



KAPASITAS ANTIOKSIDAN, SITOTOKSISITAS, DAN CEMARAN BAKTERI SIMPLISIA MAKROALGA COKELAT

Anak Agung Ayu Putri Permatasari¹, Putu Angga Wiradana¹, Ni Kadek Yunita Sari¹,
I Gede Widhiantara^{1*}, I Wayan Rosiana¹, I Made Gde Sudyadnyana Sandhika¹,
Teguh Hari Sucipto², Novaria Sari Dewi Panjaitan³

¹Grup Riset Biologi Kesehatan, Program Studi Biologi, Fak. Kesehatan dan Sains, Universitas Dhyana Pura
Jalan Padangluwih, Dalung, Kabupaten Badung, Bali, Indonesia 80351

²Dengue Study Group, Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga
Kampus C, Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia 60286

³Pusat Riset Biomedik, Organisasi Riset Kesehatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)
Jalan Raya Jakarta-Bogor, Pakansari, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat Indonesia 16915

Diterima: 17 Februari 2024/Disetujui: 20 September 2024

*Korespondensi: widhiantara@undhirabali.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Permatasari, A. A. A. P., Wiradana, P. A., Sari, N. K. Y., Widhiantara, I. G., Rosiana, I. W., Sandhika, I. M. G. S., Sucipto, T. H., & Panjaitan, N. S. D. (2024). Kapasitas antioksidan, sitotoksitas dan cemaran bakteri simplisia makroalga cokelat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(10), 899-916. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i10.53930>

Abstrak

Alga cokelat merupakan salah satu sumber antioksidan yang dapat berkontribusi dalam mempromosikan fungsi kesehatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kombinasi jenis alga cokelat dan jenis pelarut terbaik berdasarkan parameter kapasitas antioksidan, toksisitas pada sel Vero dan cemaran bakteri yang memengaruhi simplisia alga cokelat selama 30 hari masa simpan. Alga cokelat jenis *Sargassum aquifolium* dan *Padina australis* dikumpulkan dari Pantai Sanur pada titik surut terendah di zona intertidal. Ekstraksi dilakukan menggunakan tiga jenis pelarut, yaitu etanol, metanol, dan akuades. Ekstrak alga cokelat diukur kapasitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Ekstrak alga cokelat yang menunjukkan kapasitas antioksidan dan IC₅₀ dengan kategori kuat dilanjutkan untuk pengujian sitotoksitas. Pengujian cemaran bakteri dilakukan berdasarkan waktu simpan simplisia alga cokelat selama 30 hari. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi ekstrak etanol *S. aquifolium* dan *P. australis* (rasio 1:10) memiliki persentase rendemen sebesar 3,72% dengan kapasitas antioksidan sebesar 0,935±0,003 mg/L GAEAC dan nilai IC₅₀ 89,03 µg/mL (kategori kuat). Kombinasi ekstrak etanol *S. aquifolium* dan *P. australis* memiliki nilai IC₅₀ pada konsentrasi 382,30 µg/mL (kategori lemah). *Total plate count* (TPC), Enterobacteriaceae, dan koliform meningkat seiring dengan lama penyimpanan simplisia selama 30 hari. Temuan ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol *S. aquifolium* dan *P. australis* memiliki potensi baik untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami.

Kata kunci: DPPH, etanol, IC₅₀, *P. australis*, *S. aquifolium*

Antioxidant Capacity, Cytotoxicity, and Bacterial Contamination of Brown Macroalgae Simplisia

Abstrak

Brown algae are considered to be a source of antioxidants that can contribute to improving health. The purpose of this study was to determine the best combination of brown algae and solvent types based on the parameters of antioxidant capacity, toxicity to Vero cells, and bacterial contamination that affects brown algae simplisia during 30 d of storage. Brown algae, *Sargassum aquifolium* and *Padina australis*, were collected from Sanur Beach at the lowest point in the intertidal zone. Extraction was performed using three solvents: ethanol, methanol, and distilled water. The antioxidant capacity of the brown algae extracts was measured using the DPPH method. The brown algae extract, which showed antioxidant capacity and IC₅₀

in the strong category, was used for cytotoxicity testing. Bacterial contamination testing was performed based on the simple storage time of brown algae for 30 d. The results showed that the combination of *S. aquifolium* and *P. australis* ethanol extract (ratio 1:10) had a yield percentage of 37.2% with an antioxidant capacity of 0.935 ± 0.003 mg/L GAEAC and an IC_{50} value of 89.03 μ g/mL (strong category). The combination of *S. aquifolium* and *P. australis* ethanol extracts had an IC_{50} value of 382.30 μ g/mL (the weak category). Total plate count (TPC), Enterobacteriaceae, and coliforms increased with the storage time of simplicia for 30 days. These findings indicate that the combination of ethanol extracts of *S. aquifolium* and *P. australis* is a potential source of natural antioxidants.

Keywords: DPPH, ethanol, IC_{50} , *P. australis*, *S. aquifolium*

PENDAHULUAN

Sumber nutrisi lengkap non-hewani dapat diperoleh dari sumberdaya hasil laut, yaitu makroalga (Permatasari *et al.*, 2022). Produksi makroalga sebagai sumber pangan di seluruh dunia mengalami peningkatan dari 44% pada tahun 1996 menjadi 51,3% pada tahun 2018 (FAO, 2021; Ullmann & Grimm, 2021). Total ekspor makroalga nasional pada tahun 2020 sebesar 195.574 ton dengan nilai mencapai US\$ 279,58 juta (Kementerian Kelautan dan Perikanan, [KKP], 2021). Negara Inggris, Spanyol, Norwegia, Prancis, Filipina, Vietnam, Cina, Jepang hingga Indonesia telah menyumbang sekitar 90% dari total produksi makroalga di dunia (Chopin & Tacon, 2021; Fleurence, 2016).

Makroalga telah menjadi bagian integral dari ekosistem pesisir yang mendukung kehidupan akuatik hingga masyarakat pesisir (Ganesan *et al.*, 2019a). Negara di Asia memanfaatkan makroalga sebagai makanan tradisional hingga dikembangkan dalam bentuk kemasan (Permatasari *et al.*, 2022). Penelitian terkini juga melaporkan manfaat makroalga sebagai bahan pangan fungsional guna meningkatkan kesehatan manusia (Bizzaro *et al.*, 2022; Blikra *et al.*, 2021; Embling *et al.*, 2022; Govaerts & Olsen, 2022). Makroalga cokelat (Phaeophyceae) memiliki 2.000 spesies dan menjadi kelompok terbesar kedua setelah makroalga merah (Permatasari *et al.*, 2022).

Makroalga cokelat merupakan salah satu sumber daya alam perikanan yang tersebar luas di perairan laut tropis termasuk Indonesia (Hakim & Patel, 2020). Alga cokelat mengandung senyawa bioaktif penting di antaranya senyawa polifenol, asam lemak, polisakarida, dan karotenoid (Mena *et al.*, 2021). Alga cokelat (*Sargassum* sp. dan *Padina*

sp.) mengandung nutrisi dan fitohormon (Sofiana *et al.*, 2024). Komposisi asam amino berbagai alga cokelat didominasi oleh asam aspartat dan glutamat (Lafarga *et al.*, 2020). Senyawa bioaktif pada alga cokelat memiliki sifat antioksidan (Ghazali *et al.*, 2018; Diharmi *et al.*, 2020; Sanger *et al.*, 2021), antifungal (Hidayah *et al.*, 2024), antibakteri (Nurjanah *et al.*, 2018), antidiabetes (Puspantari *et al.*, 2020), antikanker, antitumor, antivirus, antiinflamasi, dan antikoagulan (Li *et al.*, 2021). Senyawa aktif tersebut berpeluang dimanfaatkan untuk pengembangan produk pangan fungsional dan biomedis di masa depan (Ganesan *et al.*, 2019b). Namun demikian, alga cokelat yang dieksplorasi pada lingkungan perairan memerlukan pengujian lebih lanjut guna meningkatkan keamanan pangannya jika dikembangkan sebagai pangan fungsional.

Kajian mengenai keamanan konsumsi suatu bahan hayati dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan. Pengujian sitotoksitas umumnya diperuntukkan sebagai metode yang relatif cepat, efisien, dan murah untuk pengembangan bahan alam (Widiastuti *et al.*, 2023). Penggunaan sel kultur sebagai alat pengujian bahan tambahan makanan (Krasteva *et al.*, 2021), resistensi antibiotik (Madhusoodanan, 2021), logam berat (Prabhu & Gadgil, 2021), dan sediaan herbal (Le-Trilling *et al.*, 2022; Pelvan *et al.*, 2022) telah dilaporkan. Uji sitotoksitas fukoidan dari tiga alga cokelat yang dikoleksi dari perairan pantai Gunung Kidul, Yogyakarta telah dilaporkan sebelumnya (Isnansetyo *et al.*, 2019). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa alga jenis *Enteromorpha* sp. dan *Laurencia* sp. aman dikonsumsi oleh manusia melalui pengukuran dari tingkat proliferasi sel yang tetap tinggi dan mencapai LC_{50} pada



dosis yang sangat tinggi (10.000 µg/mL). Alga hijau *Halimeda opuntia* memiliki kapasitas antioksidan total sebesar 57,36 mg AAE/g pada konsentrasi 1,0 mg/mL dan memiliki efek sitotoksitas pada beberapa sel kanker yang diukur dengan uji MTT (Nazarudin *et al.*, 2022). Pengujian kapasitas antioksidan yang tinggi juga telah dilakukan pada beberapa alga cokelat, seperti yang telah dilakukan pada spesies *Sargassum holopelagik* yang dikoleksi dari Karibia Meksiko (Fagundo-Mollineda *et al.*, 2023). Kapasitas antioksidan juga telah dievaluasi pada *Padina boergesenii* yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 55,62 µg/mL sekaligus menunjukkan efek sitotoksik pada sel karsinoma serviks manusia (HeLa) dengan persentase penghambatan sebesar 54% pada konsentrasi 40 µg/mL (Cholaraj & Venkatachalam, 2024). Namun, laporan yang mengungkapkan kapasitas antioksidan alga cokelat yang dikoleksi dari perairan di Indonesia, khususnya di Pulau Bali masih sangat terbatas dilaporkan.

Tantangan yang masih dihadapi dalam upaya pengembangan alga cokelat sebagai sumber pangan adalah pencemaran lingkungan perairan yang berupa logam berat (Rosiana *et al.*, 2022), mikroplastik (Li *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022), dan sumber kontaminan lainnya yang berasal dari berbagai aktivitas antropogenik manusia. Cemaran patogen bawaan makanan (*food-borne pathogen*) terutama bakteri, virus, dan parasit merupakan penyebab penyakit utama di antaranya keracunan makanan hingga penurunan kualitas produk pasca panen. Laporan dari Food and Drug Administration (FDA) menjelaskan *food-borne pathogen* dikategorikan berdasarkan jenis makanan spesifik yang dikonsumsi yang kemudian memunculkan gejala penyakit (FDA, 2021). Selama beberapa tahun terakhir, masyarakat menjadi skeptis tentang efek kesehatan yang ditimbulkan dari makanan olahan atau bahannya (Gavahian & Khaneghah, 2020; Zhu *et al.*, 2020). Oleh karena itu, penyiapan bahan baku makanan harus dilakukan secara komprehensif untuk meminimalisir kejadian tersebut di lapang, baik melalui pengujian keamanannya pada tingkat sel dan standardisasinya (Ansari *et al.*, 2022).

Pantai Sanur yang terletak di Kota Denpasar, Provinsi Bali merupakan salah satu wilayah pesisir yang ditujukan sebagai destinasi pariwisata bahari yang mengalami potensi pencemaran akibat kegiatan pariwisata hingga antropogenik yang bersumber dari wilayah daratan (Suartika, 2015). Biodiversitas alga cokelat yang terdapat di perairan Pantai Sanur sangat melimpah namun masih memerlukan pengkajian lebih lanjut, terutama potensinya sebagai sumber antioksidan alami dan pangan fungsional (Rosiana *et al.*, 2022). Guna memperoleh hasil yang lebih baik dari penelitian sebelumnya, dibutuhkan pengujian berupa pemilihan pelarut terbaik dan kombinasi alga cokelat yang diharapkan mampu meningkatkan kapasitas antioksidan sekaligus informasi mengenai keamanan konsuminya melalui pengujian pada sel kultur. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kombinasi jenis alga cokelat dan jenis pelarut terbaik berdasarkan parameter kapasitas antioksidan, toksisitas pada sel Vero, dan cemaran bakteri yang memengaruhi simplisia alga cokelat selama 30 hari masa simpan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai pengembangan alga cokelat sebagai bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan hasil perikanan.

BAHAN DAN METODE

Preparasi Alga Cokelat

Alga cokelat *Sargassum aquifolium* dan *Padina australis* diperoleh dari zona intertidal Pantai Sanur, Denpasar, Bali (titik koordinat 8°42'26.2"S 115°15'46.8"E). Alga cokelat yang diperoleh telah dideterminasi taksonomi spesiesnya di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) dengan nomor registrasi: 25498 (Permatasari *et al.*, 2022). Alga cokelat disimpan dalam kantong plastik *ziplock* steril berukuran 30×40 cm dan diberi label kemudian disimpan dalam *cool box* untuk ditransportasikan ke laboratorium. Sampel yang sudah dibawa ke laboratorium dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa kontaminan meliputi pasir, hewan epifit dan lainnya. Sampel yang telah bersih kemudian disortasi berdasarkan jenis alga untuk pengujian selanjutnya. Ketampakan

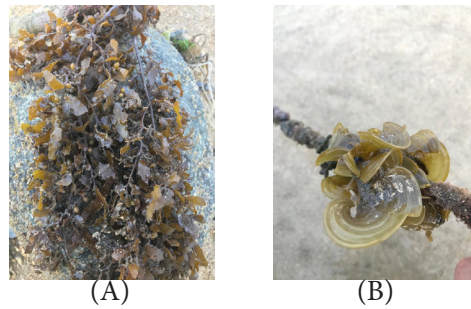


Figure 1 (A) *Sargassum aquifolium*; (B) *Padina australis*
 Gambar 1 (A) *Sargassum aquifolium*; (B) *Padina australis*

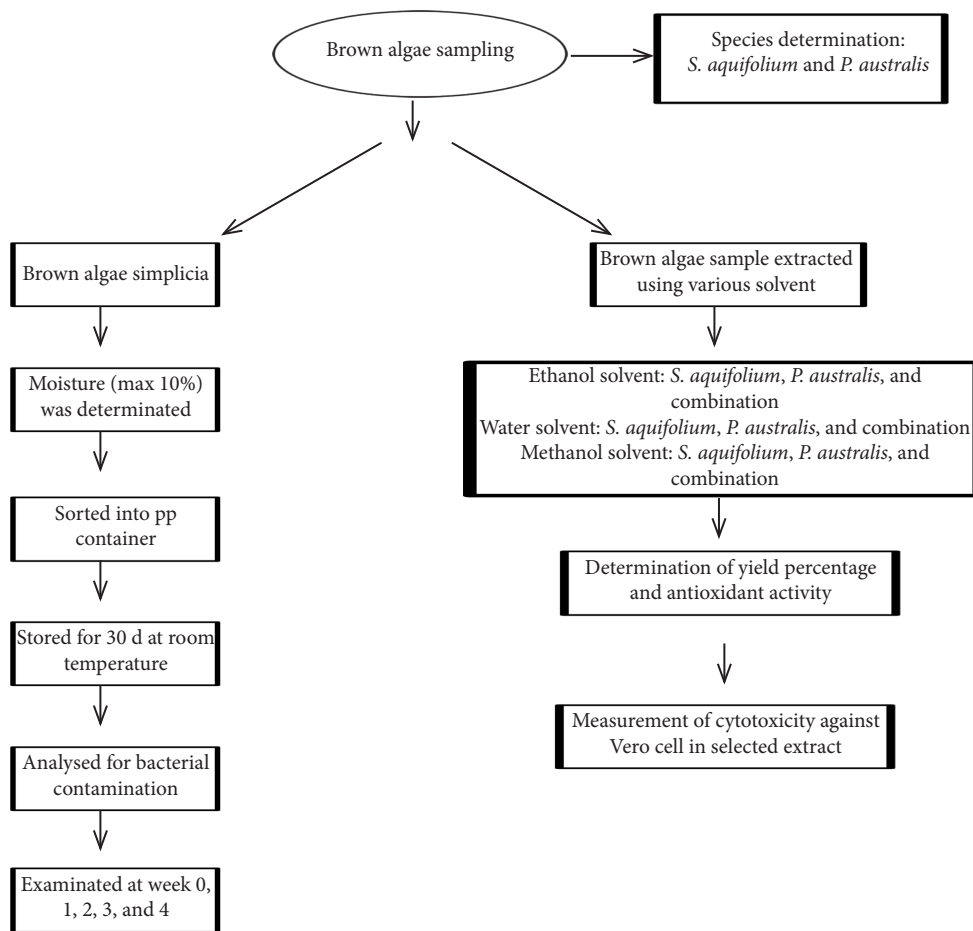


Figure 2 Research flowchart
 Gambar 2 Diagram alir penelitian

algae coklat yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada *Figure 1*. Diagram alir penelitian ini ditampilkan pada *Figure 2*.

Ekstraksi Alga Cokelat

Rumput laut *S. aquifolium* dan *P. australis* yang telah bersih lalu diekstraksi

dengan tiga jenis pelarut berbeda, yaitu etanol 70% (Sigma-Aldrich, AS), metanol 50% (Sigma-Aldrich, AS), dan akuades (Sigma-Aldrich, AS). Perbandingan rumput laut dan pelarut masing-masing perlakuan 1:3 (b/v) (Isnansetyo *et al.*, 2017; Sobuj *et al.*, 2021). Makroalga dikeringkan terlebih



dahulu menggunakan oven pada suhu 50°C selama 3 hari untuk memperoleh simplisia. Simplisia yang telah diperoleh kemudian digiling menggunakan *grinder mill electric* untuk memperoleh sediaan bubuk makroalga. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi selama 7 hari dengan suhu 29°C dan pada kondisi *dim light* untuk mencegah terjadinya oksidasi. Hasil ekstraksi lalu disaring menggunakan kertas saring steril Whatman no. 42 mengacu pada metode Sari *et al.* (2021). Selanjutnya, residu pada tahap I ditambahkan dengan pelarut sebanyak 75 mL untuk memperoleh rekoversi maksimal dari komponen bioaktif, dihomogenkan selama 10 menit dan disaring kembali sehingga menghasilkan filtrat II. Hasil filtrat I dan II digabungkan dan dihomogenkan untuk selanjutnya dilakukan pemekatan ekstrak (Sari *et al.*, 2021). Pemekatan ekstrak dilakukan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Kapasitas antioksidan dan sitotoksisitas dari ekstrak kental diujikan (Widhiantara *et al.*, 2021).

Ekstrak kombinasi alga cokelat dibuat berdasarkan metode yang dikembangkan dari Pratama & Budiharjo (2017) dengan sedikit modifikasi. Simplisia dari masing-masing serbuk alga cokelat dimaserasi dengan pelarut etanol, ekstrak air, dan metanol dengan perbandingan simplisia dan pelarut yaitu 1:10. Perbandingan simplisia dan pelarut ini digunakan untuk meningkatkan profil fitokimia yang terkandung dalam ekstrak kental. Sampel sebanyak 10 g serbuk simplisia alga cokelat (masing-masing 5 g) dimasukkan ke dalam erlenmeyer berukuran 250 mL dan direndam menggunakan 100 mL masing-masing pelarut dan ditutup dengan *aluminium foil*. Kombinasi sampel diekstraksi selama 7 hari pada suhu 29°C. Hasil maserasi difiltrasi dengan metode yang dijelaskan sebelumnya, kemudian diuji aktivitas antioksidan dan sitotoksisitas.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Asam galat (standar) sebanyak 0,01 g diencerkan dengan akuades

hingga 100 mL. Seri pengenceran dibuat menjadi 6 konsentrasi, yaitu 1, 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Larutan standar pada masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 0,5 mL (sebagai kelompok standar) serta ditempatkan pada tabung reaksi steril. Ekstrak kering ditimbang sebanyak 0,1 g dan dicampurkan dengan 5 mL metanol 99,9%. Ekstrak kemudian dihomogenkan dan disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan kemudian disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat tersebut diencerkan kembali hingga mencapai volume 5 mL. Filtrat diambil sebanyak 0,5 mL dan ditempatkan pada tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi yang sudah mengandung standar dan filtrat kemudian ditambahkan sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,1 mM atau (0,0039 g DPPH) dalam 100 mL metanol 99,9%.

Standar dan filtrat lalu diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi standar dan sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi standar digunakan untuk membuat persamaan regresi linier dan absorbansi sampel digunakan untuk menentukan nilai konsentrasi ekuivalen antioksidan (x) yang dinyatakan dalam satuan mg GAEAC atau *gallic acid equivalent antioxidant capacity* (Watiniasih *et al.*, 2022). Pengukuran kapasitas antioksidan pada tiap ekstrak dilakukan sebanyak 3 kali. Penentuan nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak dilakukan untuk mengetahui konsentrasi zat yang mengandung antioksidan yang diperlukan untuk menghambat sebesar 50% radikal DPPH awal (Olugbami *et al.*, 2014). Pengulangan tidak dilakukan pada penentuan nilai IC_{50} .

Sitotoksisitas Ekstrak Alga Cokelat

Ekstrak alga cokelat yang memiliki kapasitas antioksidan tertinggi digunakan untuk pengujian sitotoksisitas menggunakan Normal African Green Monkey Kidney Epithelial Cells (Vero cell line; IBRC C10001) diperoleh dari Institut Tropical Disease Center (ITDC) Universitas Airlangga. Sel vero dikultur pada medium M199 (Sigma-Aldrich, AS) dengan penambahan 10% Fetal Bovine

Serum (FBS) (Sigma-Aldrich, AS), antibiotik Penicillin-Streptomycin sebanyak 2% (Sigma-Aldrich, AS) dan Fungison (Sigma-Aldrich, AS) sebanyak 1% (Isnansetyo *et al.*, 2017). Ekstrak alga cokelat terpilih ditambahkan pada medium kultur sel baru dengan konsentrasi akhir secara berturut-turut 10.000; 8.000; 4.000; 2.000; 1.000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 16,125; dan 8,626 $\mu\text{g/mL}$. Kontrol negatif adalah akuades steril dan kontrol positif adalah biakan kultur sel tanpa penambahan ekstrak alga cokelat. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Perlakuan ekstrak alga cokelat dilakukan selama 24 jam. Pertumbuhan sel diamati menggunakan metode MTT. Analisis pertumbuhan sel dideteksi dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 550 nm. Tingkat pertumbuhan sel yang dipapar dengan ekstrak alga cokelat dibandingkan dengan kontrol negatif dan dinyatakan dalam persentase atau % (Isnansetyo *et al.*, 2017). Nilai IC_{50} , maka ditentukan melalui analisis probit berdasarkan hubungan antara konsentrasi log terhadap persentase penghambatan pertumbuhan sel dari metode MTT. Klasifikasi sifat sitotoksik suatu senyawa mengacu kepada *National Cancer Institute* (NCI) of US, meliputi $IC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$ (tinggi), IC_{50} berkisar antara 21-200 $\mu\text{g/mL}$ (sedang), IC_{50} berkisar antara 201-500 $\mu\text{g/mL}$ (lemah), dan $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ berarti tidak ada aktivitas (Sajjadi *et al.*, 2015).

Penyimpanan Simplisia Alga Cokelat

Alga cokelat kering merupakan produk dalam sediaan segar yang telah mengalami proses pengeringan (Permatasari *et al.*, 2022). Sampel alga cokelat yang telah diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan pengeringan oven pada suhu 40°C selama 3 hari hingga diperoleh sediaan kering dengan kandungan air maksimum 10% (Permatasari *et al.*, 2022). Sampel ditimbang sebanyak 100 g (berat kering). Sampel dikemas dalam wadah *plastic grade polypropylene* (bobot 100 g/kemasan) dan kemudian disimpan dalam suhu ruang selama 30 hari. Analisis *food-borne pathogen bacteria* dilakukan secara berturut-turut pada minggu ke-0; 1; 2; 3; dan 4.

Analisis Cemaran Bakteri

Cemaran bakteri yang dianalisis meliputi koliform, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterobacteria*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio* spp. dan *Staphylococcus aureus*, dan *total plate count* (TPC). Metode pengujian koliform dan *E. coli* mengacu pada prosedur dari SNI 2332.1:2015 dan AOAC 020902 yang ditumbuhkan pada media agar koliform dan *eosin methylen blue agar* (EMBA). Metode pengujian bakteri *Enterobacter* mengacu pada ISO 21528-2:2017 yang ditumbuhkan pada media selektif agar *violet red bile dextrose* (VRBD). Metode pengujian *S. aureus* mengacu pada SNI 2332:9:2015 dan ISO 6888-1: 2003 yang ditumbuhkan pada media selektif agar *baird parker*. Metode pengujian *L. monocytogenes* mengacu pada ISO *normative 11920-2 microbiology of food and animal feeding stuff* yang ditumbuhkan pada media selektif agar PALCAM *Listeria-selective medium*. Analisis *Vibrio* spp. dilakukan dengan mengacu pada SNI 2332.5-2006 (*V. parahaemolyticus*), dan SNI 2332.4-2006 (*V. cholerae*) pada medium selektif agar *thiosulfate-citrate-bile salts sucrose* (TCBS) agar. Metode pengujian *total plate count* (TPC) mengacu pada SNI 2332.1:2015 dan *Animal Origin Declaration for 105463* pada medium agar *plate count*. Pengulangan tidak dilakukan pada pengujian analisis cemaran bakteri.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan dua faktor berupa kombinasi antara perbedaan jenis alga cokelat dan jenis pelarut. Perlakuan pada penelitian ini antara lain: P1 (Ekstrak etanol *P. australis*); P2 (Ekstrak etanol *S. aquifolium*); P3 (Ekstrak etanol kombinasi *P. australis* + *S. aquifolium*); P4 (Ekstrak air *P. australis*); P5 (Ekstrak air *S. aquifolium*); P6 (Ekstrak air kombinasi *P. australis* + *S. aquifolium*); P7 (Ekstrak metanol *P. australis*); P8 (Ekstrak metanol *S. aquifolium*); dan P9 (Kombinasi ekstrak *P. australis* + *S. aquifolium*). Data sitotoksitas ekstrak alga cokelat terhadap sel Vero dianalisis dengan statistik *One Way Anova* menggunakan perangkat lunak SPSS 23.0 (IBM, AS) dan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan dari tiap ekstrak



alga digunakan uji lanjut Duncan pada taraf kepercayaan 95%. Data kapasitas antioksidan dan cemaran bakteri dianalisis menggunakan Ms. Excel dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan persentase berat ekstrak yang dihasilkan dibandingkan dengan berat simplisia yang digunakan. Rendemen yang diperoleh dari alga cokelat yang diekstraksi dengan tiga pelarut berbeda menunjukkan hasil yang bervariasi. Hasil penelitian menunjukkan rendemen tertinggi dari ekstrak akuades kombinasi *S. aquifolium* dan *P. australis* sebesar 3,78% dan terendah pada ekstrak etanol dan metanol *S. aquifolium* sebesar 3,04%. Hasil rendemen dapat dilihat pada *Table 1*.

Polaritas pelarut sangat berdampak terhadap rendemen ekstrak, kelarutan senyawa fenol, dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada makroalga (Nawaz *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pelarut yang digunakan untuk tahap ekstraksi senyawa bioaktif harus dipilih secara selektif karena dapat memengaruhi jumlah dan kualitas ekstrak. Rendemen ekstrak metanol *Padina linearis* pada penelitian sebelumnya sebesar

16,55% atau lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak aseton *H. musciformis* yang hanya 1,13%. Penelitian tersebut juga menunjukkan pelarut metanol memiliki persentase rendemen yang tinggi jika dibandingkan dengan pelarut etanol dan aseton untuk seluruh ekstrak makroalga yang diujikan (Emu *et al.*, 2023). Penelitian lainnya juga menyebutkan bahwa pelarut metanol menjadi pelarut terbaik untuk memperoleh hasil rendemen ekstrak yang tinggi pada makroalga di Jepang (Airanthi *et al.*, 2011). Namun, berbeda dengan rendemen ekstrak air makroalga hijau (*Caulerpa racemosa* dan *Caulerpa lentilifera*) yang lebih tinggi dibandingkan dengan metanol (Yap *et al.*, 2019). Hal ini semakin menegaskan pengaruh polaritas pelarut sangat berdampak pada kelarutan unsur kimia sehingga memengaruhi rendemen ekstrak yang dihasilkan (Dhanani *et al.*, 2017). Semakin tinggi persentase rendemen menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin tinggi. Nilai rendemen juga dikaitkan dengan banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan.

Nilai IC₅₀ dan Aktivitas Antioksidan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kombinasi *S. aquifolium* dan *P. australis* memiliki nilai kapasitas antioksidan

Table 1 Yield, antioxidant capacity and IC₅₀ of brown algae extracts with different solvents

Tabel 1 Rendemen, kapasitas antioksidan, dan IC₅₀ ekstrak alga cokelat dengan pelarut berbeda

Solvent	Sample	Yield (%)	Antioxidant capacity (mg/L GAEAC)	IC ₅₀ (µg/mL)
Ethanol	<i>P. australis</i>	3.33±0.03 ^a	0.913±0.004 ^a	180.85
	<i>S. aquifolium</i>	3.04±0.45 ^b	0.869±0.035 ^b	140.05
	Combination	3.72±0.02 ^c	0.935±0.003 ^c	89.03
Aquadest	<i>P. australis</i>	3.58±0.02 ^c	0.914±0.007 ^a	190.03
	<i>S. aquifolium</i>	3.39±0.03 ^a	0.915±0.026 ^a	198.14
	Combination	3.78±0.02 ^c	0.876±0.035 ^b	170.93
Methanol	<i>P. australis</i>	3.39±0.03 ^a	0.674±0.418 ^d	199.89
	<i>S. aquifolium</i>	3.04±0.45 ^b	0.890±0.052 ^{ab}	197.67
	Combination	3.52±0.02 ^c	0.882±0.003 ^{ab}	189.39

Different letter notations in the same column indicate there are significant differences between sample groups ($p \leq 0.05$)

tertinggi sebesar $0,935 \pm 0,003$ mg/L GAEAC dengan nilai IC_{50} sebesar $89,03$ μ g/mL (kategori kuat). Nilai tersebut berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok lainnya ($p \leq 0,05$). Nilai IC_{50} dan kapasitas antioksidan dapat dilihat pada *Table 1*.

Nilai antioksidan dapat dipengaruhi oleh habitat bahan baku. Kondisi lingkungan perairan di antaranya salinitas, suhu, pengayaan nutrisi, paparan UV, keberadaan hewan laut lain dan polutan (Manlusoc *et al.*, 2019; Matos *et al.*, 2021) dapat memengaruhi pertumbuhan dari alga dan komposisi biokimia (pigmen atau protein), asimilasi nutrisi hingga kapasitas antioksidannya (Michalak *et al.*, 2022). Perbedaan aktivitas antioksidan juga dapat dipengaruhi dari metode ekstraksi, penggunaan jenis pelarut, dan lama waktu ekstraksi.

Penelitian sebelumnya melaporkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol *U. lactuca* menunjukkan aktivitas penambatan radikal DPPH yang relatif tinggi ($0,486 \pm 0,42$ mg/L GAEAC) jika dibandingkan dengan ekstrak rumput laut lainnya pada penelitian ini (Emu *et al.*, 2023). Protein pigmen *phycoerythrin* yang berhasil diekstraksi dari *Gracilaria corticata* memiliki aktivitas antioksidan sebesar $0,264 \pm 10,20$ mg/L GAEAC (Sudhakar *et al.*, 2023). Hasil tersebut masih lebih rendah jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari kombinasi ekstrak etanol *P. australis* dan *S. aquifolium* yang dihasilkan pada penelitian ini. Banyak variabel yang menentukan aktivitas antioksidan, termasuk metode pengujian aktivitas antioksidan yang dikembangkan untuk mewakili beragam mekanisme aksi dari antioksidan. Berat molekul dari suatu senyawa yang dimiliki oleh makroalga, juga berkorelasi positif terhadap tingginya aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Liu *et al.*, 2018).

Pengujian berbagai jenis pelarut dan bahan alam sangat penting untuk tujuan standardisasi sekaligus untuk memperoleh efek antioksidan yang relatif baik. Sampel yang dikombinasikan dan diekstraksi menggunakan pelarut yang tepat dapat meningkatkan kapasitas antioksidan dan nilai IC_{50} yang memungkinkan efek farmakologisnya sebagai agen antioksidan. Demikian pula dengan

antioksidan makroalga yang memiliki peran sebagai *free radical scavengers* yang mampu mencegah dan memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh stres oksidatif dan berpeluang sebagai agen terapi berbagai penyakit (Liu & Sun, 2020). Penelitian serupa mengungkapkan komponen bioaktif dari ekstrak petroleum eter *S. aquifolium* yang memiliki aktivitas antibakteri patogen manusia dan diketahui mengandung fitokonstituen berupa tannin dan saponin (Moni *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya juga mengungkapkan aktivitas antidiabetes dari ekstrak *P. asborescens* terhadap penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase dengan nilai IC_{50} sebesar $0,23 \pm 0,03$ mg/mL dan $0,26 \pm 0,05$ mg/mL (Park & Han, 2012).

Sitotoksitas

Pengembangan obat tradisional harus memiliki kemampuan dalam menghadapi penyakit tertentu dan tanpa menimbulkan efek toksisitas yang berarti terhadap kelangsungan hidup dari sel normal. Hasil viabilitas sel Vero untuk kelompok kontrol dan ekstrak etanol kombinasi *P. australis* dan *S. aquifolium* dapat dilihat pada *Table 2*. Ekstrak etanol kombinasi *P. australis* dan *S. aquifolium* menunjukkan aktivitas sitotoksitas lemah dengan nilai IC_{50} sebesar $382,30$ μ g/mL.

Nilai rerata sitotoksitas dari sel Vero yang dipapar dengan kombinasi ekstrak etanol *P. australis* dan *S. aquifolium* bervariasi tergantung konsentrasi ekstrak. Nilai rerata sitotoksitas sel tertinggi ditunjukkan pada kelompok kontrol yaitu sebesar $122 \pm 0,000\%$, dilanjutkan dengan konsentrasi $7,812$ μ g/mL, yaitu sebesar $106,45 \pm 0,0005\%$. Viabilitas sel Vero terus mengalami penurunan yang dimulai dari konsentrasi 125 μ g/mL dan tidak ditemukan pertumbuhan sel Vero pada konsentrasi $250 - 10,000$ μ g/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol *S. aquifolium* dan *P. australis* aman terhadap pertumbuhan sel Vero dengan konsentrasi ekstrak yang lebih rendah, sedangkan pertumbuhan sel justru mengalami kematian pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi (*Table 2*).

Penelitian telah membuktikan kemampuan senyawa aktif yang bersumber



Table 2 Cytotoxicity of Vero cells due to exposure to combined ethanol extract of *P. australis* and *S. aquifolium* at several concentrations and controls

Tabel 2 Sitotoksitas sel Vero akibat paparan ekstrak etanol kombinasi *P. australis* dan *S. aquifolium* pada beberapa konsentrasi dan kontrol

Extract concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell viability (%)
Control	122 \pm 0.000 ^a
7.8	106.45 \pm 0.0005 ^a
15.6	79.83 \pm 0.0015 ^b
31.2	50.19 \pm 0.003 ^c
62.5	21.77 \pm 0.0015 ^d
125	9.67 \pm 0.0011 ^e
250	0.00 \pm 0.0000 ^f
500	0.00 \pm 0.0000 ^f
1,000	0.00 \pm 0.0000 ^f
2,000	0.00 \pm 0.0000 ^f
4,000	0.00 \pm 0.0000 ^f
8,000	0.00 \pm 0.0000 ^f
10,000	0.00 \pm 0.0000 ^f

Columns with different notations show significant differences between treatments based on the Duncan test ($p \leq 0.05$)

dari alga laut di antaranya sebagai antibiotik, antioksidan, antivirus, antitumor, sitotoksitas, dan kemampuan meninduksi apoptosis pada beberapa sel kanker. Ekstrak etil asetat dan metanol *Ulva flexuosa* yang dikoleksi dari Teluk Persia pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ menyebabkan kematian sel tertinggi pada sel Vero (Mashjoor *et al.*, 2016). Fukoidan yang diisolasi dari *Sargassum* sp. dan *Turbinaria* sp. menunjukkan sitotoksitas yang rendah dengan nilai CC_{50} , yaitu berkisar 461-663 $\mu\text{g/mL}$ (Isnansetyo *et al.*, 2016). Bahan dari sumberdaya perairan selain alga cokelat juga telah banyak dilaporkan aktivitas sitotoksiknya terhadap beberapa model sel termasuk Vero *cell line*. Ekstrak etil asetat jamur yang berasosiasi dengan spons laut *Acanthostrongylophor ingens* memiliki sifat sitotoksitas yang tinggi pada lini sel WiDr namun rendah pada sel Vero (Aminah *et al.*, 2019). Jamur endofit yang berhasil diisolasi dari daun, kulit batang, dan akar mangrove *Sonneratia alba* asal Sumatera barat menunjukkan sifat sitotoksiknya terhadap sel

T47D tetapi tidak pada Sel Vero (Handayani *et al.*, 2018).

Cemaran Bakteri

Cemaran bakteri dapat didefinisikan sebagai agen biologis berupa bakteri yang dapat menimbulkan penyakit atau penurunan kualitas pada bahan baku makanan. Waktu penyimpanan alga cokelat kering menghasilkan jumlah yang bervariasi terhadap keberadaan cemaran bakteri. Alga cokelat kering yang disimpan pada wadah *plastic food-grade* polietilen selama 4 minggu berpengaruh terhadap peningkatan *total plate count* (TPC), Enterobacteriaceae, dan koliform.

Total Plate Count (TPC)

Total plate count (TPC) adalah jumlah pencacahan terhadap organisme aerobik, mesofilik yang tumbuh dalam kondisi aerobik pada suhu sedang (20-45°C). Penentuan TPC mencakup keseluruhan patogen dan non-patogen yang digunakan untuk menentukan

status higienitas suatu bahan atau produk makanan yang diproduksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa angka lempeng total mengalami tren peningkatan seiring lamanya penyimpanan bahan. *Total plate count S. aquifolium* tertinggi pada awal penyimpanan sebesar $129,6 \times 10^2$ cfu/g. Nilai ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan *P. australis* pada masa penyimpanan yang sama sebesar $16,0 \times 10^2$ cfu/g. Hasil TPC tertinggi pada kedua sampel ditemukan pada penyimpanan minggu ke-4 dengan nilai sebesar $299,7 \times 10^2$ cfu/g (*S. aquifolium*) dan $289,4 \times 10^2$ cfu/g. Peningkatan yang signifikan terjadi pada minggu ke-2 pada penyimpanan *P. australis* sebesar $152,0 \times 10^2$ cfu/g. Hasil angka lempeng total rumput laut kering *S. aquifolium* dan *P. australis* selama 4 minggu penyimpanan dapat dilihat pada *Figure 3*.

Total plate count hasil penelitian lebih tinggi dibandingkan dengan sampel keripik alga berbahan *Sargassum* sp. dan *Eucheuma cottonii* masing-masing sebesar $2,6 \times 10^2$ cfu/mL dan $2,8 \times 10^2$ cfu/mL (Zainuri *et al.*, 2020). Nilai TPC dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya, yaitu ketersediaan nutrisi yang mencukupi untuk pertumbuhan komunitas bakteri yang mencemari permukaan alga selama proses penyimpanan (Hollants *et al.*, 2013). Proses pengeringan yang belum optimal sehingga menyisakan kadar air yang cukup tinggi juga memiliki

efek selektif pada pertumbuhan konsorsium bakteri pembentuk spora misalnya *Bacillus* spp. yang berasosiasi dengan alga (Bourdoux *et al.*, 2016; del Olmo *et al.*, 2018). Bakteri pembentuk spora seperti *Bacillus* spp. penghasil toksin telah berhasil diisolasi dari alga dan mampu bertahan selama pemrosesan termal (Blikra *et al.*, 2019).

Bakteri Gram Negatif Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae merupakan kelompok heterogen dari bakteri Gram negatif yang bertindak sebagai mikroflora usus mamalia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cemaran Enterobacteriaceae berhasil terdokumentasikan di masing-masing alga cokelat kering yang disimpan skala in vitro. Jumlah koloni Enterobacteriaceae yang mengalami peningkatan berdasarkan lama waktu penyimpanan. Enterobacteriaceae dapat tumbuh pada media *Violet Red Bile Dextrose* dengan menunjukkan warna koloni merah muda. Pertumbuhan koloni Enterobacteriaceae telah dimulai sejak minggu ke-1 penyimpanan pada masing-masing alga, yaitu *S. aquifolium* (50×10^2 cfu/g) dan *P. australis* (20×10^2 cfu/g). Pertumbuhan koloni tertinggi terjadi pada minggu ke-4 penyimpanan, yaitu masing-masing sebesar *S. aquifolium* (250×10^2 cfu/g) dan *P. australis* (310×10^2 cfu/g). Hasil pengamatan bakteri

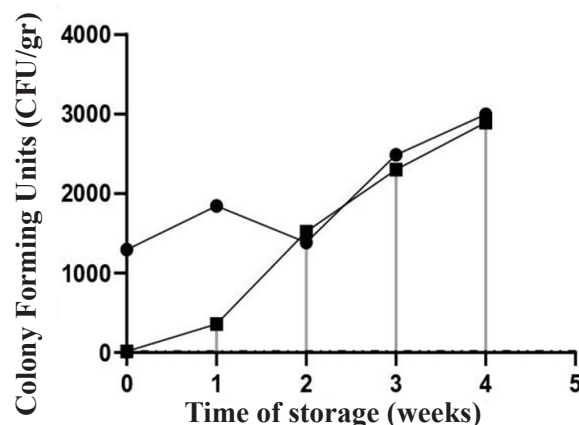


Figure 3 Total plate count (TPC) of dried brown algae stored for 4 weeks; ● *S. aquifolium*, ■ *P. australis*

Gambar 3 *Total plate count* (TPC) pada alga cokelat kering berdasarkan waktu penyimpanan selama 4 minggu; ● *S. aquifolium*, ■ *P. australis*



Enterobacteriaceae rumput laut kering *S. aquifolium* dan *P. australis* selama 4 minggu penyimpanan dapat dilihat pada *Figure 4*.

Enterobacteriaceae dapat menyebabkan berbagai macam penyakit termasuk infeksi luka, infeksi saluran kemih, gastroenteritis, meningitis, pneumonia, septicemia, dan sindrom uremik hemolitik walaupun beberapa dari mereka bertindak sebagai patogen opportunistic (D'Agostino & Cook, 2016). Beberapa spesies yang termasuk keluarga Enterobacteriaceae mencakup sejumlah patogen bawaan makanan penting di antaranya *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*., *Escherichia coli* O157:H7., *Shigella* spp., dan *Cronobacter* spp. Kelompok bakteri ini dapat mengkontaminasi bahan pangan karena terjadinya kontaminasi silang ataupun berasal dari lingkungan perairan tempat melakukan koleksi sampel. Enterobacteriaceae juga dapat menjadi indikator untuk menentukan kebersihan dan kontaminasi pasca pengolahan makanan yang disimpan atau diolah dengan perlakuan panas. Penelitian serupa menunjukkan peningkatan koloni Enterobacteriaceae pada alga cokelat segar yang mencapai 4,0-7,0 log cfu/g. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas mikrobiologis dari alga ini dipertanyakan untuk konsumsi oleh manusia (Lyitou *et al.*, 2021).

Bakteri Gram Negatif

Koliform adalah bakteri Gram-negatif yang dapat tumbuh secara aerobik atau fakultatif anaerobik dengan adanya tambahan garam empedu dan memfermentasi laktosa. Bakteri yang termasuk kelompok koliform meliputi genera *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, dan *Citrobacter*. Hasil pengukuran jumlah koliform pada alga cokelat kering menunjukkan bahwa koliform belum tumbuh hingga minggu ke-2. Koloni koliform mulai muncul pada minggu ke-3 pada masing – masing alga cokelat kering sebesar *S. aquifolium* (80 cfu/g) dan *P. australis* (131 cfu/g). Peningkatan tertinggi terjadi pada minggu ke-4, dengan *P. australis* sebesar 178 cfu/g lebih tinggi dibandingkan *S. aquifolium* sebesar 100 cfu/g. Hasil pengamatan bakteri koliform rumput laut kering *S. aquifolium* dan *P. australis* selama 4 minggu penyimpanan dapat dilihat pada *Figure 5*.

Bakteri koliform pada suatu bahan makanan dapat memberikan korelasi mengenai potensi cemaran *food-borne bacteria*. Proses pemanasan dapat menurunkan jumlah bakteri koliform pada produk alga. Choi *et al.* (2014) melaporkan bahwa produk olahan rumput laut “Nori” yang diproses menggunakan bejana yang dipanaskan pada suhu 260-400°C selama 2-10 detik mampu mengurangi jumlah bakteri aerobik dan tidak

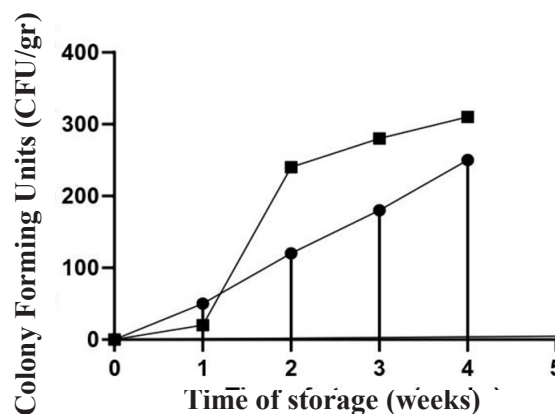


Figure 4 Number of Enterobacteriaceae colonies of dried brown algae stored for 4 weeks; ● *S. aquifolium*, ■ *P. australis*

Gambar 4 Jumlah koloni Enterobacteriaceae pada alga cokelat kering berdasarkan waktu penyimpanan selama 4 minggu; ● *S. aquifolium*, ■ *P. australis*

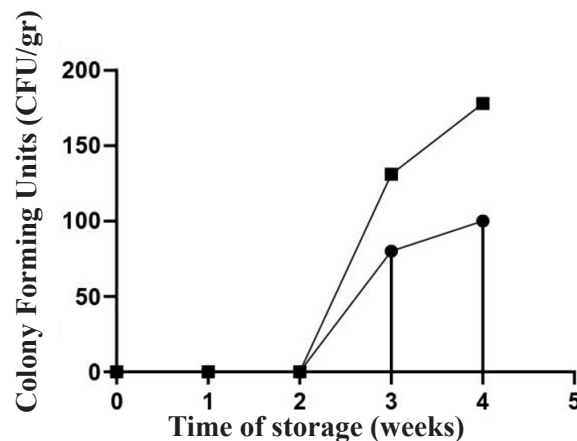


Figure 5 Number of coliform colonies on dried brown algae stored for 4 weeks; ● *S. aquifolium*, ■ *P. australis*

Gambar 5 Jumlah koloni koliform pada alga cokelat kering berdasarkan waktu penyimpanan selama 4 minggu; ● *S. aquifolium*, ■ *P. australis*

terdeteksi bakteri koliform. Fekal koliform umumnya diketahui sebagai kolonisasi bakteri alami yang terdapat pada saluran pencernaan mamalia dan sering ditemukan berada di lingkungan muara dan pesisir. Fekal koliform, yaitu *E. coli* merupakan indikator suatu lingkungan terkontaminasi oleh tinja hewan berdarah panas dan beresiko mengakibatkan infeksi gastrointestinal (Barberi *et al.*, 2020). Peningkatan *Coliform* pada produk memiliki hubungan dengan kadar air dan nutrisi yang terkandung dalam alga cokelat kering. Begitu pula dengan waktu simpan yang meningkat, memberikan kesempatan untuk bakteri ini dalam memanfaatkan nutrisi secara maksimal.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kombinasi *S. aquifolium* dan *P. australis* merupakan perlakuan terbaik yang memiliki kapasitas antioksidan sebesar $0,935 \pm 0,003$ mg/L GAEAC dengan IC_{50} 89,03 μ g/mL (kuat) dan kapasitas sitotoksitas sel Vero yang lemah yaitu IC_{50} 382,30 μ g/mL. Peningkatan cemaran *food-borne bacteria* (kelompok Enterobacteriaceae dan koliform) pada bahan alga cokelat kering terjadi berdasarkan lama waktu penyimpanan. Penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk memberikan penegasan bioaktivitas kombinasi ekstrak alga cokelat terhadap sel kanker dan penyakit degeneratif terkait, terutama pada studi praklinis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LP2M) Universitas Dhyana Pura (UNDHIRA-BALI) yang telah mendukung terselenggaranya penelitian ini melalui pendanaan hibah internal skema pemula dengan nomor kontrak: 028/UNDHIRA-LPPM/Lit./VIII/2022. Penulis juga berterima kasih kepada Laboratorium Dengue Study, Institut Tropical Disease (ITD), Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur yang telah memfasilitasi pengujian sitotoksitas. Begitu pula dengan Grup Riset Biologi Kesehatan, Program Studi Biologi, Fakultas Kesehatan dan Sains, Universitas Dhyana Pura yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Airanthi, M. K. W., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2011). Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *Journal of Food Science*, 76(1), C104-11. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01915.x>
- Aminah, I., Putra, A. E., Arbain, D., & Handayani, D. (2019). Screening of cytotoxic activities toward WiDr and Vero cell lines of ethyl acetate extracts of fungi-derived from the marine sponge



- Acanthostrongylophora ingens. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(1), 1–5. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90101>
- Ansari, A., Parmar, K., & Shah, M. (2022). A comprehensive study on decontamination of food-borne microorganisms by cold plasma. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 4, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100098>
- Barberi, O. N., Byron, C. J., Burkholder, K. M., St. Gelais, A. T., & Williams, A. K. (2020). Assessment of bacterial pathogens on edible macroalgae in coastal waters. *Journal of Applied Phycology*, 32(1), 683–696. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01993-5>
- Bizzaro, G., Vatland, A. K., & Pampanin, D. M. (2022). The One-Health approach in seaweed food production. *Environment International*, 158, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106948>
- Blikra, Marthe J, Løvdal, T., Vaka, M. R., Roiha, I. S., Lunestad, B. T., Lindseth, C., & Skipnes, D. (2019). Assessment of food quality and microbial safety of brown macroalgae (*Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1198–1206. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9289>
- Blikra, Marthe Jordbrekk, Altintzoglou, T., Løvdal, T., Rognså, G., Skipnes, D., Skåra, T., Sivertsvik, M., & Noriega Fernández, E. (2021). Seaweed products for the future: Using current tools to develop a sustainable food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 765–776. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.002>
- Bourdoux, S., Li, D., Rajkovic, A., Devlieghere, F., & Uyttendaele, M. (2016). Performance of drying technologies to ensure microbial safety of dried fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1056–1066. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12224>
- Cholaraj, R., & Venkatachalam, R. (2024). Investigation of antioxidant and anticancer potential of fucoïdan (in-vitro & in-silico) from brown seaweed *Padina boergesenii*. *Algal Research*, 79, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103442>
- Chopin, T., & Tacon, A. G. J. (2021). Importance of seaweeds and extractive species in global aquaculture production. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2), 139–148. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1810626>
- D'Agostino, M., & Cook, N. (2016). Foodborne pathogens. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 83–86). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00326-3>
- del Olmo, A., Picon, A., & Nuñez, M. (2018). The microbiota of eight species of dehydrated edible seaweeds from North West Spain. *Food Microbiology*, 70, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.10.009>
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>
- Diharmi, A., Edison, Ariani, N. M., Sumarto, & Ilza, M. (2020). Komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar *Sargassum plagyophyllum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 58–66.
- Embling, R., Neilson, L., Randall, T., Mellor, C., Lee, M. D., & Wilkinson, L. L. (2022). 'Edible seaweeds' as an alternative to animal-based proteins in the UK: Identifying product beliefs and consumer traits as drivers of consumer acceptability for macroalgae. *Food Quality and Preference*, 100, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104613>
- Emu, S. A., Dulal, M. A., Kali, T. Das, Chadni, M. S., Rasul, M. G., Mondal, M. N., Ahsan, M. E., Khan, M., &

- Shah, A. K. M. A. (2023). Effects of extracting solvents on phytochemical, antioxidant, and antibacterial activity of some seaweeds from the Bay of Bengal offshore Island. *Food and Humanity*, 1, 1157–1166. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.09.005>
- Fagundo-Mollineda, A., Robledo, D., Vásquez-Elizondo, R. M., & Freile-Pelegrín, Y. (2023). Antioxidant activities in holopelagic *Sargassum* species from the Mexican Caribbean: Temporal changes and intra-thallus variation. *Algal Research*, 76, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103289>
- FAO. (2021). *Global seaweeds and microalgae production, 1950–2019*.
- FDA. (2021). *Outbreaks of Foodborne Illness*. <https://www.fda.gov/food/outbreaks-foodborne-illness/foodborne-pathogens>
- Fleurence, J. (2016). Seaweeds as Food. In *Seaweed in Health and Disease Prevention* (1st ed., pp. 149–167). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00005-1>
- Ganesan, A. R., Tiwari, U., & Rajauria, G. (2019). Seaweed nutraceuticals and their therapeutic role in disease prevention. *Food Science and Human Wellness*, 8(3), 252–263. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.08.001>
- Ganesan, M., Trivedi, N., Gupta, V., Madhav, S. V., Radhakrishna Reddy, C., & Levine, I. A. (2019). Seaweed resources in India – current status of diversity and cultivation: prospects and challenges. *Botanica Marina*, 62(5), 463–482. <https://doi.org/10.1515/bot-2018-0056>
- Gavahian, M., & Khaneghah, A. M. (2020). Cold plasma as a tool for the elimination of food contaminants: Recent advances and future trends. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(9), 1581–1592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1584600>
- Govaerts, F., & Olsen, S. O. (2022). Exploration of seaweed consumption in Norway using the norm activation model: The moderator role of food innovativeness. *Food Quality and Preference*, 99, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2021.104511>
- Hakim, M. M., & Patel, I. C. (2020). A review on phytoconstituents of marine brown algae. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00147-6>
- Handayani, D., Rivai, H., Mulyana, R., Suharti, N., Rasyid, R., & Hertiani, T. (2018). Antimicrobial and cytotoxic activities of endophytic fungi isolated from mangrove plant *Sonneratia alba* Sm. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(2), 049–053. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8207>
- Hidayah, N., Sumandiarsa, I. K., & Alqadiri, W. M. (2024). Kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antifungal ekstrak *Padina* sp. menggunakan *ultrasound assisted extraction* terhadap *Aspergillus flavus*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(4), 297–308. <http://dx.doi.org/10.17844/jphphi.v27i4.44634>
- Hollants, J., Leliaert, F., De Clerck, O., & Willems, A. (2013). What we can learn from sushi: a review on seaweed-bacterial associations. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(1), 1–16. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01446.x>
- Isnansetyo, A., Istiqomah, I., Widaningroem, R., Triyanto, R. A., Safia, R. Y., & Senny, H. (2019). Toxicity test for evaluating food safety of new edible seaweeds, *Enteromorpha* sp. and *Laurencia* sp. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 21(2), 73–38. <https://doi.org/10.22146/jfs.34103.Uji>
- Isnansetyo, A., Laili Lutfia, F. N., Nursid, M., T, T., & Susidarti, R. A. (2016). Cytotoxicity of fucoidan from three tropical brown algae against breast and colon cancer cell lines. *Pharmacognosy Journal*, 9(1), 14–20. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.1.3>
- Isnansetyo, A., Lutfia, F. N. L., Nursid, M., Trijoko, & Susidarti, R. A. (2017). Cytotoxicity of fucoidan from three tropical brown algae against breast and colon cancer cell lines. *Pharmacognosy Journal*, 9(1), 14–20.



- KKP. (2021). *Tingkatkan Pertumbuhan Ekonomi, KKP Komitmen Genjot Produksi Rumput Laut*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. <https://kkp.go.id/djpb/artikel/32618-tingkatkan-pertumbuhan-ekonomi-kkp-komitmen-genjot-produksi-rumput-laut>
- Krasteva, G., Georgiev, V., & Pavlov, A. (2021). Recent applications of plant cell culture technology in cosmetics and foods. *Engineering in Life Sciences*, 21(3–4), 68–76. <https://doi.org/10.1002/elsc.202000078>
- Lafarga, T., Acien-Fernández, F. G., & Garcia-Vaquero, M. (2020). Bioactive peptides and carbohydrates from seaweed for food applications: Natural occurrence, isolation, purification, and identification. *Algal Research*, 48, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101909>
- Le-Trilling, V. T. K., Mennerich, D., Schuler, C., Sakson, R., Lill, J. K., Kasarla, S. S., Kopczynski, D., Lorocho, S., Flores-Martinez, Y., Katschinski, B., Wohlgemuth, K., Gunzer, M., Meyer, F., Phapale, P., Dittmer, U., Sickmann, A., & Trilling, M. (2022). Identification of herbal teas and their compounds eliciting antiviral activity against SARS-CoV-2 in vitro. *BMC Biology*, 20(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01468-z>
- Li, Q., Feng, Z., Zhang, T., Ma, C., & Shi, H. (2020). Microplastics in the commercial seaweed nori. *Journal of Hazardous Materials*, 388, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122060>
- Li, Q., Su, L., Ma, C., Feng, Z., & Shi, H. (2022). Plastic debris in coastal macroalgae. *Environmental Research*, 205, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112464>
- Li, Y., Zheng, Y., Zhang, Y., Yang, Y., Wang, P., Imre, B., Wong, A. C. Y., Hsieh, Y. S. Y., & Wang, D. (2021). Brown algae carbohydrates: Structures, pharmaceutical properties, and research challenges. *Marine Drugs*, 19(11), 1–21. <https://doi.org/10.3390/md19110620>
- Liu, Z., & Sun, X. (2020). A critical review of the abilities, determinants, and possible molecular mechanisms of seaweed polysaccharides antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijms21207774>
- Liu, Zhonghua, Xiong, Y., Yi, L., Dai, R., Wang, Y., Sun, M., Shao, X., Zhang, Z., & Yuan, S. (2018). Endo- β -1,3-glucanase digestion combined with the HPAEC-PAD-MS/MS analysis reveals the structural differences between two laminarins with different bioactivities. *Carbohydrate Polymers*, 194, 339–349. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.044>
- Lytou, A. E., Schoina, E., Liu, Y., Michalek, K., Stanley, M. S., Panagou, E. Z., & Nychas, G.-J. E. (2021). Quality and safety assessment of edible seaweeds *Alaria esculenta* and *Saccharina latissima* cultivated in Scotland. *Foods*, 10(9), 1–18. <https://doi.org/10.3390/foods10092210>
- Madhusoodanan, J. (2021). Innovative tools take aim at antibiotic-resistant microbes. *Nature*, 596(7873), 611–613. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-02292-1>
- Manlusoc, J. K. T., Hsieh, C.-L., Hsieh, C.-Y., Salac, E. S. N., Lee, Y.-T., & Tsai, P.-W. (2019). Pharmacologic application potentials of sulfated polysaccharide from marine algae. *Polymers*, 11(7), 1–21. <https://doi.org/10.3390/polym11071163>
- Mashjoo, S., Yousefzadi, M., Esmaili, M. A., & Rafiee, R. (2016). Cytotoxicity and antimicrobial activity of marine macroalgae (*Dictyotaceae* and *Ulveaceae*) from the Persian Gulf. *Cytotechnology*, 68(5), 1717–1726. <https://doi.org/10.1007/s10616-015-9921-6>
- Matos, G. S., Pereira, S. G., Genisheva, Z. A., Gomes, A. M., Teixeira, J. A., & Rocha, C. M. R. (2021). Advances in extraction methods to recover added-value compounds from seaweeds: Sustainability and functionality. *Foods*, 10(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/foods10030516>
- Menea, F., Wijesinghe, U., Thiripuranathar, G., Althobaiti, N. A., Albalawi, A. E., Khan, B. A., & Menea, B. (2021). Marine

- algae-derived bioactive compounds: A new wave of Nanodrugs?. *Marine Drugs*, 19(9), 1-36. <https://doi.org/10.3390/md19090484>
- Michalak, I., Tiwari, R., Dhawan, M., Alagawany, M., Farag, M. R., Sharun, K., Emran, T. Bin, & Dhama, K. (2022). Antioxidant effects of seaweeds and their active compounds on animal health and production – a review. *Veterinary Quarterly*, 42(1), 48–67. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2061744>
- Moni, S.S., Alam, M.F., Makeen, H.A., Alhazmi, H.A., Sultan, M., Siddiqui, R., Jabeen, A., Sanobar, S., Alam, M.S., Rehman, Z.U., Elmobark, M.E., Madkhali, O., Haque, A., Albratty, M. (2021). Solvent extraction, spectral analysis and antibacterial activity of the bioactive crystals of *Sargassum aquifolium* (Turner) C. Agardh from red sea. *Natural Product Research*, 35, 1379–1383. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1645659>
- Nawaz, H., Shad, M. A., Rehman, N., Andaleeb, H., & Ullah, N. (2020). Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56. 1-9. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129>
- Nazarudin, M. F., Yasin, I. S. M., Mazli, N. A. I. N., Saadi, A. R., Azizee, M. H. S., Nooraini, M. A., Saad, N., Ferdous, U. T., & Fakhruddin, I. M. (2022). Preliminary screening of antioxidant and cytotoxic potential of green seaweed, *Halimeda opuntia* (Linnaeus) Lamouroux. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2698–2705. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.066>
- Nurjanah, Aprilia, B. E., Fransiskayana, A., Rahmawati, M., & Nurhayati, T. (2018). Senyawa bioaktif rumput laut dan ampas teh sebagai antibakteri dalam formula masker wajah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 304-316.
- Olugbami, J. O., Gbadegesin, M. A., & Odunola, O. A. (2014). In vitro evaluation of the antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of the stem bark ethanol extract of *Anogeissus leiocarpus*. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, 43(Suppl 1), 101–109. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26681826>
- Park, M.H., Han, J.S. (2012). Hypoglycemic effect of *Padina arborescens* extract in streptozotocin-induced diabetic mice. *Preventive Nutrition and Food Science*. 17, 239–244. <https://doi.org/10.3746/pnf.2012.17.4.239>
- Puspantari, W., Kusnandar, F., Lioe, H. N., & Laily, N. (2020). Penghambatan fraksi fucoidan rumput laut cokelat (*Sargassum polycystum* dan *Turbinaria conoides*) terhadap α -amilase dan α -glukosidase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 122-136.
- Pelvan, E., Karaoğlu, Ö., Önder Fırat, E., Betül Kalyon, K., Ros, E., & Alasalvar, C. (2022). Immunomodulatory effects of selected medicinal herbs and their essential oils: A comprehensive review. *Journal of Functional Foods*, 94,1-18. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105108>
- Permatasari, A. A. A. P., Rosiana, I. W., Wiradana, P. A., Lestari, M. D., Widiastuti, N. K., Kurniawan, S. B., & Widhiantara, I. G. (2022). Extraction and characterization of sodium alginate from three brown algae collected from Sanur Coastal Waters, Bali as biopolymer agent. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(3), 1655–1663. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230357>
- Prabhu, A., & Gadgil, M. (2021). Trace metals in cellular metabolism and their impact on recombinant protein production. *Process Biochemistry*, 110, 251–262. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.08.006>
- Pratama, D., & Budiharjo, A. (2017). Efektivitas kombinasi ekstrak bahan herbal (Mengkudu, Pepaya, Kunyit) terhadap daya hambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(2), 7–16.
- Rosiana, I. W., Wiradana, P. A., Permatasari, A. A. A. P., Pelupessy, Y. A. E. G., Dame,



- M. V. O., Soegianto, A., Yulianto, B., & Widhiantara, I. G. (2022). Concentrations of heavy metals in three brown seaweed (*Phaeophyta: Phaeophyceae*) collected from tourism area in Sanur Beach, Coast of Denpasar, Bali and public health risk assessment. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 14(2), 327–339. <https://doi.org/10.20473/jipk.v14i2.33103>
- Sari, N. K. Y., Deswiniyanti, N. W., & Wiradana, P. A. (2021). Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical screening of red Kamboja (*Plumeria rubra* L.) extracts. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 9(2), 233–240. <https://doi.org/10.24252/bio.v9i2.25409>
- Sajjadi, S.E., Ghanadian, M., Haghighi, M., Mouhebat, L. (2015). Cytotoxic effect of *Cousinia verbascifolia* Bunge against OVCAR-3 and HT-29 cancer cells. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 4(1), 15-19.
- Sanger, G., Dotulong, V., & Damongilala, L. J. (2022). Isolasi asam lemak dan kadar pigmen rumput cokelat *Sargassum crassifolium* sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(3), 475-493. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i3.43033>
- Sobuj, M. K. A., Islam, M. A., Islam, M. S., Islam, M. M., Mahmud, Y., & Rafiquzzaman, S. M. (2021). Effect of solvents on bioactive compounds and antioxidant activity of *Padina tetrastromatica* and *Gracilaria tenuistipitata* seaweeds collected from Bangladesh. *Scientific Reports*, 11(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98461-3>
- Sofiana, M. S. J., Mardini, D. D., Safitri, I., Warsidah, & Nurdiansyah, S. I. (2024). Kandungan nutrisi dan fitohormon rumput laut cokelat dari Perairan Pulau Lemukutan Kalimantan Barat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(4), 327-336. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i4.46965>
- Suartika, G. A. M. (2015). Sand, sea and ceremony: Conflict over the littoral public realm in Sanur, Bali. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 179, 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.02.416>
- Sudhakar, M. P., Dharani, G., & Paramasivam, A. (2023). Evaluation of antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity potential of R-phycoerythrin extracted from *Gracilaria corticata* seaweed. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 6, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100352>
- Ullmann, J., & Grimm, D. (2021). Algae and their potential for a future bioeconomy, landless food production, and the socio-economic impact of an algae industry. *Organic Agriculture*, 11(2), 261–267. <https://doi.org/10.1007/s13165-020-00337-9>
- Watiniasih, N. L., Budiarsa, I. N., Antara, I. N. G., & Wiradana, P. A. (2022). Propolis extract as a green bacterial corrosion inhibitor on three types of metals. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(9), 4852-4860. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230954>
- Widhiantara, I. G., Permatasari, A. A., Rosiana, I. W., Wiradana, P. A., Widiastuti, L. P., & Jawi, I. M. (2021). Antihypercholesterolemic and antioxidant effects of *Blumea balsamifera* L. leaf extracts to maintain luteinizing hormone secretion in rats induced by high-cholesterol diets. *The Indonesian Biomedical Journal*, 13(4), 396–402. <https://doi.org/10.18585/inabj.v13i4.1694>
- Widiastuti, N. K., Virginia, N. M., Fery Yastawan, I. M., Ayu Putri Permatasari, A. A., Wiradana, P. A., Widhiantara, I. G., & Hari Sucipto, T. (2023). Cytotoxicity evaluation of *Erythrina lithosperma* Miq. leaf extract against vero cell lines: In vitro study. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 16, 153–158. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2023.00028>
- Yap, W.-F., Tay, V., Tan, S.-H., Yow, Y.-Y., & Chew, J. (2019). Decoding antioxidant and antibacterial potentials of Malaysian green seaweeds: *Caulerpa racemosa* and *Caulerpa lentillifera*. *Antibiotics*, 8(3), 1-18. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030152>

- Zainuri, M., Endrawati, H., Winarni, S., Arifan, F., Setyawan, A., & Hapsari, H. P. (2020). Analysis total plate count (TPC) and organoleptic test on seaweed chips. *Journal of Physics: Conference Series*, 1524(1), 012056. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1524/1/012056>
- Zhu, Y., Li, C., Cui, H., & Lin, L. (2020). Feasibility of cold plasma for the control of biofilms in food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.001>