

# ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT *Sargassum polycystum* PENGHASIL ENZIM ALGINAT LYASE

## ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND IDENTIFICATION OF ENDOPHYTE BACTERIA OF *Sargassum polycystum* PRODUCING ALGINATE LYASE ENZYME

Yesica Bella Safitri<sup>1</sup>, Agus Setyawan<sup>1,2\*</sup>, Ni Luh Gede Ratna Juliasih<sup>1,3</sup>, Endang Linirin Widiasuti<sup>1,4</sup>, Gregorius Nugroho Susanto<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung,

<sup>3</sup>Jurusan Kimia, Universitas Lampung,

<sup>4</sup>Jurusan Biologi, Universitas Lampung

Jl. Soemantri Brodjonegoro, Gd. Meneng, Bandar Lampung, 35145, Lampung, Indonesia

Email: agus.setyawan@fp.unila.ac.id

### ABSTRAK

Alginat, polisakarida dari alga coklat laut, banyak dimanfaatkan untuk antitumor, antiinflamasi, dan juga antivirus. Namun, alginat memiliki berat molekul yang besar yang membuatnya sulit dicerna oleh beberapa organisme. Oleh karena itu, penting untuk mencari enzim alginat lyase untuk memotong alginat secara enzimatik. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri yang menghasilkan enzim alginat lyase dari *Sargassum polycystum*. Isolasi bakteri penghasil alginat lyase dilakukan dengan mengkoloni rumput laut *Sargassum polycystum* dari Pantai Sebalang, Tarahan, Lampung Selatan kemudian bakteri diisolasi dengan metode pengenceran. Koloni yang didapat dimurnikan dan diseleksi dengan menggunakan uji aktivitas Aktivitas alginat lyase ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni setelah ditetesi dengan larutan 10% setil piridinium klorida, serta diidentifikasi secara morfologi, biokimia dan molekuler menggunakan gen 16S-rDNA. Pada penelitian ini diperoleh empat isolat yang mempunyai aktivitas alginat lyase, yaitu PTF, PTE, PTH dan PTG dengan indeks alginolitik tertinggi adalah isolat PTF dan PTH. Hasil uji biokimia dan karakterisasi secara molekuler menunjukkan isolat PTH dan PTF memiliki kemiripan dengan jenis bakteri *Bacillus cereus*.

**Kata kunci :** Alginat, Enzim Alginat Lyase, *Bacillus cereus*, Rumput Laut Coklat

### ABSTRACT

Alginate, polysaccharide from marine brown algae, is widely used for antitumor, anti-inflammatory, and also antiviral. However, alginate has large molecular weight that difficult to digest in some organisms. Therefore, it is important to look for the alginate lyase enzyme to break down the alginate. The purpose of this study was to obtain bacterial isolates that produce alginate lyase enzymes from *Sargassum polycystum*. Isolation of alginate lyase-producing bacteria was carried out by collecting *Sargassum polycystum* from Sebalang Beach, Tarahan, South Lampung then the bacteria were isolated by the dilution method. The colonies obtained were purified and selected using qualitative (clear zone) and semi-quantitative activity tests, and identified morphologically, biochemically and molecularly using the 16S-rDNA gene. In this study, 20 pure bacterial isolates were obtained with one isolate having alginate lyase activity, namely PTF and PTH. The results of biochemical tests and molecular characterization showed that the isolate was *Bacillus cereus*.

**Keywords :** Alginate, Alginate Lyase Enzyme, *Bacillus cereus*, Brown Algae

### PENDAHULUAN

*Sargassum polycystum* merupakan salah satu jenis alga coklat yang memiliki kandungan alginat yang tinggi. Rumput laut

coklat memiliki kandungan senyawa aktif yaitu alginat dengan rendeman dari berbagai jenis alga coklat berkisar antara 10-40% (Sinurat & Merliani, 2017; Laksanawati, 2017). Alginat merupakan salah satu

senyawa yang banyak dimanfaatkan untuk antitumor, antiinflamasi, dan juga antivirus (Fernando et al., 2019; Dousip et al., 2014;) serta imunostimulan (Setyawan et al., 2020; 2021), selain itu alginat bersifat biodegradasi karena dapat menurunkan konsentrasi tembaga secara adsorptif dari dalam air (Pratama et al., 2022) dan ammonia melalui imobilisasi bakteri (Setyawan et al., 2022).

Alginat merupakan hidrokoloid alami suatu polimer panjang yang disusun oleh dua unit monomerik, yaitu  $\beta$ -D- mannuronic acid dan  $\alpha$ -L-guluronic acid. Alginat memiliki berbagai kelemahan sehingga penggunaannya menjadi terbatas karena berat molekul yang besar yakni 500-1000 kDa (Sinurat & Marlioni, 2017) maka untuk mengatasinya adalah dengan pemecahan molekul pendegradasi alginat pada proses enzimatik, yaitu enzim alginat lyase.

Enzim alginat lyase dapat mengkatalisis pemecahan alginat dengan mekanisme eliminasi  $\beta$  dari ikatan glikosil 4-O dan menghasilkan 4-deoxy-L-erythro-hex-4- enepiranosiluronat pada ujung gugus non reduksi dari oligosakarida yang dihasilkan (Gacesa, 1992). Pemanfaatan enzim alginat lyase yaitu produksi oligosakarida, pengaturan sifat polisakarida, dan analisis struktur polisakarida (Surbaryono et al., 2013).

Bakteri penghasil alginat lyase yang didapatkan dari rumput laut dalam penelitian Subaryono, 2015 penghasil enzim alginat lyase dari alga coklat *Sargassum crassifolium* adalah isolat S245 yang teridentifikasi sebagai *Bacillus megaterium*, isolat S235 yang teridentifikasi sebagai *Bacillus thuringiensis*, isolat S155 yang teridentifikasi sebagai *Bacillus cereus*, dan isolat S215 yang teridentifikasi sebagai *Bacillus pseudomycoides*. Penelitian Wang et al., 2017 menyatakan bakteri penghasil alginat lyase dengan aktivitas enzim tertinggi dari alga *Laminaria Japonica* adalah LJ-3 yakni genus *Bacillus* sp. Berdasarkan berbagai uraian diatas, dapat diketahui bahwa potensi rumput laut ini cukup besar karena pertumbuhannya yang cepat dan tersebar hampir di semua Perairan Indonesia karena Indonesia memiliki gelombang kuat dan dasar berkarang, namun pemanfaatan rumput laut masih terbatas sehingga perlu adanya pengelolaan wilayah pesisir secara maksimal, maka dalam penelitian ini dilakukan penapisan (screening), identifikasi dan uji aktivitas alginat lyase dari bakteri yang bersimbion dengan *Sargassum polycystum* yang dikoleksi dari perairan Lampung dengan

harapan mampu menghasilkan enzim alginat lyase sebagai pendegradasi alginat. Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri yang menghasilkan enzim alginat lyase dari *Sargassum polycystum* yang dikoleksi dari perairan Lampung.

## METODE PENELITIAN

Rumput laut *Sargassum polycystum* diperoleh dari perairan Tarahan Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Media pertumbuhan bakteri seperti Nutrien Agar diperoleh dari Oxoid, Co Ltd. Bahan kimia untuk pengujian aktivitas enzim seperti Cetylpyridinium chloride,  $H_2O_2$ , dan KOH 3%. Isolasi bakteri penghasil alginat lyase *Sargassum polycystum*. dibilas dengan menggunakan air laut steril pada cawan petri steril. Setelah itu *Sargassum polycystum*. dipotong kemudian digerus menggunakan mortar kemudian diambil 1 g. Pengenceran sampel dilakukan dengan menggunakan air laut steril agar mendapatkan koloni bebas. Pengenceran dilakukan hingga 103 selanjutnya, diambil 150  $\mu$ l sampel hasil pengenceran dan masing-masing dituang di atas media NA (nutrien agar) dan disebarkan menggunakan L-glass. Inkubasi dilakukan pada suhu 30 °C selama 72 jam. Koloni bakteri yang tumbuh kemudian diisolasi kembali pada media baru dengan komposisi yang sama dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C sampai mendapat isolat murni.

Uji aktivitas alginat lyase dengan cara isolasi bakteri kedalam media miring selama 24 jam lalu diberi NaCl setengah dari kapasitas media miring lalu ambil 100  $\mu$ l bakteri, dikultur pada media NA yang mengandung 1 mg/ml natrium alginat. Kertas cakram yang sudah diberi larutan CPC (Cetylpyridinium chloride) kemudian di tempelkan di media NA yang sudah disebarkan bakteri. Inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Terbentuknya zona bening disekeliling bakteri menunjukkan adanya aktivitas alginat lyase. Kemudian diuji semi kuantitatif dengan melakukan hal yang sama namun dengan tiga kali ulangan dan dihitung diameter zona bening dan diameter koloni diukur dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks Alginolitik} = \frac{\text{Ø Zona Bening} - \text{Ø Koloni Bakteri}}{\text{Ø Koloni Bakteri}} \times 100\%$$

Identifikasi bakteri dilakukan terhadap bakteri yang memiliki indeks aktiviatas alginat lyase yakni dilakukan dengan

pengamatan secara morfologi, biokimia dan genetik. Pengamatan secara morfologi terhadap koloni bakteri yang tumbuh pada media agar dilakukan Untuk pengamatan makroskopik dilakukan secara langsung dengan melihat morfologi koloni bakteri yaitu: bentuk koloni (bulat, seperti akar, atau tidak beraturan), warna, ukuran, bentuk, tepian (mulus, bergelombang, bergerigi, dan filamentus), dan elevasi koloni (datar, naik, dan cembung) (Suryani & A'yun, 2022). Identifikasi secara biokimia dilakukan dengan melihat kemampuan bakteri dalam uji katalase, uji gram dan uji oksidatif/fermentatif isolat dengan umur isolat yaitu 24 jam. Selanjutnya identifikasi secara genetik dilakukan dengan uji sequencing 16S rDNA terhadap isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam. Primer yang digunakan untuk amplifikasi 16S rDNA adalah fragment 27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) dan 1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) dan kemudian dibuat pohon filogenetik yang diperoleh dari program tersebut.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Isolat Bakteri yang Positif Memproduksi Alginat Lyase

Isolat bakteri murni yang diperoleh adalah 20 isolat yang mana terdapat empat di antaranya positif yang ditunjukkan oleh adanya zona bening di sekeliling koloni setelah ditetesi larutan 10% *Cetylpyridinium chloride* atau teridentifikasi sebagai bakteri yang positif menghasilkan alginat lyase yang dapat dilihat pada Gambar 1.

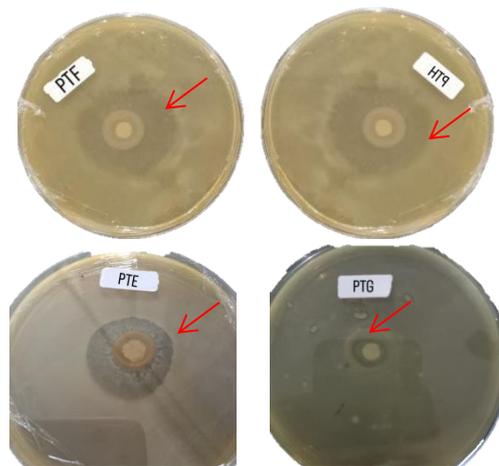
Nilai indeks alginolitik isolat bakteri PTF adalah  $5,8 \pm 0,16$ , isolat PTH adalah  $5,98 \pm 0,21$ , PTE  $1,31 \pm 0,67$ , dan PTG  $0,95 \pm 0,13$ . Dua isolat yang positif menghasilkan alginat lyase ini memiliki nilai indeks alginolitik yang cukup besar (indeks alginolitik  $>2$ ), sedangkan dua isolat lainnya memiliki indeks alginolitik yang kecil (Tabel 1). Hasil pengamatan morfologi bakteri penghasil alginat lyase secara makroskopis ditampilkan pada Tabel 1 terlihat bahwa untuk keempat isolat tersebut memiliki kesamaan baik segi warna maupun bentuk serta elevasinya.

Berdasarkan perbedaan sifat biokimianya, bakteri dapat diidentifikasi dengan cara membandingkan hasil pengujian dengan data isolat yakni PTE, PTF, PTH dan PTG (Tabel 2). Keempat isolat merupakan golongan bakteri gram positif, hal ini terlihat dari hasil uji bahwa tidak terbentuknya lendir dari pencampuran

**Tabel 1.** Karakteristik koloni bakteri yang positif menghasilkan alginat lyase

Jenis isolat	Karakteristik Isolat Bakteri		
	Karakteristik		Indek alginolitik*
PTE	Warna koloni	krem, bulat, tepian mulus	dengan $1,31 \pm 0,67$ elevasi datar
PTF	Warna koloni	krem, bulat, bergerigi	dengan $5,31 \pm 0,16$ elevasi cembung
PTH	Warna koloni	krem, bulat, bergerigi	dengan $5,98 \pm 0,21$ elevasi cembung
PTG	Warna koloni	krem, tidak beraturan, bergerigi	tepiannya dengan elevasi $0,95 \pm 0,13$ cembung

\* Nilai merupakan rerata dari tiga kali ulangan dengan standar deviasinya



**Gambar 1.** Isolasi bakteri dari *Sargassum polycystum*. yang menunjukkan aktivitas alginat lyase. Keterangan: Gambar merupakan hasil uji kualitatif yang mana tanda panah merah merupakan zona bening yang terbentuk.

bakteri dan KOH 3% sedangkan hasil uji katalase yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dari empat isolat tersebut positif

terhadap H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %, hal ini terlihat dari hasil uji bahwa terbentuknya gelembung dari pencampuran bakteri dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %. Hasil uji oksidasi fermentatif yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dari empat isolat yakni bersifat fermentatif, hal ini terlihat dari hasil uji bahwa adanya perubahan warna pada kedua media yang awalnya berwarna hijau kini berubah menjadi kuning.

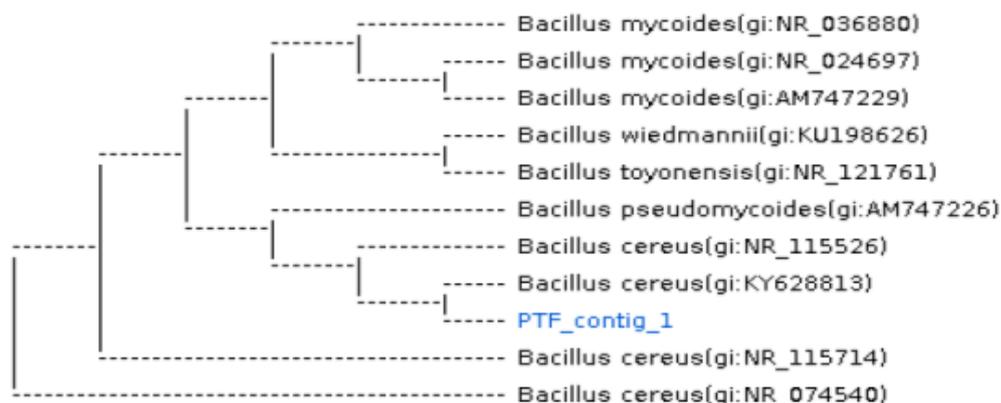
Hasil pengamatan biokimia lalu diuji sequencing 16S rRNA dengan melihat kemiripan isolat PTF dan PTH dengan bakteri *Bacillus cereus* dengan menunjukkan nilai 99%

yang dapat dilihat pada Gambar 2.

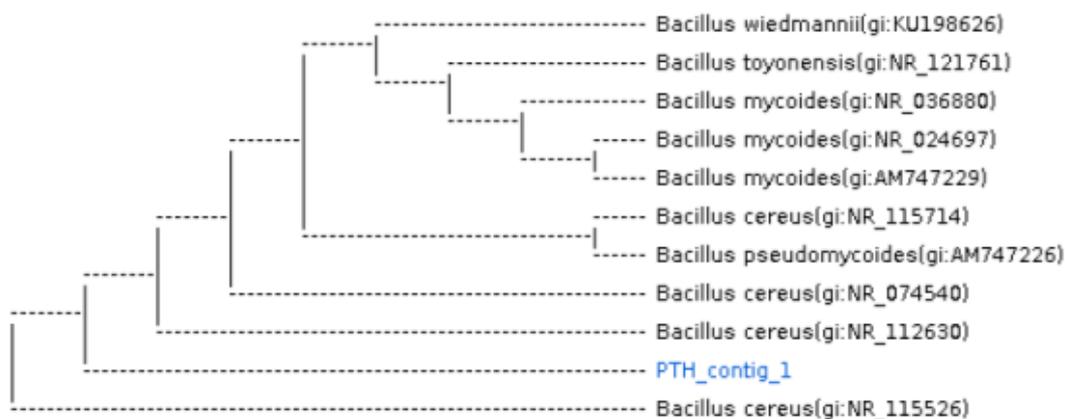
Hasil uji kualitatif mempunyai aktivitas alginolitik dengan kisaran antara 0,95 mm sampai 5,98 mm. Dua dari empat isolat memiliki aktivitas tertinggi yakni isolat PTH dengan nilai 5,98 mm diikuti oleh PTF senilai 5,31 mm. Adanya indeks aktivitas alginolitik ini adalah gambaran perbandingan dari besarnya diameter koloni bakteri dengan besarnya zona bening disekitar koloni yang terbentuk, hal ini dilakukan untuk mengetahui atau memprediksi jumlah enzim yang di produksi. Subaryono et al (2015)

**Tabel 2.** Hasil uji biokimia bakteri penghasil alginat

Isolat	Jenis uji		
	Uji gram KOH 3%	Uji katalase H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	Uji O/F
PTF	+	+	Fermentatif
PTH	+	+	Fermentatif



**Gambar 2.** Pohon Filogenetik Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA dari Isolat Bakteri PTF Endofit *Sargassum Polycystum*



**Gambar 3.** Pohon Filogenetik Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA dari Isolat Bakteri PTH Endofit *Sargassum Polycystum*

menyatakan bahwa jika zona bening yang terbentuk > 2 mm maka dapat dikatakan bakteri tersebut memiliki aktivitas alginolitik yang besar. Hal ini sesuai dengan penelitian Sawant et al (2015) dan Subaryono et al (2015) yang menguji aktivitas alginolitik menggunakan zona bening dengan larutan Cetylpyridinium chloride (CPC) didapatkan hasil alginolitik tertinggi 2,78 mm sampai 3,93 mm. Maka dalam penelitian ini hasil uji kualitatif termasuk besar karena lebih dari 2 mm.

Morfologi pada isolat PTH, PTF, PTE dan PTG menunjukkan bahwa keempat isolat memiliki beberapa kesamaan yakni berwarna krem dengan bulat dan tidak beraturan, elevasi yakni ketinggian bakteri tumbuh adalah rata dan cembung serta tepian mulus dan bergerigi. Hasil uji morfologi ini sesuai dengan beberapa penelitian juga melaporkan hasil isolasi bakteri dari rumput laut mempunyai morfologi warna berwarna krem dengan bentuk yang berbeda-beda yakni bulat maupun tidak beraturan elevasi yang datar dan serta tepian mulus dan bergerigi (Wang et al., 2017; Nguyen et al., 2021)

Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa keempat bakteri ini memiliki sifat yang sama yaitu Gram positif, katalase positif dan fermentatif positif. Pengamatan sifat gram menggunakan KOH 3% menunjukkan adanya bakteri gram positif karena dinding selnya memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga tidak dapat mendestruksi dinding sel bakteri akibat berada dalam larutan alkali tinggi.

Adanya sifat katalase positif menunjukkan bahwa keempat bakteri ini memiliki kemampuan memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Hidrogen peroksida termasuk racun bagi bakteri karena bersifat toksik untuk susunan sel bakteri dan dapat menginaktivasi suatu enzim (Pratiwi & Asri, 2022).

Berdasarkan hasil oksidatif/ fermentatif bahwa keempat isolat bersifat fermentatif hal ini dikarenakan media O/F berubah warna hijau menjadi kuning. Media tersebut berwarna kuning maka bakteri bersifat anerob fakultatif yang mana dapat tumbuh baik ada oksigen maupun minim oksigen atau bahkan tidak ada oksigen hal ini terjadi karena bakteri mampu memetabolisme gula, terlihat bahwa beberapa bakteri ini mampu memanfaatkan glukosa pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi (Sinubu et al., 2022).

Hasil 16S rDNA disajikan pada Gambar 2 dan 3 bahwa isolat PTF dan PTH memiliki kemiripan dengan jenis bakteri *Bacillus cereus*. adanya kesamaan ini dikarenakan

dari hasil biokimia terdapat persamaan yakni dari uji Gram, katalase dan O/F untuk meningkatkan spesifisitas terhadap bakteri yang diujikan. Isolat PTF dan PTH ini memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* ID 99%, sehingga kemungkinan besar isolat ini adalah dari jenis *Bacillus cereus*. Pernyataan ini didukung oleh Subaryono et al., 2015 dan Moritania et al., 2019 bahwa *Bacillus cereus*. merupakan bakteri yang bersifat gram positif dengan morfologi berbentuk bulat berwarna putih susu dengan tepian mulus dan elevasi datar. *Bacillus cereus* bersifat aerobik sampai anaerobik fakultatif yang artinya adalah bakteri tersebut mampu respirasi secara aerob maupun fermentatif serta katalase mendapatkan hasil positif. Bakteri ini hidup dalam rumput laut *Sargassum polycystum* hal ini terjadi karena kondisi lingkungan tempat rumput laut tersebut tumbuh memiliki kesamaan yaitu di laut serta bakteri jenis *Bacillus cereus* mampu bertahan pada lingkungan dengan kandungan NaCl yang tinggi yakni 2-25% (Bhaktinagara., et al 2015; Tripathi et al., 2022).

Beberapa alga memerlukan vitamin tertentu yang sering disuplai oleh bakteri yang tumbuh menempel dan berasosiasi pada rumput laut hal ini disebabkan karena adanya simbiosis mutualisme antara keduanya (Subaryono et al., 2015). Hal ini terlihat pada penelitian Mulyasari et al (2015) bahwa hasil isolasi bakteri dari rumput laut *Sargassum* sp menghasilkan aktivitas enzim selulase dengan memanfaatkan selulosa sebagai komponen selulernya dan pada penelitian juga terlihat bahwa isolasi dari rumput laut *Eucheuma cottonii* menghasilkan Enzim karagenase yang mendegradasi karagenan (Zelvi et al., 2017).

Dalam penelitian ini alginat dalam rumput laut *Sargassum polycystum* dimanfaatkan sebagai sumber karbon oleh jenis-jenis bakteri yang memiliki aktivitas alginat lyase untuk menghasilkan enzim alginat lyase.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bakteri penghasil alginat lyase berhasil diisolasi dari rumput laut *Sargassum polycystum*. Bakteri yang memiliki nilai indeks alginolitik tinggi adalah isolat PTF dan PTH yang teridentifikasi *Bacillus cereus*.

## REFERENSI

Bhaktinagara, R.A., Suprihadi, A. & Raharjo, B. 2015. Biodegradasi Senyawa

- Hidrokarbon Oleh Strain *Bacillus cereus* (VIC) Pada Kondisi Salinitas Yang Berbeda. *Jurnal Biologi*, 4: 62-71.
- Dousip, A., Matanjun, P., Sulaiman, M.R., Tan, T.S., Ooi, Y.B.H. & Lim, T.P., 2014. Effect of seaweed mixture intake on plasma lipid and antioxidant profile of hypercholesterolaemic rats. *Journal of Applied Phycology*, 26: 999-1008. DOI: 10.1007/s10811-013-0128-y
- Fernando, I., Kim, K.N., Kim, D. & Jeon, Y.J., 2019. Algal polysaccharides: potential bioactive substances for cosmeceutical applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39: 99-113. DOI: 10.1080/07388551.2018.1503995
- Gacesa., P. 1992. Enzymatic degradation of alginates. *International Journal of Biochemistry*, 24:545-552. DOI: 10.1016/0020-711X(92)90325-U
- Moritania, R., Efendi I. & Feliatra, F. 2019. Isolation And Antagonism Of Bacteria Test Of Biota In The Mangrove Ecosystem Kayu Ara River Siak Regency. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 2(3):190-196
- Mulyasari, M., Melati, I. & Sunarno, M.T.D., 2015. Isolasi, Seleksi, Dan Identifikasi Bakteri Selulolitik Dari Rumput Laut *Turbinaria* Sp. Dan *Sargassum* Sp. Sebagai Kandidat Pendegradasi Serat Kasar Pakan Ikan. *Jurnal Riset Akuakultur*, 10:51-60. DOI: 10.15578/jra.10.1.2015.51-60
- Nguyen, T.N.T., Chataway, T., Araujo, R., Puri, M. & Franco, C.M.M., 2021. Purification and Characterization of a Novel Alginate Lyase from a Marine *Streptomyces* Species Isolated from Seaweed. *Marine Drugs*, 19(11): p.590. DOI: 10.3390/md19110590
- Pratama, B.S., Hambali, E., Yani, M. & Matsue, N., 2022. Pemanfaatan film alginat dan alginat/montmorillonite sebagai adsorben Cu(II). *Jurnal Sains Dasar*, 11: 70-77. DOI: 10.21831/jsd.v11i2.51544
- Pratiwi, W.M. & Asri, M.T., 2022. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Indigenous Pendegradasi Pestisida Profenofos dan Klorantraniliprol di Jombang Jawa Timur. *Lentera Bio Berkala Ilmu Biologi*, 11, 300-309. DOI: 10.26740/lenterabio.v11n2
- Sawant, S.S., Salunke, B.K. & Kim, B.S., 2015. A rapid, sensitive, simple plate assay for detection of microbial alginate lyase activity Enzyme *Microbiology Technology*, 77: 8-13. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2015.05.003
- Setyawan, A., Supono., Wijayanti, A. & Anti, U.T. 2022. Effectiveness of using of brown algae alginate to immobilize the indigenous bioremediation bacteria for reducing waste water from shrimp culture. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1027(1): p. 012010. DOI:10.1088/17551315/1027/1/012010
- Setyawan, A., Hudaidah, S. & Fidyandini, H.P. 2021. Non-specific immune response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* by supplementation of sodium alginate of *Sargassum* collected from Lampung Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental*. DOI: 10.1088/1755-1315/890/1/012015
- Setyawan, A., Supono, Safitri, Y.B., Hudaidah, S. & Fidyandini, H.P. 2020. Suplementasi kalsium alginat *Sargassum* sp. dari Perairan Lampung untuk memicu respon imun *Penaeus vannamei*. In: Isnansetyo A, editor. *Semnaskan UGM XVII. Yogyakarta: Jurusan Perikanan UGM*, p.1-9.
- Sinubu, W.V., Tumbol, R.A., Undap, S.L., Manoppo, H. & Kreckhoff, R.L., 2021. Identifikasi bakteri patogen *Aeromonas* sp. pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Desa Matungkas, Kecamatan Dimembe, Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal Budidaya Perairan*, 10(2): 109-120. DOI: 10.35800/bdp.10.2.2022.36633
- Sinurat, E. & Marliani, R. 2017. Karakteristik natrium alginat dari rumput laut cokelat *Sargassum crassifolium* dengan perbedaan alat penyaring. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2): 351-361. DOI: 10.17844/jphpi.v20i2.18103
- Subaryono, S., Peranginangin, R., Suhartono, M.T. & Zakaria, F.R., 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Alginate Lyase dari Rumput Laut *Sargassum crassifolium*. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 10(1): 1-9. DOI: 10.15578/jpbkp.v10i1.239
- Suryani, S. & A'yun, Q. 2022. Isolasi bakteri endofit dari mangrove *Sonneratia alba* asal pondok 2 pantai Harapan Jaya Muara Gebong, Bekasi. *Bio sains: Jurnal Ilmiah biologi*. 1(2):12-18.
- Tripathi, S., Yadav, S., Sharma, P., Purchase, D., Syed, A. & Chandra, R. 2022. Plant growth promoting strain *Bacillus cereus* (RCS-4 MZ520573.1) enhances phytoremediation potential of *Cynodon dactylon* L. in distillery sludge.

*Environmental Research*, 208:  
p.112709. DOI: 10.1016/j.envres.2022.  
112709  
Zelvi, M., Suryani, A., & Setyaningsih, D.  
2017. Hidrolisis eucheuma cottonii

dengan enzim k-karagenase dalam  
menghasilkan gula reduksi untuk  
produksi bioetanol. *Jurnal Teknologi  
Industri Pertanian*. 27:33-42. DOI:  
10.24961/j.tek.ind.pert.2017.27.1.33