, khususnya florotanin yang ditemukan dalam spesies seperti *Sargassum thunbergii*, *Undaria pinnatifida*, *Ecklonia* sp., *Eisenia bicyclis*, *Ishige okamurae*, *Hizikia fusiformis*, dan *Laminaria japonica*, berperan sebagai antioksidan, antimikroba, antialergi, antiinflamasi, antikanker, antidiabetes, serta membantu pengendalian obesitas dan HIV. Senyawa lain seperti fukoidan dan karotenoid, memiliki aktivitas antimutagenik, antikoagulan, serta mendukung metabolisme lipid (KKP, 2019).

Astaxantin menunjukkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan neuroprotektif, termasuk proteksi terhadap kerusakan neuron melalui reduksi radikal bebas dan penekanan jalur NF- κ B (Medoro et al., 2023). Asam fenolik berperan sebagai agen antioksidan dan antimikroba, serta melindungi terhadap stres oksidatif, dengan potensi aplikasi dalam bidang farmasi dan kosmetika. Flavonoid menunjukkan

aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan sitotoksik terhadap sel kanker melalui modulasi jalur imun dan pembentukan radikal bebas. Tanin, sebagai polifenol berat, memiliki efek antioksidan dan antimikroba serta kontribusi pada stabilitas produk makanan dan kesehatan usus (Oluwotoyin, 2022).

2.2 Fukoidan

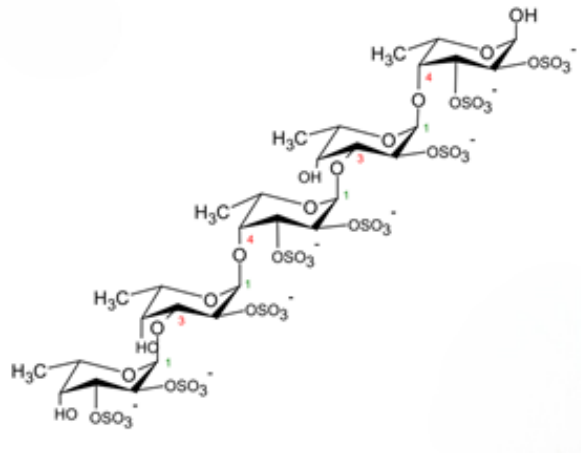
Fukoidan merupakan polisakarida tersulfat alami yang disusun oleh fukosa dan monosakarida lainnya seperti xilosa, manosa, glukosa, asam uronik dan galaktosa (Yue et al., 2025). Fukosa merupakan komponen utama penyusun fukoidan yang ditemukan pada struktur dinding sel rumput laut (Lin et al., 2017). Penelitian yang dilakukan Sinurat et al. (2015) menemukan beberapa jenis rumput laut yang mengandung fukoidan diantaranya adalah *Sargassum* sp., *Turbinaria* sp., dan *Padina* sp. Dibandingkan dengan polisakarida tersulfat lainnya, fukoidan memiliki keunggulan karena tersedia secara luas. Fukoidan menjadi salah satu objek yang lebih banyak diteliti, khususnya dalam pengembangan obat dan makanan fungsional untuk aplikasi kesehatan (Lomartire & Gonçalves, 2022).

Penelitian yang dilakukan oleh Seftylia et al. (2017) menyatakan bahwa *S. polycystum*, *P. minor* dan *T. conoides* menghasilkan senyawa bioaktif berupa daya antioksidan yang tinggi. Secara alami senyawa fukoidan yang terkandung pada alga coklat dapat melindungi organisme dari berbagai mikroorganisme berbahaya yang terkandung di perairan laut (Sinurat & Maulida, 2018). Fukoidan yang diisolasi dari berbagai sumber baik rumput laut dan invertebrata laut telah menjadi fokus penelitian karena aktivitas biologisnya yang beragam, seperti aktivitasnya sebagai antikoagulan dan antirombotik, antivirus, antitumor, imuno-modulator, antiinflamasi, antioksidan, dan kemampuan menurunkan lipid darah, (Skriptsova, 2016; Usol'tseva et al., 2017).

2.2.1 Struktur Kimia Fukoidan

Struktur molekul fukoidan ditentukan oleh keberadaan gugus sulfat dan ikatan glikosidik $\alpha(1\rightarrow2)$, $\alpha(1\rightarrow3)$, atau $\alpha(1\rightarrow4)$. Fukoidan dari alga coklat umumnya memiliki struktur dasar utama yang terdiri atas residu $\alpha(1\rightarrow3)$ -L-fukopiranososa atau

kombinasi residu fukopiranosil yang terhubung melalui ikatan $\alpha(1\rightarrow3)$ dan $\alpha(1\rightarrow4)$ (Gambar 3). Struktur fukoidan yang banyak ditemukan dilengkapi dengan cabang samping yang mengandung residu fukopiranososa atau unit glikosil lain, seperti asam glukuronat. Cabang atau gugus tersebut juga dapat dimodifikasi lebih lanjut dengan penambahan gugus sulfat atau asetat, yang berkontribusi pada kompleksitas dan sifat biologis fukoidan (Lim et al., 2016; Trang et al., 2022).



Gambar 3. Struktur kimia fukoidan

Sumber: (Mensah et al., 2023)

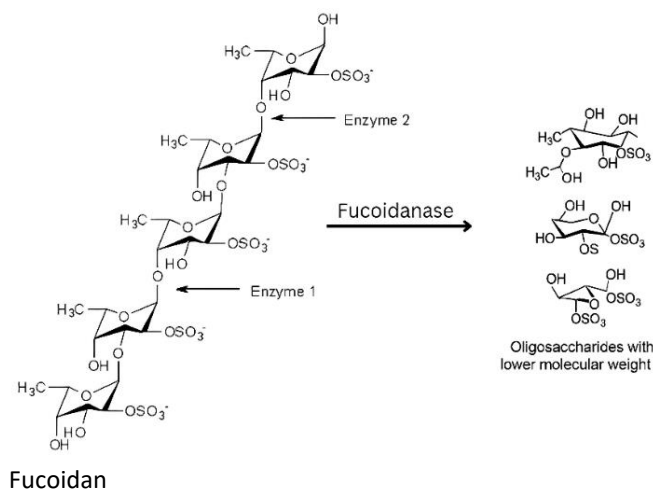
Fukoidan memiliki struktur dan ukuran yang bervariasi sangat dipengaruhi oleh jalur biosintesisnya (Sinurat et al., 2015). Jalur biosintesisnya mencakup beberapa tahapan utama, yaitu: sintesis prekursor GDP-L-fukosa, polimerisasi unit fukosa oleh enzim fukosiltransferase, dan sulfatasi oleh enzim sulfotransferase menggunakan PAPS sebagai donor sulfat.

Berat molekul fukoidan dapat berfluktuasi sepanjang tahun, fluktuasi yang terjadi dipengaruhi musim dan juga faktor lingkungan. Fukoidan dengan berat molekul tertinggi dapat dipanen pada musim reproduksi rumput laut (Skriptsova, 2016). Rentang berat molekul fukoidan umumnya <300 kDa atau sekitar 1246 kDa (Kim et al., 2015; Li et al., 2023). Besarnya molekul fukoidan menjadi masalah dalam pemanfaatan karena sulit diserap oleh tubuh. Berat molekul yang lebih rendah, (*low molecular weight/LMW*) fukoidan, memiliki potensi besar dalam aplikasi di bidang

kesehatan. Fukoidan dengan kisaran 15–30 kDa terbukti efektif sebagai antikoagulan (Luthuli et al., 2019; Qi et al., 2022)

2.3 Hidrolisis Enzimatik

Depolimerisasi secara enzimatik menggunakan enzim fukoidanase untuk memotong ikatan α -(1 $\rightarrow$ 3) atau α -(1 $\rightarrow$ 4) dalam struktur fukoidan, menghasilkan oligosakarida dengan berat molekul rendah (Vuillemin et al., 2020). hidrolisis enzimatik merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan diantara beberapa metode yang tersedia. Hidrolisis enzimatik didefinisikan sebagai proses pemecahan polimer kompleks menjadi monomer oleh aktivitas enzim (Pérez et al., 2002). Ditunjukkan pada (Gambar 4) bahwa enzim tipe 1 menghidrolisis ikatan α -(1 $\rightarrow$ 4), sementara enzim tipe 2 memecah ikatan α -(1 $\rightarrow$ 3) dalam struktur fukoidan (Vuillemin et al., 2020; Barzkar et al., 2023).



Gambar 4. Skema pemecahan struktur fukoidan

Sumber: (Vuillemin et al., 2020; Barzkar et al., 2023)

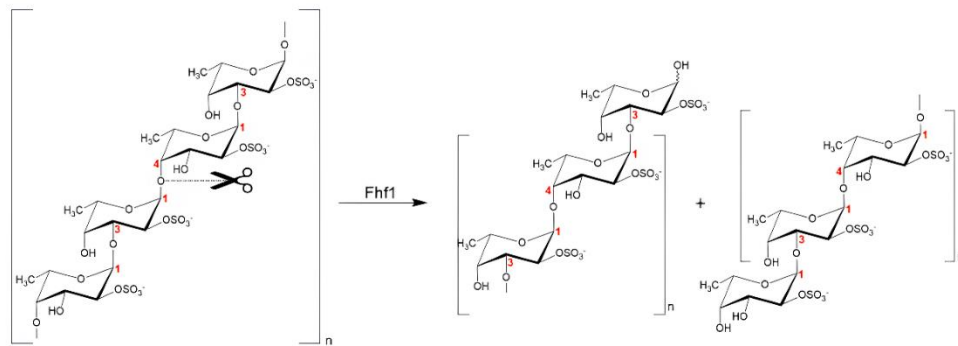
Menurut Pérez et al. (2002), Enzim mempunyai kemampuan untuk mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi sehingga menghasilkan proses hidrolisis yang lebih cepat dibandingkan hidrolisis kimiawi. Fukoidan yang diperoleh melalui pemecahan enzimatik memiliki lebih sedikit zat berbahaya yang tersisa, sehingga meningkatkan keamanan dan kesesuaian untuk digunakan sebagai bahan makanan (Lahrsen et al., 2018).

2.4 Enzim Fukoidanase

Enzim Fukoidanase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis pemutusan ikatan glikosidik antara residu α -L-fukosa tersulfat dalam struktur fukoidan dan memiliki kemampuan untuk memecah fukoidan menjadi fraksi berat molekul rendah (LMWF) tersulfasi tanpa perlu menghilangkan struktur gugus sulfat dari fukoidan tersebut (Silchenko et al., 2018; Zhu et al., 2021). Enzim fukoidanase dapat memecah fukoidan sebesar 98% melalui proses hidrolisis enzimatik (Chen et al., 2016; Chen et al., 2019). Enzim fukoidanase tergolong ke dalam glikosida hidrolase 107 (GH107) berdasarkan klasifikasi enzim aktif terhadap karbohidrat (*Carbohydrate-Active enZymes/CAZy*) (Kusaykin et al., 2015). Enzim fukoidanase berasal dari beberapa sumber, dengan sumber utama adalah mikroorganisme laut diantaranya adalah bakteri laut, rumput laut, dan bulu babi (Barzhkar et al., 2023).

2.4.1 Bakteri Penghasil Fukoidanase

Beberapa bakteri laut diketahui menghasilkan enzim fukoidanase yaitu *Vibrio* sp. dan *Pseudoalteromonas* sp. (Barzhkar et al., 2023). Bakteri-bakteri tersebut menunjukkan memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim fukoidanase yang mampu memecah senyawa fukoidan menjadi molekul yang lebih rendah. Sebagian besar bakteri tersebut dihasilkan dari isolasi rumput laut coklat seperti *Pelvetia canaliculata*, *Fucus spiralis*, dan *Ascophyllum nodosum* dengan aktivitas fukoidanase tertinggi tercatat pada spesies *Cytophaga* dan *Alteromonas/Pseudoalteromonas* (Yang et al., 2021). Bakteri laut yang diisolasi dari *Formosa haliotis* (Fhf1) mampu menghasilkan enzim fukoidanase yang memiliki kemampuan untuk memecah fukoidan melalui mekanisme hidrolisis pada ikatan O-glikosidik yang terdapat dalam rantai utama molekul fukoidan (Gambar 5).

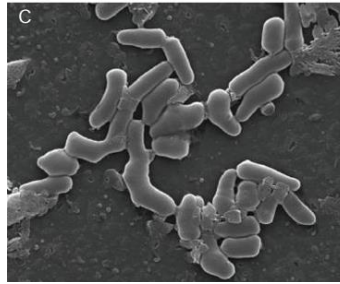


Gambar 5. Pemecahan fukoidan oleh enzim fukoidanase yang dihasilkan bakteri laut *Formosa haliotis*
Sumber: (Vuillemin et al., 2020)

Enzim fukoidanase yang diproduksi oleh bakteri bekerja dengan cara menghidrolisis ikatan-ikatan tertentu pada fukoidan. Potensi bakteri pemecah fukoidan juga ditemukan pada thallus *Sargassum polycystum* yang bersimbiosis dengan bakteri genus *Bacillus* dan *Brevibacterium*. Bakteri yang telah ditemukan diantaranya, *Cytobacillus kochii* GSD, *Bacillus cereus* PFT, dan *Brevibacterium sediminis* PSA diidentifikasi sebagai kandidat potensial penghasil fukoidanase dengan aktivitas tertinggi ditemukan pada *Cytobacillus kochii* GSD (Darmawan, 2023).

Bakteri *Cytobacillus kochii* pertama kali ditemukan oleh Robert Koch seorang *microbiologist* terkenal dalam penelitiannya tentang *Bacillus anthracis* (Seiler et al., 2012). Morfologi sel berbentuk batang (basil), tersusun berkelompok, dan memiliki permukaan yang halus. Ukuran sel diperkirakan berkisar 2–5 μm dengan lebar sekitar 0,5 μm . Morfologi ini sesuai dengan karakteristik umum bakteri genus *Cytobacillus*, yang termasuk kelompok Gram positif berbentuk batang (Gambar 6) (Patel & Gupta et al., 2020; Zhu et al., 2021). Adapun klasifikasi dari *Cytobacillus kochii* menurut Seiler et al. (2012) dan Darmawan (2023) sebagai berikut:

Filum	: Bacillota
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Caryophanales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: <i>Cytobacillus</i>
Spesies	: <i>Cytobacillus kochii</i>



Gambar 6. Morfologi bakteri *Cytobacillus kochii*
Sumber: (Xuewen et al., 2023)

Cytobacillus kochii GSD merupakan salah satu jenis bakteri yang dapat menjadi kandidat pemecah senyawa fukoidan. Bakteri simbion ditemukan dari *thallus* alga cokelat jenis *Sargassum polycystum* memiliki aktivitas fukoidanase yang tinggi dengan kode GSD. Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD memiliki ciri berwarna krem-orang berbentuk *circular* dengan elevasi *flat* dan tepian *entire*. *Cytobacillus kochii* GSD juga diidentifikasi sebagai bakteri dengan gram positif yang bersifat fermentatif, *Cytobacillus kochii* GSD memiliki aktivitas fukoidanase yang paling besar dan menunjukkan waktu panen fukoidanase tertinggi pada jam ke-72 dengan nilai sebesar 0,0072 U/mg dan 0,0083 U/mg. Umur panen 48-72 jam merupakan waktu yang cukup baik untuk menghasilkan enzim yang lebih banyak sehingga dapat memiliki aktivitas fukoidanase yang lebih tinggi (Darmawan, 2023).

2.5 Faktor Lingkungan

Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme dipengaruhi oleh dua faktor utama, yaitu faktor nutrisi dan faktor lingkungan. Nutrisi merupakan komponen esensial yang menunjang pertumbuhan mikroorganisme dan terbagi menjadi makronutrien serta mikronutrien. Unsur-unsur seperti karbon (C), oksigen (O), nitrogen (N), dan hidrogen (H) berperan sebagai pembentuk utama material sel (Subagiyo et al., 2015). faktor lingkungan seperti pH, suhu, tekanan osmotik, dan salinitas juga memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Suhu, pH, dan salinitas merupakan parameter lingkungan yang paling krusial dalam menentukan aktivitas dan kelangsungan hidup bakteri (Fitria & Zulaika, 2019).

Perkembangan bakteri sangat dipengaruhi oleh pH karena berhubungan dengan aktivitas enzimatik yang dibutuhkan bakteri untuk memfasilitasi proses yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Tingkat pH yang terlalu tinggi atau terlalu rendah suatu media atau lingkungan akan mengganggu fungsi enzim sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Jin & Kirk 2018). Bakteri dapat tumbuh jika pH berada pada tingkat optimal hal sebaliknya terjadi jika pH lingkungan terlalu tinggi atau rendah maka akan berdampak buruk terhadap pertumbuhan bakteri yang berpotensi menyebabkan kematian Sayuti et al., (2022).

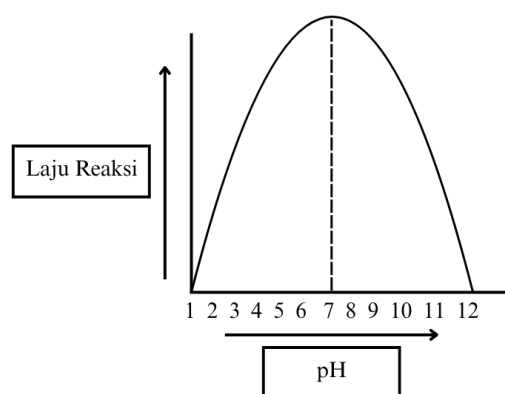
Potensial hidrogen (pH) yang menunjukkan derajat keasaman, memainkan peran penting dalam perkembangbiakan bakteri. Kondisi pH tertentu mempengaruhi konsentrasi bakteri yang dihasilkan, baik dalam jumlah tinggi maupun rendah (Fajar et al., 2022). Pertumbuhan bakteri biasanya terjadi pada kisaran pH 4-9, dengan pH yang paling sesuai adalah antara 6,5-7,5. Pada kondisi asam, membran sel mikroorganisme terisi dengan ion hidrogen, yang membatasi pergerakan zat melintasi membran. Keracunan yang disebabkan oleh pH rendah disebabkan oleh infiltrasi bahan kimia asam yang belum terurai ke dalam sel, menyebabkan ionisasi dan selanjutnya perubahan pH sel. Perubahan yang terjadi menghambat proses transmisi asam amino dari RNA sehingga menghambat perkembangan mikroba dan berpotensi menyebabkan kematian bakteri (Haryati *et al.*, 2015). Berdasarkan pH untuk pertumbuhan bakteri dibagi menjadi tiga tipe terdiri atas *acidophile*, *neutrophile* dan *alkalophile*. *Acidophile* tumbuh optimal pada rentang pH 0 sampai 5, *Neutrophile* tumbuh pada rentang pH 5,5 sampai 8,0, dan *Alkalophile* tumbuh optimum pada rentang pH 8,5 sampai 11,5 (Willey et al., 2008).

Bakteri penghasil fukoidanase juga tidak terlepas dari pengaruh pH, Fukoidanase dari bakteri laut paling optimal pada kisaran pH netral (pH 7) hingga sedikit basa (pH 8). Enzim fukoidanase dari invertebrata laut, seperti yang ditemukan pada *Haliotis sp.*, *Lambis sp.*, *Vasticardium flavum*, dan *Strongylocentrotus nudus*, umumnya memiliki aktivitas puncak pada pH asam, yaitu antara 3,5 hingga 5,5. Enzim yang didapatkan dari hati pankreas moluska *Littorina kurila* menunjukkan sifat yang berbeda, dengan aktivitas optimal di pH asam (5,5) dan basa (8,0).

2.6 Aktivitas Enzimatik

Enzim adalah molekul protein yang bertindak sebagai katalis dalam proses kimiawi di dalam sistem biologis. Enzim memiliki aktivitas katalistik yang sangat tinggi, mampu mempercepat reaksi hingga satu juta kali lebih cepat dibandingkan tanpa keberadaan enzim. Molekul enzim juga memiliki selektivitas yang tinggi terhadap substrat yang dilibatkan dalam proses katalisisnya (Kusumaningrum et al., 2019). Enzim sebagai biokatalisator yang tersusun dari protein, memiliki aktivitas yang dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti pH, suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, serta keberadaan aktivator atau inhibitor (Kumar et al., 2024).

Salah satu parameter penting yang menentukan efisiensi kerja enzim adalah tingkat keasaman (pH) lingkungannya. Enzim hanya menunjukkan aktivitas optimal pada rentang pH tertentu. Pada pH optimal, enzim bekerja maksimal, sedangkan pada pH ekstrem, aktivitas menurun drastis atau bahkan terhenti akibat kerusakan struktur molekulnya. Sebagai protein, struktur enzim sangat dipengaruhi oleh keasaman lingkungan; kondisi terlalu asam atau basa dapat menyebabkan denaturasi dan mengganggu fungsi enzim (Nurkhotimah et al., 2017). Melalui kurva berbentuk parabola (Gambar 7) menunjukkan bahwa laju reaksi meningkat seiring kenaikan pH hingga mencapai titik optimum, kemudian menurun tajam setelah melewati pH optimal. Penurunan terjadi karena struktur enzim mulai tidak stabil dan tidak mampu lagi mengikat substrat secara efisien (Supriyanti & Poedjiadi, 2007).



Gambar 7. Pengaruh pH terhadap laju reaksi enzim
Sumber : (Supriyanti & Poedjiadi, 2007)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Adapun waktu dan tempat dilaksanakan:

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan sekitar 10 bulan, ekstraksi fukoidan dan pengujian optimasi pH dilaksanakan selama 4 bulan, mulai April s.d Juli 2024, dilanjutkan untuk uji aktivitas fukoidanase pada Desember 2024 s.d Januari 2025. Analisis dan pengolahan data dilakukan pada Oktober 2024 s.d Januari 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

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

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 1 dan 2

Tabel 1. Alat penelitian

No.	Alat	Spesifikasi	Merek	Kegunaan
1.	Mikropipet	Kapasitas 20-200 μL	Dlab	Pengambil substrat bakteri dalam satuan mikroliter.
2.	Yellow tip	Kapasitas 100 μL	Onemed	Pengambil sampel bakteri saat kultur dengan volume 50 μL .
3.	Blue tip	Kapasitas 1000 μL	Onemed	Pengambil sampel bakteri dengan volume 1000 μL .
4.	Pipet tetes	Kapasitas 1 mL	-	Pengambil larutan.
5.	Kuvet Kaca	Kapasitas 3 mL	-	Wadah sampel bakteri untuk dianalisis pada spektrofotometer.
6.	pH meter	0 hingga 14	Muramaru	Pengukur pH.
7.	<i>Spreader</i>	-	-	Perata sampel pada media padat.
8.	Jarum ose	-	-	Pemindah koloni mikroba ke media kultur.
9.	Bunsen	-	-	Alat sterilisasi.
10.	Kertas Saring	Nomor. 40	Whattman	Penyaring larutan.

Tabel 1 Lanjutan

11.	Corong Kaca	Diameter 40 mm	Herma	Penyaring larutan.
12.	Tabung eppendorf	10 mL	Onemed	Wadah media cair.
13.	Cawan petri	15 mL	Labotiq	Wadah pertumbuhan bakteri.
14.	Tabung reaksi	15 mL	Pyrex	Wadah kultur bakteri.
15.	Masker medis	Kapasitas 50 lembar	Onemed	Pelindung wajah dari bahan kimia.
16.	Sarung tangan medis	Kapasitas 100 lembar	Onemed	Pelindung tangan dari bahan kimia.
17.	Gelas bekker	50 mL	Borosilicate	Wadah pencampuran larutan.
18.	Gelas ukur	250 mL	Onemed	Pengukur larutan.
19.	Rak tabung reaksi	Kapasitas 12 susun	-	Wadah tabung reaksi
20.	Timbangan analitik	Kapasitas 0.001-500 g	Sojiky	Pengukur massa presisi tinggi.
21.	Erlenmeyer	500 mL	Duran	Wadah pencampuran antara bahan dan larutan.
22.	Gelas bekker	500 mL	Pyrex	Wadah pencampuran larutan.
23.	Hotplate	Kapasitas 3L	Dlab	Pemanas larutan dengan suhu terkontrol.
24.	Rotary Evaporator	Kapasitas 4L	IKA RV 10	Penguap pelarut dengan sistem vakum dan rotasi.
25.	Spektrofotometri UV-Vis	Panjang gelombang 200-800 nm	B-One	Pengukuran konsentrasi senyawa melalui serapan UV
26.	Vortex	Kecepatan 0 - 2500 RPM	Dlab	Alat untuk menghomogenkan larutan.
27.	Inkubator	Kapasitas 10 L	B-One	Penyimpan bakteri dengan suhu stabil.
28.	Autoklaf	Kapasitas 18 L	GEA	Alat untuk sterilisasi.
29.	Laminary air flow	-	Esco	Menjaga kebersihan area kultur bakteri dengan aliran udara steril.
30.	Spidol Marker	hitam	Snowman	Penanda cawan petri.
31.	Korek Api	-	Indomaret	Pematik bunsen.
32.	Botol spray	10 mL	Mr. DIY	Wadah alkohol.
33.	Hand Tally Counter	-	Kenko	Perhitungan bakteri manual.
34.	Kain kasa	Kapasitas 10 lembar	Onemed	Pelapis kapas untuk penutup tabung reaksi.
35.	Kapas	Berat 50 g	Onemed	Alat penutup tabung reaksi.
36.	Tissue	Kapasitas 500 lembar	Nice	Pembersih dan pengering peralatan laboratorium.
37.	Plastik tahan panas	Kapasitas 500-1000 mL	Diana	Wadah pembungkus alat dan bahan.
38.	Aluminium Foil	-	Klinpak	Penutup erlenmeyer.
39.	Kamera ponsel	-	Samsung	Menyimpan gambar
40.	Laptop	-	Dell	Analisis data.
41.	Kulkas	100-250 L	Sharp	Penyimpan sampel.

Tabel 2. Bahan penelitian

No.	Bahan	Konsentrasi	Spesifikasi	Kegunaan
1.	<i>Triticase Soy Agar</i>	40 g/L	Pro analisis	Media padat untuk kultur bakteri.
2.	<i>Trypticase Soy Broth</i>	30 g/L	Pro analisis	Media cair untuk pengenceran bakteri.
3.	C ₂₁ H ₃₈ ClN 10%	0,29 M	Pro analisis	Kontrol positif.
4.	Kertas Cakram	Diameter 6 mm	Macherey-Nagel	Pendeteksi aktivitas enzim fukoidanase.
5.	Air laut steril	100%	Teknis	Larutan campuran media.
6.	Spirtus	-	Teknis	Bahan bakar bunsen.
7.	Aquades (-)	-	Teknis	Kontrol negatif.
8.	CaCl ₂	1,8 M	Teknis	Pelarut sampel.
9.	Etanol	85%	Teknis	Pelarut sampel.
10.	Alkohol	96%	Teknis	Disinfektan.
11.	HCl	5%	Teknis	Pengatur keasaman dalam larutan atau media.
12.	NaOH	5%	Teknis	Bahan untuk membuat larutan menjadi basa.
13.	BaCl	1%	Teknis	Bahan pembuatan larutan <i>Mcfarland</i> .
14.	H ₂ SO ₄	1%	Teknis	Bahan pembuatan larutan <i>Mcfarland</i> .
15.	<i>Sargassum</i> sp.	-	Rumput laut	Sampel penghasil fukoidan.
16.	<i>Cytobacillus kochii</i> GSD	-	Bakteri	Bakteri penghasil enzim fukoidanase.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi pH terhadap pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD dan aktivitas enzim fukoidanase yang dihasilkan pada pH optimal. Perlakuan yang diberikan berupa variasi pH dengan masing-masing kondisi diuji sebanyak 3 ulangan untuk memperoleh data yang dapat dianalisis secara statistik (Montgomery, 2017).

P1: *Cytobacillus kochii* GSD dengan pH media 3,6

P2: *Cytobacillus kochii* GSD dengan pH media 5

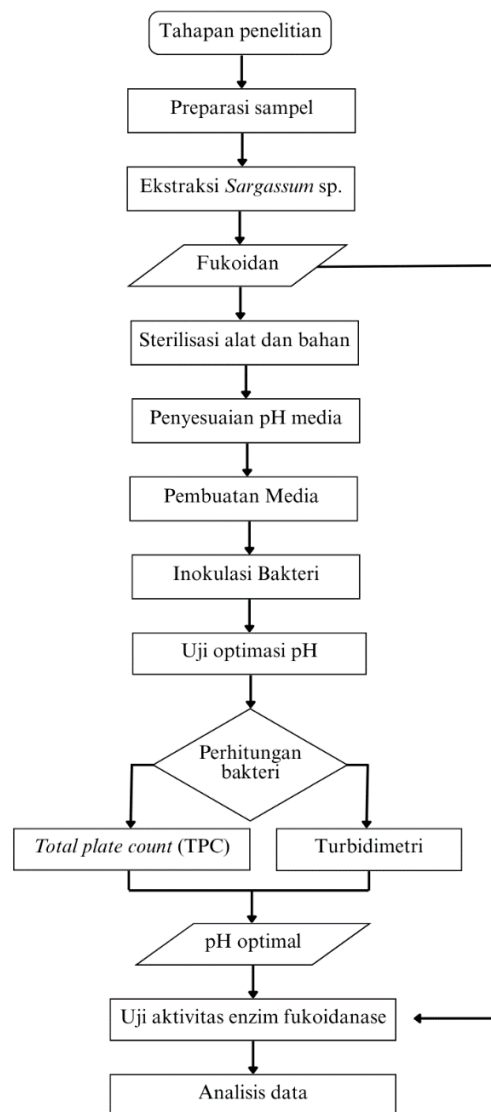
P3: *Cytobacillus kochii* GSD dengan pH media 7

P4: *Cytobacillus kochii* GSD dengan pH media 9

P5: *Cytobacillus kochii* GSD dengan pH media 10,3

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian diawali dengan preparasi sampel *Sargassum sp.* dan ekstraksi untuk memperoleh senyawa fukoidan, dilanjutkan dengan sterilisasi alat dan bahan, penyesuaian pH media, serta pembuatan media cair dan padat. Isolat bakteri murni diinokulasikan ke dalam media baru untuk proses optimasi pH. Optimasi dilakukan melalui pengamatan pertumbuhan bakteri menggunakan metode *total plate count* (TPC) dan turbidimetri. Tahapan selanjutnya adalah dilakukan uji aktivitas enzim fukoidanase kemudian semua data dianalisis (Gambar 8).



Gambar 8. Alur Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Sampel alga cokelat *Sargassum* sp. diperoleh dari wilayah perairan di Lampung, yaitu Pantai Sebalang (Lampung Selatan). Setelah dikumpulkan, alga dicuci menggunakan air tawar bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran serta substrat yang masih menempel pada bagian akarnya kemudian sampel dijemur selama 2 hari.

3.4.2 Ekstraksi Fukoidan

Sebanyak 50 gram *Sargassum polycystum* dikeringkan terlebih dahulu, kemudian digiling menggunakan blender hingga berbentuk serbuk. Serbuk hasil penggilingan tersebut lalu dimaserasi menggunakan larutan HCl 0,1 N dengan rasio 1:10 (m/v) selama 24 jam. Campuran hasil maserasi pertama disaring menggunakan kain blacu untuk memisahkan filtrat dan kotoran. Endapan yang diperoleh akan dimaserasi ulang dengan larutan HCl 0,2 N pada rasio dan durasi yang sama. Kedua filtrat yang dihasilkan kemudian digabungkan dan disaring menggunakan kertas saring Whatman nomor 40 (Setyawan et al., 2018).

Filtrat gabungan diuapkan menggunakan alat rotary evaporator (IKA RV 10, Jerman) pada suhu 60 °C hingga diperoleh volume akhir sebesar 100 mL. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dipresipitasi dengan penambahan 100 mL etanol dingin 96% (v/v), lalu disimpan di lemari pendingin selama 2 jam. Campuran hasil presipitasi tersebut kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan fase endapan dari supernatan. Endapan yang diperoleh selanjutnya dilarutkan kembali dalam akuades yang telah disesuaikan hingga pH 2, kemudian ditambahkan kalsium klorida (CaCl_2) hingga mencapai konsentrasi akhir sebesar 2 M.

Larutan yang telah ditambahkan kalsium klorida (CaCl_2) dibiarkan pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah inkubasi, campuran kembali disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan. Supernatan yang diperoleh selanjutnya dipresipitasi kembali menggunakan etanol dingin 96% (v/v) dan didiamkan selama 24 jam di lemari pendingin. Proses sentrifugasi diulang pada

kecepatan yang sama untuk memperoleh endapan, yang kemudian diambil sebagai hasil akhir berupa fukoidan.

3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Proses sterilisasi diawali dengan penyiapan alat dan bahan yang terdiri atas erlenmeyer, gelas beaker, tabung reaksi, cawan petri, serta media *Tryptone Soy Agar* (TSA) dan *Tryptone Soy Broth* (TSB). Alat yang telah disiapkan kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf lalu autoklaf ditutup, disambungkan ke sumber listrik, dan waktu sterilisasi diatur selama 15 menit untuk alat dan 20 menit untuk bahan. Waktu keseluruhan yang dibutuhkan, mulai dari tahap persiapan, sterilisasi, penuangan media, hingga penyimpanan media, berkisar antara 45 hingga 60 menit.

3.4.4 Penyesuaian pH Media

Lima kondisi pH yang berbeda digunakan, yaitu 3,6; 5; 7; 9; dan 10,3. Rentang pH tersebut ditentukan melalui metode *Response Surface Methodology* (RSM), yaitu pendekatan eksperimental yang menggabungkan analisis statistik dan pemetaan data untuk memperoleh nilai optimum dari faktor yang memengaruhi respons tertentu (Widarsaputra et al., 2022). Nilai pH 3,6 dan 10,3 merupakan titik minimum dan maksimum yang dihasilkan dari perhitungan RSM menggunakan perangkat R dengan rancangan percobaan *Central Composite Design* (CCD) tiga faktor dan menghasilkan nilai 1,681 sebagai titik pusat. Penentuan pH juga didasari oleh penelitian Silchenko et al. (2013) dan Qiu et al. (2022) bahwa bakteri penghasil fukoidanase dapat tumbuh pada pH 4 dan kisaran pH 6,5–9,1.

Proses penyesuaian pH dilakukan dengan menambahkan larutan NaOH 1M 5% atau HCl 1M 5% ke dalam media TSA dan TSB, yang digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri (Respati et al., 2017). Parameter lingkungan seperti suhu, salinitas, dan komposisi media dipertahankan agar sesuai dengan kondisi lingkungan yang optimal (Subagiyo et al., 2015). Suhu optimasi pada 37 °C, salinitas 30 ppt, dan media yang digunakan adalah TSA serta TSB. Pengaturan dilakukan bertujuan untuk

memastikan validitas hasil penelitian dan variabel lain seperti suhu, salinitas dan media tidak akan mempengaruhi variabel yang akan diujikan pada penelitian, yaitu pH.

3.4.5 Pembuatan Media

Tahapan pembuatan media diawali dengan penimbangan 30 g TSA dan 7,5 g TSB. Bahan-bahan yang telah disiapkan kemudian dicampurkan dengan 750 mL larutan yang telah disesuaikan nilai pH, lalu dipanaskan menggunakan *hot plate* selama 15 menit hingga homogen. Prosedur serupa dilakukan untuk media TSB dengan penambahan 250 mL larutan pH yang sesuai. Setelah pencampuran selesai, media disterilisasi dengan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C.

Setelah proses autoklaf selesai, media TSA dituangkan ke dalam 75 cawan petri, sedangkan media TSB dimasukkan ke dalam 50 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 mL. Media yang telah siap digunakan disimpan di dalam lemari pendingin untuk menjaga kondisi steril. Tahapan sterilisasi media sangat penting untuk memastikan bahwa media bebas dari kontaminasi dan dapat digunakan secara optimal untuk pertumbuhan mikroorganisme (Wulandari et al. 2022).

3.4.6 Inokulasi Bakteri

Inokulasi bakteri adalah proses pemindahan biakan murni ke media baru dengan tujuan untuk menumbuhkan atau memperbanyak kultur stok bakteri (Putri et al., 2017). Proses inokulasi dilakukan menggunakan metode gores satu kuadran pada media TSA, lalu diinkubasi selama 24 jam (Gambar 9A) (Sepriyanto, 2017). Setelah masa inkubasi, hasil kultur dipindahkan ke media baru menggunakan metode gores empat kuadran. Metode streak empat kuadran bertujuan untuk memperoleh koloni tunggal yang terpisah dari koloni lain pada permukaan media (Arini, 2016).

Proses inokulasi *streak plate* empat kuadran diawali dengan mengambil stok bakteri hasil inokulasi sebelumnya, kemudian pada cawan baru diberikan penomoran 1 sampai 4 setelah mengambil isolat bakteri dengan menggunakan jarum ose, kuadran pertama digores. Setelah jarum ose disterilkan, ujung yang digunakan pada kuadran

pertama ditarik ke kuadran kedua untuk diaplikasikan kembali hingga tercapai kuadran keempat, proses *streak plate* diulangi (Gambar 9B) (Sepriyanto, 2017). Inkubasi selama 24 jam kemudian *Single colony* yang telah didapatkan kemudian dikultur kembali dalam media TSB cair. Hasil kultur pada media TSB cair akan digunakan untuk optimalisasi pH.



Gambar 9. Ilustrasi inokulasi dengan metode *streak*

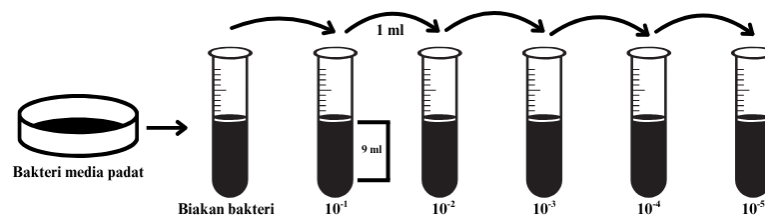
Sumber: (Sepriyanto, 2017)

Keterangan: (A) metode *streak* satu kuadran dan (B) metode *streak* empat kuadran

3.4.7 Uji Optimasi pH

3.4.7.1 Pengenceran Bertingkat

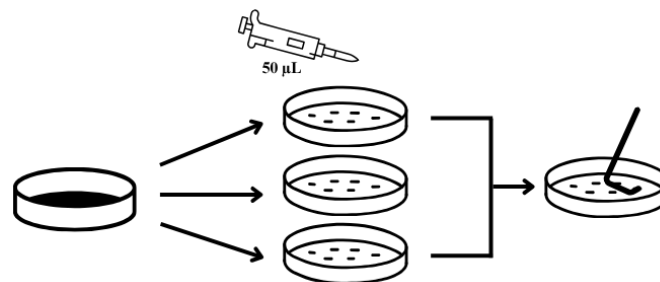
Proses pelarutan isolat bakteri dari substrat atau media padat ke dalam media cair dilakukan sebagai langkah awal sebelum melanjutkan ke metode perhitungan bakteri seperti *total plate count* dan turbidimetri. Pengenceran bertingkat digunakan untuk memperoleh jumlah bakteri tersuspensi yang berbeda pada setiap tingkatannya untuk mempermudah perhitungan koloni (Kadri et al., 2015; Yunita et al., 2015). Pengenceran bertingkat umumnya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1.1000, dan seterusnya atau dengan bilangan pangkat seperti 10^{-1} pengenceran akan dilakukan sampai hingga 10^{-5} , lalu sekitar 1 mL suspensi bakteri dari setiap tingkatan diambil dan dihomogenkan (Widiastiti et al., 2015).



Gambar 10. Ilustrasi pengenceran bertingkat
Sumber: (Kadri et al., 2015; Widiastiti et al., 2015)

3.4.7.2 Kultur Bakteri Pada Variasi pH

Bakteri *Cytobacillus kochii* GSD yang telah melalui proses pengenceran bertingkat selanjutnya dikultur pada media padat TSA dengan lima variasi pH perlakuan. Pengujian diawali dengan mengambil masing-masing sampel dari hasil pengenceran bertingkat, mulai dari pengenceran ke-1 hingga ke-5. Sebanyak 50 μ L dari setiap tingkat pengenceran dituang ke dalam cawan petri yang berisi media TSA, kemudian diratakan menggunakan *spreader*. Setiap pengenceran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, dilanjutkan dengan pengamatan dan perhitungan jumlah koloni. Prosedur yang sama juga dilakukan kembali setelah inkubasi selama 48 jam.



Gambar 11. Ilustrasi kultur bakteri pada variasi pH

3.4.8 Perhitungan Kelimpahan Bakteri

3.4.8.1 Total Plate Count (TPC)

Total plate count (TPC) merupakan salah satu metode yang menggunakan teknik *spread plate* untuk melihat jumlah mikroba secara keseluruhan (Irfan & Jufri, 2021). Penggunaan teknik *spread plate* akan menghasilkan biakan bakteri murni

dengan pengukuran koloni bakteri lebih mudah dilakukan dan waktu yang diperlukan untuk kultur lebih singkat (Seniati et al., 2017). Standar untuk perhitungan yang valid adalah antara 30-300 koloni setiap cawan agar memastikan akurasi dan untuk menghindari kesalahan dalam perhitungan akibat terlalu sedikit atau terlalu banyaknya koloni. *Standar plate count* (SPC) adalah metode yang digunakan untuk mendapatkan jumlah mikroba dengan rentang 30–300 *Colony Forming Unit* (CFU/mL) dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} . Tujuannya adalah untuk meminimalkan kemungkinan kesalahan dalam proses analisis, khususnya kesalahan statistik (Yunita et al., 2015). Perhitungan Standar plate count (SPC) dilakukan berdasarkan pada penelitian (Soesetyaningsih & Azizah, 2020) menggunakan rumus:

$$\text{Kelimpahan sel bakteri (CFU/mL)} = \frac{\text{Jumlah Koloni pada Cawan}}{\text{Volume Inokulum (mL)} \times \text{Faktor Pengenceran}}$$

3.4.8.2 Turbidimetri

Metode turbidimetri adalah metode pengukuran kekeruhan atau turbiditas dalam kultur bakteri pada media sebagai indikator dari jumlah bakteri. Kekeruhan diukur menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 620 nm. Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis adalah dengan mengukur absorbansi dari sampel yang dinyatakan dalam fungsi panjang gelombang (Khoiroh, 2014). Cara kerja dari alat spektrofotometri UV-Vis adalah membandingkan kekeruhan suspensi bakteri menggunakan larutan standar *McFarland*. Penggunaan larut *McFarland* menjadi referensi untuk menyesuaikan kekeruhan bakteri agar dalam kisaran yang telah diberikan. Metode turbidimetri memerlukan kurva standar bakteri yang berfungsi untuk membuat hubungan kuantitatif antara absorbansi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan jumlah sel bakteri. Kurva standar bakteri dibuat dengan cara mengukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data absorbansi dan jumlah sel yang telah diperoleh, kurva standar dibuat dengan hubungan antara absorbansi (OD) pada sumbu y dan log jumlah sel bakteri (CFU/mL) pada sumbu x (Rosmania & Yanti 2020). Persamaan regresi linier digunakan untuk memperkirakan jumlah sel bakteri dari nilai absorbansi. Persamaan regresi linear yang digunakan yaitu:

$$y = a + bx$$

Keterangan:

- y = Kelimpahan Bakteri CFU/mL (variabel tak bebas)
 x = Waktu (variabel bebas)
 a = Konstanta
 b = Koefisien regresi

Pengamatan pertumbuhan bakteri metode turbidimetri dilakukan setelah inkubasi 24 jam. Pengamatan dilakukan 3 jam selama 24 jam observasi untuk mengetahui pola tren pertumbuhan bakteri. Sampel yang telah dituang ke dalam kuvet kaca diletakkan dalam spektrofotometri UV-Vis dan panjang gelombang pada spektrofotometri diatur menjadi 620 nm.

3.4.9 Laju Pertumbuhan Bakteri

Sampel yang berbentuk media cair diamati setiap 3 jam setelah periode inkubasi selama 24 jam, hingga mencapai 48 jam. Absorbansi diukur untuk memantau fase log pertumbuhan tiap bakteri. Perhitungan tersebut dilakukan dengan menganalisis fase log menggunakan persamaan (1), (2), dan (3) (Sterritt dan Lester, 1988):

$$K = \frac{\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right)}{0,301t} \quad (1)$$

$$g = 1/K \quad (2)$$

$$\mu = 0,693K \quad (3)$$

Keterangan:

- K = Nilai laju pertumbuhan eksponensial
 N_t = Jumlah/kelimpahan awal bakteri pada waktu awal pengamatan ($t = 0$ jam)
 N_0 = jumlah/kelimpahan bakteri pada waktu ke-t tertentu selama periode pengamatan
 t = Waktu
 g = *Mean doubling time*
 μ = Konstanta laju pertumbuhan spesifik

3.4.10 Uji Aktivitas Fukoidanase

Penentuan aktivitas fukoidanase dilakukan secara kualitatif berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Sawant et al. (2015) dan Darmawan (2023), menggunakan reagen *cetyl pyridinium chloride* (CPC). Sebanyak 100 μL atau 1×10^8 CFU/mL kelimpahan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD yang telah diinkubasi selama 24 jam, ditetaskan ke dalam cawan petri yang berisi media TSA yang mengandung fukoidan dengan konsentrasi 1 mg/mL. Suspensi diratakan secara merata di permukaan media menggunakan *spreader*, lalu didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang agar bakteri dapat difusi bakteri ke dalam media agar. Cakram kertas dengan diameter 6 mm diletakkan di atas permukaan media dan ditetaskan larutan CPC 10% sebanyak 10 μL . Cawan petri yang telah diperlakukan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.5 Rendemen Fukoidan

Proses ekstraksi dilakukan dalam tiga ulangan dengan masing-masing menggunakan 50 g berat kering *Sargassum* sp. untuk mengukur rendemen fukoidan. Rendemen ekstrak dihitung dengan berat akhir (hasil ekstrak) dengan perbandingan berat awal (berat sampel) dikalikan 100% (Yainahu et al., 2023).

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh akan ditabulasi menggunakan *microsoft excel* lalu perhitungan jumlah koloni bakteri pada waktu inkubasi 24 jam dianalisis menggunakan Uji *Kruskal-wallis* dan data hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada waktu inkubasi 48 jam dianalisis menggunakan *Independent sample Test/ Uji-T* pada tingkat signifikansi 95% ($p < 0,05$) kemudian disajikan dalam bentuk diagram batang untuk menggambarkan pola data. Data absorbansi disajikan dalam grafik untuk melihat pola pertumbuhan selama 48 jam pengamatan. Data aktivitas fukoidanase dianalisis menggunakan uji *Kruskal-wallis* dan disajikan dalam bentuk diagram batang.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Adapun kesimpulan yang didapatkan dari penelitian adalah:

1. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii* GSD adalah pH 7 dengan jumlah kelimpahan koloni bakteri dan laju pertumbuhan tertinggi serta *doubling time* yang lebih singkat.
2. Ditemukan zona bening yang menandakan aktivitas enzim fukoidanase yang dihasilkan oleh *Cytobacillus kochii* GSD pada pH optimal (pH 7).

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait keamanan aplikasi fukoidan dengan bentuk molekul rendah yang selanjutnya dapat dimanfaatkan pada bidang pangan, bidang kesehatan, dan bidang akuakultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, R., & Arisandi, A. (2021). Perbedaan distribusi alga coklat (*Sargassum* sp.) di perairan Pantai Srau dan Pidakan Kabupaten Pacitan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, 2(1), 25–31.
<https://journal.trunojoyo.ac.id/juvenil/article/view/9766>.
- Agardh, C. A. (1824). *Sargassum polycystum*. <https://www.algaebase.org>.
- Ale, M., T., & Meyer, A., S. (2013). Fucoidans from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *The Royal Society of Chemistry*, 3(22), 8131-3141.
- Anisha, G. S., Padmakumari, S., Patel, A. K., Pandey, A., & Singhanian, R. R. (2022). Fukoidan from marine macroalgae: Biological actions and applications in regenerative medicine, drug delivery systems, and food industry. *Journal of Bioengineering*, 9(9), 472-500.
<https://doi.org/10.3390/bioengineering9090472>.
- Arini, L. D. D. (2016). Mitigasi *Escherichia coli* dalam berbagai makanan di pusat jajanan surakarta (Galabo) sebagai upaya pencegahan dini gangguan kesehatan masyarakat. *Ekosains*, 8(3), 45-56.
<https://jurnal.uns.ac.id/ekosains/article/view/62147>.
- Barzkar, N., Rungsardthong, V., Jahromi, S. T., Laraib, Q., Das, R., Babich, O., & Sukhikh, S. (2023). A recent update on fukoidanase: Source, isolation methods, and its enzymatic activity. *Frontiers in Marine Science*, 10(1), 1-15.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1129982>.
- Cai, J., Zhang, Y., Wang, B., & Hou, Y. (2021). Advances in the biological activities and mechanisms of fukoidan. *Marine Drugs*, 19(8), 409-423.
<https://doi.org/10.3390/md19080409>.
- Chen, B. J., Shi, M. J., Cui, S., Hao, S. X., Hider, R. C., & Zhou, T. (2016). Improved antioxidant and anti-tyrosinase activity of polysaccharide from *Sargassum fusiforme* by degradation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 715–722. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.082>.

- Chen, Q., Kou, L., Wang, F., & Wang, Y. (2019). Size-dependent whitening activity of enzyme-degraded fukoidan from *Laminaria japonica*. *Carbohydrate Polymers*, 225(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115211>.
- Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M. L., & Flores-Gallegos, A. C. (2021). Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3(10), 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100047>.
- Darmawan, M. (2023). Isolasi, penapisan, karakterisasi, dan identifikasi bakteri penghasil fukoidanase dari *Sargassum polycystum* (No Publikasi 68772) [Tesis, Universitas Lampung]. Repository Universitas Lampung.
- Dumorné, K., Córdova, D. C., Astorga-Eló, M., & Renganathan, P. (2017). Extremozymes: A potential source for industrial applications. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(4), 649–659. <https://doi.org/10.4014/jmb.1611.11006>.
- Fajar, I., Perwira, I. M., & Ernawati, N. M. (2022). Pengaruh derajat keasaman (pH) terhadap pertumbuhan bakteri toleran kromium heksavalen dari sedimen mangrove di Muara Tukad Mati, Bali. *Current Trends in Aquatic Science*, 1(2), 1-6. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/ctas/article/download/72176/47921>.
- Fauziee, N. A. M., Chang, L. S., Mustapha, W. A. W., Nor, A. R. M., & Lim, S. J. (2021). Functional polysaccharides of fukoidan, laminaran, and alginate from Malaysian brown seaweeds (*Sargassum polycystum*, *Turbinaria ornata*, and *Padina boryana*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 167(10), 1135–1145. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.067>.
- Fitria, A. N., & Zulaika, E. (2019). Aklimatisasi pH dan pola pertumbuhan *Bacillus cereus* S1 pada medium MSM modifikasi. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2), 2337-3520. https://ejurnal.its.ac.id/index.php/sains_seni/article/view/36788.
- Fitton, J. H., Stringer, D. N., & Karpiniec, S. N. (2019). Therapies from fukoidan: An update. *Marine Drugs*, 17(12), 5920-5946. <https://doi.org/10.3390/md17120571>
- Flórez-Fernández, N., González-Muñoz, M. J., & Domínguez, H. (2017). Feasibility of post-hydrolysis processing of hydrothermal extracts from *Sargassum muticum*. *Algal Research*, 27(8), 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.08.002>.

- Haryati, S., Hamzah, F., & Restuhadi, F. (2015). Uji aktivitas antibakteri ekstrak cangkang kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Online Mahasiswa*, 2(1), 10-20. <https://www.neliti.com/publications/202656/uji-aktivitas-antibakteri-ekstrak-cangkang-kelapa-sawit-elaeis-guineensis-jacq>.
- Hasan, A., & Wikandari, P. S. (2018). Penentuan waktu produksi optimum bakteriosin asal *Lactobacillus plantarum* B1765 berdasarkan aktivitas penghambatannya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Journal of Chemistry*, 7(1), 15-20. <https://doi.org/10.26740/ujc.v7n1.p%25p>.
- 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*, 22(1), 1-9. <https://doi.org/10.1155/2022/3689724>.
- Irfan, M., & Jufri, I. (2021). Total plate count (TPC) dangke yang dibuat dengan berbagai level getah pepaya kering dan suhu pemanasan. *Jurnal Sains dan Teknologi Industri Peternakan*, 1(2), 22-24. <https://jurnal.umsrappang.ac.id/jstip/article/view/458>.
- Jin, Q., & Kirk, M. F. (2018). pH as a primary control in environmental microbiology: Thermodynamic perspective. *Frontiers in Environmental Science*, 6(5), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00021>.
- Kadri, A. N., Pasek Gelgel, K. T., & Suarjana, I. K. (2015). Perbedaan cara penyebaran suspensi terhadap jumlah bakteri pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (difference method to total bacteria spreading in suspension EMBA media). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(3), 205–212. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/download/17499/11463>.
- Kartika, I. N., & Ibrahim, M. (2021). Efek manipulasi pH pada aktivitas enzim selulase bakteri *Bacillus subtilis* strain FNCC 0059 dalam mendegradasi selulosa. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(1), 51–57. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n1.p51-57>.
- 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(10), 2-25. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1304081>.

- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2019). *Review - senyawa polifenol pada alga coklat dan karakteristik farmasinya*. <https://kkp.go.id/brsdm/poltekkarawang/artikel/14996-review-senyawa-polifenol-pada-alga-cokelat-dan-karakteristik-farmasinya>.
- Khoiroh, Z. (2014). Bioremediasi logam berat timbal (Pb) dalam lumpur Lapindo menggunakan campuran bakteri (*Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa*) (No Publikasi 10620072) [Tesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang]. E-theses Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kim, W. J., Park, J. W., Park, J. K., Choi, D. J., & Park, Y. I. (2015). Purification and characterization of a fukoidanase (FNase S) from a marine bacterium *Sphingomonas paucimobilis* PF-1. *Marine Drugs*, 13(7), 4398-4417. <https://doi.org/10.3390/md13074398>.
- Krause, E., Wichels, A., Giménez, L., Lunau, M., Schilhabel, M. B., & Gerdt, G. (2012). Small changes in pH have direct effects on marine bacterial community composition: A microcosm approach. *PLOS ONE*, 7(10), 1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047035>.
- Kumar, A., Dhiman, S., Krishan, B., Samtiya, M., Kumari, A., Pathak, N., Kumari, A., Aluko, R. E., & Dhewa, T. (2024). Microbial enzymes and major applications in the food industry: A concise review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 6(10), 2-16. <https://doi.org/10.1186/s43014-024-00261-5>.
- Kusaykin, M. I., Silchenko, A. S., Zakharenko, A. M., & Zvyagintseva, T. N. (2015). Fucoidanases. *Glycobiology*, 26(1), 3-12. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv072>.
- Kusumaningrum, A., Gunam, I. W., & Wijaya, I. M. (2019). Optimasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim endoglukanase menggunakan response surface methodology (RSM). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(2), 243-253. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jtip/article/view/49535>.
- Lahrsen, E., Liewert, I., & Alban, S. (2018). Gradual degradation of fukoidan from *Fucus vesiculosus* and its effect on structure, antioxidant and antiproliferative activities. *Carbohydrate Polymers*, 192(4), 208-216. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.056>.

- Li, Y., Fu, X., Duan, D., Liu, X., Xu, J., & Gao, X. (2017). Extraction and identification of phlorotannins from the brown alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell. *Marine Drugs*, 15(2), 49–64. <https://doi.org/10.3390/md15020049>.
- Li, Y., McGowan, E., Chen, S., Santos, J., Yin, H., & Lin, Y. (2023). Immunopotentiating activity of fucoidans and relevance to cancer immunotherapy. *Marine Drugs*, 21(2), 1-23. <https://doi.org/10.3390/md21020128>.
- Lim, S. J., Aida, W. M. W., Maskat, M. Y., Latip, J., Badri, K. H., Hassan, O., & Yamin, B. M. (2016). Characterisation of fukoidan extracted from Malaysian *Sargassum binderi*. *Food Chemistry*, 209(4), 267-273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.058>.
- Lin, H. T. V., Tsou, Y. C., Chen, Y. T., Lu, W. J., & Hwang, P. A. (2017). Effects of low molecular weight fukoidan and high stability fucoxanthin on glucose homeostasis, lipid metabolism, and liver function in a mouse model of type II diabetes. *Marine Drugs*, 15(4), 113. <https://doi.org/10.3390/md15040113>.
- Liu, S., Wang, Q., Shao, Z., Liu, Q., He, Y., Ren, D., Yang, H., & Li, X. (2023). Purification and characterization of the enzyme fukoidanase from *Cobetia amphilecti* utilizing fukoidan from *Undaria pinnatifida*. *Foods*, 12(7), 1-17. <https://doi.org/10.3390/foods12071555>.
- Lomartire, S., & Gonçalves, A. M. (2022). An overview of potential seaweed-derived bioactive compounds for pharmaceutical applications. *Marine Drugs*, 20(2), 1-32. <https://doi.org/10.3390/md20020141>.
- Luthuli, S., Wu, S., Cheng, Y., Zheng, X., Wu, M., & Tong, H. (2019). Therapeutic effects of fucoidan: A review on recent studies. *Marine Drugs*, 17(9), 1-15. <https://doi.org/10.3390/md17090487>.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock Biology of Microorganisms* (16th ed.). Pearson Education.
- Medoro, A., Intrieri, M., Passarella, D., Willcox, D. C., Davinelli, S., & Scapagnini, G. (2023). Astaxanthin as a metabolic regulator of glucose and lipid homeostasis. *Journal of Functional Foods*, 11(2), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105937>.

- Mensah, E. O., Kanwugu, O. N., Panda, P. K., & Adadi, P. (2023). Marine fucoidans: Structural, extraction, biological activities and their applications in the food industry. *Food Hydrocolloids*, 142(4), 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108784>.
- Montgomery, D. C. (2017). *Design and analysis of experiments* (9th ed.). John Wiley & Sons.
- Naoe, T., Hasebe, A., Horiuchi, R., Makita, Y., Okazaki, Y., Yasuda,., 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>.
- Nurhidayati, L., Fitriani, Y., Abdillah, S., Mumpuni, E., & Rafi, M. (2020). Physiochemical properties and antioxidant activities of crude fukoidan extracted from *Sargassum cinereum*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(1), 68-74. <http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/article/view/823>.
- Nurkhotimah, N., Yuliati, E., & Rahmawati, A. (2017). Pengaruh suhu & pH terhadap aktivitas enzim fosfatase bakteri termofilik Sungai Gendol pasca erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi*, 6(8), 465-471. <https://journal.student.uny.ac.id/ojs/index.php/kingdom/article/view/7891>.
- Oluwotoyin, O. (2022). Role of phenolic acid, tannins, stilbenes, lignans and flavonoids in human health – a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(10), 6326–6335. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15936>.
- Pananjung, A. M. S., Ulfa, E. U., Senjarini, K., & Arimurti, S. (2015). Karakterisasi isolat bakteri fibrinolitik WU 021055* asal perairan Pantai Papuma, Jember. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 2(1), 1–8. <https://ejournal.brin.go.id/JBBI/article/view/1822>.
- 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>.

- Pasieczna-Patkowska, S., Cichy, M., & Flieger, J. (2025). Application of fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in characterization of green synthesized nanoparticles. *Molecules*, 30(3), 1-36. <https://doi.org/10.3390/molecules30030684>.
- 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., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 406–438. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003775>.
- Pérez, L., Besoain, X., Reyes, M., Pardo, G., & Montealegre, J. (2002). The expression of extracellular fungal cell wall hydrolytic enzymes in different *Trichoderma harzianum* isolates correlates with their ability to control *Pyrenochaeta lycopersici*. *Biological Research*, 35(4), 401–410. <https://doi.org/10.4067/s0716-97602002000300014>.
- Podungge, A., Damongilala, L. J., & Mewengkang, H. W. (2018). Kandungan antioksidan pada rumput laut *Eucheuma spinosum* yang diekstrak dengan metanol & etanol. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(1), 1-5. <https://doi.org/10.35800/mthp.6.1.2018.16859>.
- Ptak, S. H., Sanchez, L., Fretté, X., & Kurouski, D. (2021). Complementarity of Raman & infrared spectroscopy for rapid characterization of fukoidan extracts. *Plant Methods*, 17(12), 130-140. <https://doi.org/10.1186/s13007-021-00830-6>.
- Putri, M. H., Sukini, & Yodong. (2017). *Dasar-dasar mikrobiologi dan penerapannya*. Widina Bhakti Persada.
- 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>.
- Qiu, Y., Jiang, H., Dong, Y., Wang, Y., Hamouda, H. I., Balah, M. A., & Mao, X. (2022). Expression & biochemical characterization of a novel fukoidanase from *Flavobacterium algicola* with the principal product of fukoidan-derived disaccharide. *Foods*, 11(7), 1-12. <http://doi.org/10.3390/foods11071025>.

- 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>.
- Respati, N. Y., Yulianti, E., & Rahmawati, A. (2017). Optimasi suhu & pH media pertumbuhan bakteri pelarut fosfat dari isolat bakteri termofilik. *Jurnal Prodi Biologi*, 6(7), 423–430. <https://doi.org/10.21831/kingdom.v6i7.7864>.
- Rosmania, & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86. <http://ejurnal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/article/view/564/565>.
- Sawant, S. S., Salunke, B. K., & Kim, B. S. (2015). A rapid, sensitive, simple plate assay for detection of microbial alginate lyase activity. *Enzyme and Microbial Technology*, 77(5), 8-13. <http://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.05.003>.
- Sayuti, I., Zulfarina., & Widodo, T. J. (2022). Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* IMB-11 selama Degradasi Hidrokarbon secara *in vitro*. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus*, 8(3), 686-693. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3230>.
- Seftylia, D., Nurjanah, & Asadatun, A. (2017). Aktivitas antioksidan berbagai jenis rumput laut coklat dari Perairan Kepulauan Seribu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 305-318. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18013>.
- 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/ijs.0.027771-0>.
- Seniati., Marbiah., & Nurhayati. (2017). Kajian uji konfrontasi terhadap bakteri patogen dengan menggunakan metode sebar, metode tuang, & metode gores. *Jurnal Galung Tropika*, 6(1), 42–48. <https://jurnalpertanianumpar.com/index.php/jgt/article/view/209>.
- Sepriyanto. (2017). Isolasi & penapisan bakteri selulolitik dari berbagai jenis tanah sebagai penghasil enzim selulase. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 1(2), 67-73. <https://ijobb.esaunggul.ac.id/index.php/IJOBB/article/view/14>.

- Setyawan, A., Isnansetyo, A., Murwantoko, M., Indarjulianto, S., & Handayani, C. R. (2018). Comparative immune response of dietary fukoidan from three Indonesian brown algae in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation Bioflux*, 11(6), 1707-1723. <https://bioflux.com.ro/docs/2018.1707-1723.pdf>.
- Setyawan, A., Juliasih, N. L. G. R., Darmawan, M., Susanto, G. N., & Sarida, M. (2023). Screening, characterization, & identification of fukoidanase producing bacteria from *Sargassum polycystum*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation Bioflux*, 16(3), 1357–1371. <https://bioflux.com.ro/docs/2023.1357-1371.pdf>.
- Shashidhar, A., Arza, S., Das, A., Bhattacharya, S., & Shivakumar, S. (2018). Neutral avicelase from *Serratia marcescens* with denim biofinishing potential. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 77(2), 120–124. <https://www.researchgate.net/publication/323629829>.
- Sterritt, R. M. & Lester, J. N. (1988). *Microbiology for environmental and public health engineers*. E. & F. N. Spon.
- Silchenko, A. S., Kusaykin, M. I., Kurilenko, V. V., Zakharenko, A. M., Isakov, V. V., & Zaporozhets, T. S. (2013). Hydrolysis of fukoidan by fukoidanase isolated from the marine bacterium, Formosa algae. *Marine Drugs*, 11(7), 2413–2430. <https://doi.org/10.3390/md11072413>.
- Silchenko, A. S., Rasin, A. B., Kusaykin, M. I., Malyarenko, O. S., Shevchenko, N. M., Zueva, A. O., Kalinovskiy, A. I., Zvyagintseva, T. N., & Ermakova, S. P. (2018). Modification of native fucoidan from *Fucus evanescens* by recombinant fucoidanase from marine bacteria Formosa algae. *Carbohydrate Polymers*, 193(8), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.094>.
- Sinaga, I. O., Astrini, D., & Indradi, R. B. (2023). Artikel review: Pengaruh pH pada pertumbuhan bakteri sesuai syarat mutu obat tradisional di Indonesia. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(1), 287–291. <https://journal-jps.com/new/index.php/jps/article/view/65>.
- Sinurat, E., & Maulida, N. N. (2018). Pengaruh hidrolisis fukoidan terhadap aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 13(2), 123–130. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v13i2.522>.

- Sinurat, E., Peranginangin, R., & Saepudin, E. (2015). Purification and characterization of fukoidan from the brown seaweed *Sargassum binderi* Sonder. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Post Harvest and Biotechnology*, 10(2), 79–87. <https://www.bbp4b.litbang.kkp.go.id/jurnaljpbkp/index.php/jpbkp/article/download/522/pdf>.
- Skriptsova, A. V. (2016). Seasonal variations in the fukoidan content of brown algae from Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Russian Journal of Marine Biology*, 42(4), 351–356. <https://doi.org/10.1134/S1063074016040106>.
- Soesetyaningsih, E. & Azizah. (2020). Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. *Berkala Sainstek*, 8(3), 75–79. <https://doi.org/10.19184/bst.v8i3.16828>.
- Surendra, S. V., Mahalingam, B. L., & Velan, M. (2017). Degradation of monoaromatics by *Bacillus pumilus* MVSV3. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60(1), 1-18. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160319>.
- Supriyanti, F. M. T., & Poedjiadi, A. (2007). *Dasar-dasar biokimia*. UI Press.
- Subagiyo, S., Margino, S., Triyanto, T., & Ari Setyati, W. A. (2015). Pengaruh pH, suhu, dan salinitas terhadap pertumbuhan dan produksi asam organik bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus udang penaeid. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 20(4), 187–194. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.4.187-194>.
- Trang, V. T. D., Mikkelsen, M. D., Vuillemin, M., Meier, S., Cao, H. T. T., Muschiol, J., & 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(2), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.823668>.
- Usol'tseva, R. V., Zhao, P., Kusaikin, M. I., Jia, A., Yuan, W., Zhang, M., & Ermakova, S. P. (2017). Structural characteristics and antitumor activity of fukoidans from the brown alga *Sargassum muticum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53(2), 219-223. <https://doi.org/10.1007/s10600-017-1975-1>.
- Utami, H., Sari, Z. S. M., Hanif, M., Darni, Y., Ginting, S. B., & 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. <https://doi.org/10.36706/jtk.v29i2.1462>.

- 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, A. D. (2020). Functional characterization of a new GH107 endo- α -(1,4)-fukoidanase from the marine bacterium *Formosa haliotis*. *Marine Drugs*, 18(11), 1-17. <https://doi.org/10.3390/md18110562>.
- Wang, C.Y., & Chen, Y.C. (2016). Extraction and characterization of fukoidan from six brown macroalgae. *Journal of Marine Science and Technology*, 24(2), 319–328. <https://doi.org/10.6119/JMST-015-0521-3>.
- Wang, M., Veeraperumal, S., Zhong, S., & Cheong, K. L. (2023). Fukoidan-derived functional oligosaccharides: Recent developments, preparation, and potential applications. *Foods*, 12(4), 878. <https://doi.org/10.3390/foods12040878>.
- Widarsaputra, A. Y., Prawatya, Y. E., & Sujana, I. (2022). Response surface methodology (RSM) untuk optimasi pengolahan keripik nanas menggunakan mesin vacuum frying. *Journal of Industrial Engineering and Management System*, 6(2), 70–77. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jtinUNTAN/article/download/60561/75676595617>.
- Widiastiti, N. L. G., Widjastuti, T., & Ismaya, I. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan itik Alabio (*Anas platyrhynchos* Borneo). *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 15(2), 7–12. <https://doi.org/10.24198/jit.v15i2.10340>.
- Wilks, J. C., Kitko, R. D., Cleeton, S. H., Lee, G. E., Ugwu, C. S., Jones, B. D., BonDurant, S. S., & Slonczewski, J. L. (2009). Acid and base stress and transcriptomic responses in *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4), 981–990. <https://doi.org/10.1128/AEM.01652-08>.
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2008). *Prescott, harley, and klein's microbiology* (9th ed.). McGraw-Hill.
- 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>.
- Xie, X. T., & Cheong, K. L. (2022). Recent advances in marine algae oligosaccharides: Structure, analysis, and potential prebiotic activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(28), 1-15. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1916736>.

- Xuwen, 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>.
- Yainahu, J., Mile, L., & Suherman, S. P. (2023). Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak rumput laut merah (*Eucheuma spinosum*) segar dan kering. *Jambura Fish Processing Journal*, 5(2), 126-132. <https://doi.org/10.37905/jfpj.v5i2.1593>.
- Yang, J., Yang, X., Pan, W., Wang, M., Lu, Y., Zhang, J., & Li, B. (2021). Fukoidan-supplemented diet potentiates immune checkpoint blockage by enhancing antitumor immunity. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9(8), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.733246>.
- Yip, Z. T., Quek, R. Z. B., Low, J. K. Y., Wilson, B., Bauman, A. G., Chou, L. M., Todd, P. A., & Huang, D. (2018). Diversity and phylogeny of *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) in Singapore. *Phytotaxa*, 369(3), 200–210. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.369.3.2>.
- Yue, Q., Liu, Y., Li, F., Hong, T., Guo, S., Cai, M., & Li, K. (2025). Antioxidant and anticancer properties of fucoidan isolated from *Saccharina japonica* brown algae. *Scientific Reports*, 15(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-94312-7>.
- 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. <https://jkptb.ub.ac.id/index.php/jkptb/article/view/289>.
- 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>.
- Zhu, C., Liu, Z., Ren, L., Jiao, S., Zhang, X., Wang, Q., Li, Z., Du, Y., & Li, J.-J. (2021). Overexpression and biochemical characterization of a truncated endo- α -(1→3)-fukoidanase from *Alteromonas* sp. SN-1009. *Food Chemistry*, 353(2), 1-10 . <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129460>.