

Aktivitas Antibakteri dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol *Aurantiochytrium* sp. Asal Mangrove Angke Kapuk, Jakarta terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Mega Efrilia^{1*}, Vony Nofrika¹, Andri Hutari²

¹Jurusan Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan IKIFA, Provinsi DKI Jakarta, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Provinsi DKI Jakarta, Indonesia

*Email korespondensi : megaefrilia@ikifa.ac.id

Doi: 10.30867/jifs.v6i1.1060

ABSTRAK

Aurantiochytrium sp. merupakan mikroalga laut yang diketahui menghasilkan berbagai senyawa bioaktif berpotensi sebagai antibakteri alami. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol *Aurantiochytrium* sp. MAK1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta menilai tingkat toksisitas akutnya. Isolat *Aurantiochytrium* sp. MAK1 diperoleh dari ekosistem mangrove Angke Kapuk, Jakarta, kemudian dikultivasi untuk menghasilkan biomassa kering yang diekstraksi menggunakan etanol 96%. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram pada konsentrasi 200, 400, dan 600 µg/cakram. Uji toksisitas akut dilakukan pada mencit jantan galur ddY berdasarkan OECD Guideline 420. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan diameter zona hambat sebesar 6,16–10,66 mm dan *S. aureus* sebesar 11,85–21,11 mm. Aktivitas antibakteri meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak dan menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Uji toksisitas akut menunjukkan tidak adanya kematian maupun gejala toksik hingga dosis 5000 mg/kg BB. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami berbasis mikroalga dengan tingkat keamanan akut yang relatif baik.

Kata kunci: *Aurantiochytrium* sp.; antibakteri alami; mikroalga; toksisitas akut; mangrove.

ABSTRACT

Aurantiochytrium sp. is a marine microalga known to produce various bioactive compounds with potential antibacterial activity. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of ethanol extract of *Aurantiochytrium* sp. MAK1 against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and to assess its acute toxicity level. *Aurantiochytrium* sp. MAK1 was isolated from the Angke Kapuk mangrove ecosystem, Jakarta, and cultivated to produce dry biomass which was extracted using 96% ethanol. Antibacterial activity was evaluated using the disc diffusion method at concentrations of 200, 400, and 600 µg/disc. Acute toxicity testing was conducted on male ddY mice according to OECD Guideline 420. The results showed that the extract inhibited *E. coli* with inhibition zone diameters ranging from 6.16–10.66 mm and *S. aureus* from 11.85–21.11 mm. Antibacterial activity increased in a concentration-dependent manner and showed significant differences among treatment groups ($p < 0.05$). Acute toxicity testing revealed no mortality or toxic symptoms up to a dose of 5000 mg/kg body weight. These findings indicate that *Aurantiochytrium* sp. MAK1 extract has potential as a microalgae-based natural antibacterial source with relatively low acute toxicity.

Keywords : *Aurantiochytrium* sp.; antibacterial activity; microalgae; acute toxicity; mangrove.

PENDAHULUAN

Mikroalga *Aurantiochytrium* merupakan kelompok mikroorganisme laut yang dikenal memiliki kemampuan tinggi dalam menghasilkan senyawa bioaktif, khususnya asam lemak tak jenuh rantai panjang seperti omega-3. Senyawa ini berperan penting dalam nutrisi manusia dan hewan karena kontribusinya terhadap berbagai fungsi biologis, termasuk pemeliharaan kesehatan kardiovaskular, perkembangan sistem saraf, serta penguatan sistem imun (Suhendra dkk., 2022).

Selama ini, sumber utama omega-3 umumnya berasal dari ikan. Namun, meningkatnya tingkat pencemaran perairan laut yang menyebabkan akumulasi mikroplastik dan logam berat pada biota

perairan mendorong perlunya pencarian sumber alternatif yang lebih aman dan berkelanjutan. Dalam konteks tersebut, mikroalga *Aurantiochytrium* menjadi salah satu kandidat yang menjanjikan karena dapat diisolasi dari berbagai habitat, termasuk ekosistem mangrove dan perairan pesisir (Gao dkk., 2013).

Selain menghasilkan asam lemak omega-3 seperti asam dokosaheksaenoat (DHA) dan asam eikosapentaenoat (EPA), *Aurantiochytrium* juga dikenal sebagai mikroalga dengan kandungan lipid yang tinggi. Sebagian besar fraksi lipid tersebut tersusun atas DHA, yang berperan penting dalam mendukung perkembangan otak, menjaga fungsi sistem kardiovaskular, serta meningkatkan daya tahan tubuh (Humaidah dkk., 2025). Di samping itu, mikroalga ini dilaporkan mampu memproduksi squalene, suatu senyawa terpenoid yang memiliki nilai fungsional tinggi dalam bidang kesehatan dan farmasi (Kaya dkk., 2011).

Sejumlah penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa analisis kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) berhasil mengonfirmasi keberadaan squalene pada biomassa hasil kultivasi *Aurantiochytrium*. Squalene yang dihasilkan melalui proses fermentasi mikroalga tersebut telah banyak dikaji sebagai sumber bahan baku alternatif yang ramah lingkungan dan berkelanjutan (Suhendra dkk., 2022). Senyawa squalene diketahui memiliki beragam aktivitas biologis yang relevan dalam bidang kesehatan dan farmasi, termasuk sebagai antioksidan (Kohnno dkk., 1995) serta agen pendukung dalam berbagai aplikasi terapeutik. Oleh karena itu, keberadaan squalene dalam biomassa *Aurantiochytrium* menjadi salah satu keunggulan potensial mikroalga ini sebagai sumber bahan bioaktif yang multi-khasiat (Gunes, 2013; Amarowicz, 2009; Chen dkk., 2020; Huang dkk., 2009; Aioi dkk., 1995; Budiyanto dkk., 2000; Kopicová dan Vavreinová, 2007; Del Giudice dkk., 2006; Di Pasquale dkk., 2015; Ivanova dkk., 2015).

Studi sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak biomassa *Aurantiochytrium* asal mangrove yang dikeringbekukan dan diekstraksi menggunakan kloroform mampu menghasilkan zona hambat sebesar $9,53 \pm 1,52$ mm terhadap *Escherichia coli* dan $7,00 \pm 1,73$ mm terhadap *Staphylococcus aureus* (Kaliyamoorthy dkk., 2023). Selain itu, pengujian toksisitas oral akut pada tikus betina galur Sprague Dawley dengan dosis 276 dan 2000 mg/kg BB menunjukkan tidak adanya kematian maupun tanda-tanda toksisitas, yang mengindikasikan tingkat keamanan awal yang baik (Dillon dkk., 2020).

Uji toksisitas akut merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan bahan bioaktif, yang bertujuan untuk memperkirakan nilai *lethal dose* 50 (LD_{50}) serta mengevaluasi efek toksik suatu senyawa setelah pemberian dosis tunggal dalam periode waktu tertentu. Sebagai bagian dari uji praklinik, pengujian ini memberikan gambaran awal mengenai batas keamanan penggunaan suatu bahan sebelum dilakukan pengujian lanjutan (Jumain dkk., 2018).

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan potensi *Aurantiochytrium* sp. sebagai penghasil lipid bernilai tinggi dan sumber docosahexaenoic acid (DHA), kajian yang secara spesifik mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol isolat lokal Indonesia, khususnya yang berasal dari ekosistem mangrove Angke Kapuk, masih relatif terbatas. Selain itu, informasi mengenai keamanan biologis ekstrak *Aurantiochytrium* melalui pendekatan uji toksisitas akut juga belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol *Aurantiochytrium* sp. isolat MAK1 terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, serta menilai tingkat toksisitas akutnya.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Mikroorganisme

Penelitian dilakukan pada Mei–September 2025. Sampel daun mangrove dikoleksi dari kawasan Taman Wisata Alam Mangrove Angke Kapuk, Jakarta Utara, Indonesia. Isolasi dan kultivasi *Aurantiochytrium* sp. dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA (UHAMKA), sedangkan pengujian

antibakteri dan toksisitas dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Farmakologi STIKES IKIFA, Jakarta.

Bahan utama yang digunakan meliputi isolat *Aurantiochytrium* sp. MAK1, bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 8739, etanol 96%, Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), dimethyl sulfoxide (DMSO), dan kloramfenikol 30 µg/cakram sebagai kontrol positif. Hewan uji berupa mencit jantan galur ddY berumur 8–10 minggu dengan bobot badan 20–30 g.

Isolasi dan Kultivasi Mikroalga

Sampel berupa daun mangrove gugur berwarna kuning kecokelatan dikoleksi dari kawasan mangrove Angke Kapuk dan disimpan pada suhu rendah selama transportasi menuju laboratorium. Isolasi mikroalga dilakukan menggunakan metode *direct plating* mengacu pada (Hutari dkk., 2022) dan (Suhendra, dkk., 2022) pada medium agar yang mengandung glukosa, yeast extract, pepton, dan agar. Kultur diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi gelap selama 1–2 hari hingga terbentuk koloni.

Koloni yang memiliki karakteristik morfologi menyerupai *Aurantiochytrium* sp. dipurifikasi menggunakan metode streak plate berulang hingga diperoleh isolat tunggal. Identifikasi awal isolat dilakukan berdasarkan karakter morfologi makroskopik dan mikroskopik yang konsisten dengan genus *Aurantiochytrium*, meliputi bentuk dan warna koloni, morfologi sel, serta pola pertumbuhan pada media kultur mengacu pada Honda et al. (1998), Jaritkhuan dan Suanjit (2018), serta Sirirak et al. (2020). Karakter isolat yang diperoleh juga menunjukkan kemiripan dengan isolat *Aurantiochytrium* yang sebelumnya telah teridentifikasi secara molekuler menggunakan analisis 18S rRNA pada penelitian terdahulu (An Nisaa dkk., 2025). Oleh karena itu, isolat pada penelitian ini ditetapkan sebagai *Aurantiochytrium* sp. MAK1 dan tidak diklaim hingga tingkat spesies.

Isolat terpilih (MAK1) kemudian dikultivasi melalui tahapan *standing culture*, *pre-culture*, dan *main culture* menggunakan medium cair dengan agitasi 200–210 rpm selama 120 jam mengacu pada metode Suhendra et al. (2022) dan Chandrasekaran et al. (2018). Biomassa dipanen menggunakan sentrifugasi pada $10.000 \times g$ selama 5 menit, dicuci menggunakan akuades steril, kemudian dikeringkan menggunakan freeze dryer hingga diperoleh biomassa kering sesuai metode Kaliyamoorthy et al. (2023).

Ekstraksi Biomassa

Sebanyak 1 g biomassa kering *Aurantiochytrium* sp. MAK1 diekstraksi menggunakan 5 mL etanol 96% mengacu pada metode Kaliyamoorthy et al. (2023). Campuran kemudian disentrifugasi pada $8.000 \times g$ selama 12 menit dan supernatan dipisahkan. Pelarut diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental yang selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri dan toksisitas akut.

Penetapan Kandungan Flavonoid

Analisis flavonoid total dilakukan di Laboratorium Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Pascapanen Pertanian menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida (AlCl₃) dengan kuersetin sebagai standar mengacu pada Chang et al. (2002). Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm dan hasil dinyatakan sebagai mg quercetin equivalent (QE)/100 g biomassa.

Uji Aktivitas Antibakteri

Seluruh alat dan media disterilkan sebelum digunakan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kultur bakteri diremajakan pada medium Nutrient Agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi suspensi bakteri distandarisasi menggunakan

spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm hingga mencapai transmittan 25% T yang ekuivalen dengan $\pm 10^8$ CFU/mL sesuai metode Krisyanella et al. (2016).

Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. Ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 diuji pada konsentrasi 200, 400, dan 600 μg /cakram. Kloramfenikol 30 μg /cakram digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif.

Sebanyak 20 μL ekstrak diteteskan pada cakram steril, kemudian diletakkan di atas medium NA yang telah diinokulasi bakteri uji. Seluruh perlakuan dilakukan dalam tiga ulangan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital mengacu pada metode Amaliah (2022), Alam (2017), dan Kaliyamoorthy et al. (2023).

Perhitungan Jumlah Hewan Uji

Jumlah hewan uji ditentukan menggunakan rumus Federer dengan tujuh kelompok perlakuan. Berdasarkan perhitungan tersebut, setiap kelompok terdiri atas empat ekor mencit sehingga total hewan uji yang digunakan sebanyak 28 ekor (Riyanto & Hatmawan, 2020).

Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut dilakukan mengacu pada OECD Guideline 420 (OECD, 2002). Mencit jantan galur ddY diadaptasikan selama 14 hari sebelum perlakuan dan dibagi secara acak menjadi tujuh kelompok, terdiri atas satu kelompok kontrol dan enam kelompok perlakuan.

Kelompok perlakuan diberikan ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 secara oral dengan dosis bertingkat, yaitu 2.500; 3.000; 3.500; 4.000; 4.500; dan 5.000 mg/kg BB, sedangkan kelompok kontrol diberikan akuades. Hewan uji dipuasakan selama 24 jam sebelum perlakuan. Pengamatan dilakukan secara intensif selama 24 jam pertama dan dilanjutkan hingga 14 hari untuk mencatat gejala toksik, perubahan perilaku, aktivitas motorik, dan mortalitas (Sasmito et al., 2017).

Analisis Statistik

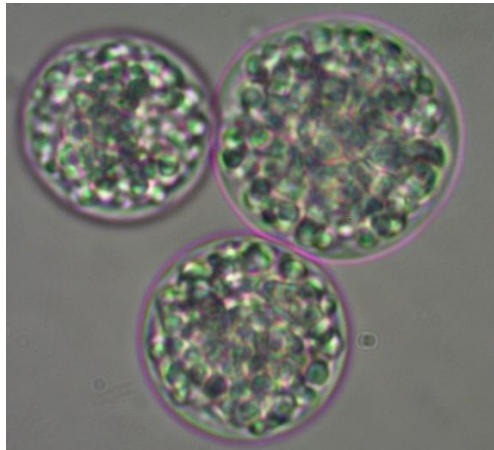
Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji One-Way Analysis of Variance (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Data disajikan dalam bentuk rerata \pm standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Isolat *Aurantiochytrium* sp. MAK1

Mikroalga *Aurantiochytrium* sp. berhasil diisolasi dari daun bakau di kawasan Mangrove Taman Wisata Alam Angke Kapuk menggunakan metode *direct plating* dengan modifikasi komposisi nutrisi pada medium pertumbuhan. Proses isolasi tersebut menghasilkan koloni dengan karakteristik

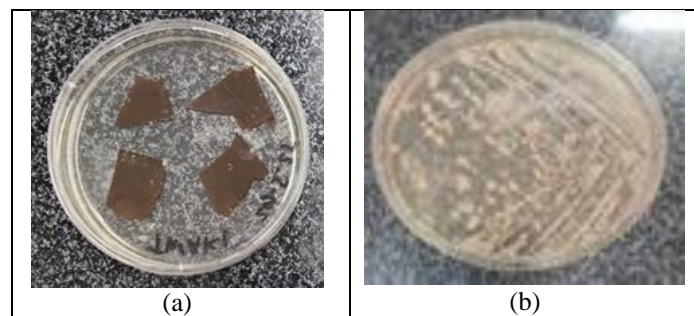
morfologi yang konsisten dengan ciri-ciri genus *Aurantiochytrium* sp. (Gambar 1). Isolat mikroalga yang diperoleh selanjutnya diberi kode *Aurantiochytrium* sp. MAK1.



Gambar 1. Mikrograf mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 (perbesaran 1000x, tanpa skala)

Pengamatan koloni mikroalga (Gambar 2) memperlihatkan bahwa sel mikroalga memiliki bentuk bulat dengan dominasi warna kuning, sesuai dengan ciri morfologi yang telah dilaporkan sebelumnya (Jaritkhuan dan Suanjit, 2018). Koloni yang terpilih menunjukkan bentuk bulat pipih, sedikit cembung, berwarna putih hingga krem, dengan diameter berkisar 2–4 mm. Karakteristik ini sejalan dengan deskripsi morfologi *Aurantiochytrium* sp. yang dilaporkan oleh (Sirirak dkk., 2020; Honda dkk., 1998; Hutari dkk., 2022)

Meskipun pendekatan morfologi cukup kuat untuk identifikasi awal, konfirmasi melalui analisis molekuler menggunakan analisis sekuensing 18S rRNA tetap diperlukan untuk memastikan kedudukan taksonomi isolat hingga tingkat spesies atau strain, terutama untuk mendukung pengembangan sumber daya hayati lokal Indonesia (Hutari dkk., 2022; Suhendra dkk., 2022).



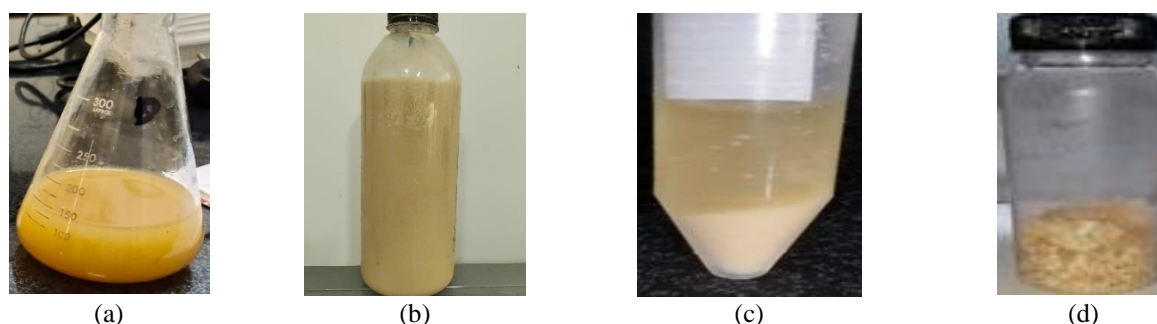
Gambar 2. Makroskopik pertumbuhan koloni. (a) *direct plating* serasah daun mangrove pada medium agar (b) Koloni *Aurantiochytrium* sp. MAK1 tumbuh di atas medium agar setelah tahapan *pure streaking*

Produksi dan Karakteristik Biomassa *Aurantiochytrium* sp. MAK1

Isolat *Aurantiochytrium* sp. MAK1 dikultivasi secara bertahap melalui fase *standing culture*, *pre-culture*, dan *main culture* untuk memperoleh biomassa dalam jumlah memadai (Gambar 3). Setelah 120 jam kultivasi, biomassa yang dihasilkan menunjukkan warna kuning cerah dengan aroma khas menyerupai minyak ikan. Karakteristik visual dan aroma ini mengindikasikan adanya akumulasi asam lemak tak jenuh rantai panjang, khususnya omega-3, yang merupakan metabolit utama mikroalga *Aurantiochytrium* sp.

Sebagai mikroalga oleaginous, *Aurantiochytrium* memiliki kemampuan akumulasi lipid yang tinggi, bahkan dapat mencapai lebih dari 50% bobot kering biomassa (Chandrasekaran dkk., 2018). Selain asam lemak, mikroalga ini juga dilaporkan mampu menghasilkan senyawa terpenoid seperti

squalene, yang memiliki peran penting dalam bidang farmasi dan kosmetik (Du dkk., 2021). Tahapan pemanenan biomassa melalui sentrifugasi dan pengeringan beku (*freeze-drying*) dilakukan untuk mempertahankan stabilitas senyawa bioaktif serta meminimalkan degradasi termal, sehingga biomassa yang dihasilkan layak digunakan untuk pengujian lanjutan.



Gambar 3. Karakteristik biomassa *Aurantiochytrium* sp. (a) Hasil kultivasi skala Erlenmeyer selama 3-4 hari, (b) Panen kultivasi disimpan di dalam botol, (c) Endapan biomassa basah hasil sentrifugasi yang akan dikering-bekukan, (d) Biomassa kering *Aurantiochytrium* sp. MAK1 hasil kering beku.

Kandungan Flavonoid Total

Tabel 1. Hasil uji Flavonoid Mikroalga *Aurantiochytrium*

No	Nama sampel	Jenis analisis	Metode	Hasil	Satuan
1	Mikroalga <i>Aurantiochytrium</i>	Total Flavonoid	Spektrofotometri	25,95	mg/100g QE

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan di Laboratorium Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Pascapanen Pertanian, biomassa mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 mengandung flavonoid total sebesar 25,95 mg/100 g QE (*Quercetin Equivalent*) yang ditampilkan pada Tabel 1. Nilai tunggal ini merupakan hasil ketetapan analisis standar dari instansi penguji yang mengindikasikan bahwa setiap 100 gram ekstrak biomassa memiliki kandungan flavonoid yang setara dengan 25,95 mg kuersetin. Penetapan kadar flavonoid dilakukan menggunakan metode kompleksasi aluminium klorida ($AlCl_3$), yang merupakan metode spektrofotometri umum untuk analisis flavonoid total. Metode ini didasarkan pada kemampuan ion Al^{3+} membentuk kompleks stabil dengan gugus hidroksil dan gugus keto pada struktur flavonoid, khususnya pada flavon dan flavonol, sehingga menghasilkan pergeseran serapan ke daerah panjang gelombang tampak (Chang dkk., 2002).

Kuersetin digunakan sebagai standar karena merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus hidroksil dan keto yang optimal untuk membentuk kompleks dengan $AlCl_3$, serta sering digunakan sebagai pembanding dalam analisis flavonoid total (Lindawati & Ma'ruf, 2020; Winahyu dkk., 2019). Kandungan flavonoid yang terdeteksi menunjukkan bahwa *Aurantiochytrium* sp. MAK1 berpotensi sebagai sumber senyawa fenolik dengan aktivitas biologis.

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang dilaporkan memiliki aktivitas biologis luas, termasuk sebagai antibakteri melalui mekanisme gangguan integritas membran dan inhibisi sistem enzim bakteri (Parubak, 2013). Secara mekanistik, flavonoid dapat berinteraksi dengan membran sel bakteri, menghambat aktivitas enzim intraseluler, serta mengganggu sintesis asam nukleat. Oleh karena itu, keberadaan flavonoid dalam biomassa *Aurantiochytrium* sp. MAK1 diduga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri yang diamati pada pengujian selanjutnya. Selain flavonoid, senyawa bioaktif lain seperti asam lemak tak jenuh dan squalene berpotensi memberikan efek sinergis dalam penghambatan pertumbuhan bakteri.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 terhadap *Escherichia coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, yang ditandai dengan terbentuknya zona

bening di sekitar kertas cakram (Gambar 4g). Diameter zona hambat meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi ekstrak, dari kategori sedang pada konsentrasi 200 dan 400 μg hingga kategori kuat pada konsentrasi 600 μg (Tabel 2). Kontrol positif kloramfenikol menunjukkan aktivitas sangat kuat, sedangkan kontrol negatif DMSO tidak menimbulkan zona hambat.

Peningkatan diameter zona hambat yang bersifat dosis-tergantung mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif dalam ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 berkontribusi langsung terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*. Namun demikian, efektivitas ekstrak terhadap bakteri ini masih lebih rendah dibandingkan kloramfenikol sebagai antibiotik standar. Hal tersebut dapat dijelaskan oleh karakteristik bakteri Gram-negatif yang memiliki struktur dinding sel lebih kompleks, terutama keberadaan membran luar yang kaya lipopolisakarida, sehingga membatasi penetrasi senyawa antibakteri alami ke dalam sel bakteri.

Senyawa flavonoid yang terdeteksi dalam biomassa *Aurantiochytrium* sp. MAK1 diduga berperan dalam aktivitas antibakteri melalui mekanisme gangguan integritas membran sel dan penghambatan sistem enzim intraseluler. Namun, pada bakteri Gram-negatif seperti *E. coli*, mekanisme pertahanan sel yang lebih kompleks menyebabkan efektivitas senyawa tersebut menjadi relatif lebih rendah. Temuan ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa bakteri Gram-negatif umumnya menunjukkan tingkat resistensi lebih tinggi terhadap senyawa antibakteri berbasis bahan alam (Kaliyamoorthy dkk., 2023).

Pada penelitian ini, penggunaan pelarut DMSO 10% diaplikasikan karena ekstrak biomassa *Aurantiochytrium* sp. memiliki karakteristik akumulasi lipid yang sangat tinggi, yang dapat mencapai lebih dari 50% bobot kering biomassa. Selain itu, ekstrak ini didominasi oleh senyawa non-polar seperti asam lemak tak jenuh rantai panjang (DHA) dan senyawa terpenoid seperti *squalene*. Tingginya kandungan senyawa non-polar tersebut menyebabkan ekstrak sulit terlarut sempurna pada konsentrasi pelarut yang lebih rendah. Meskipun menggunakan DMSO 10%, hasil uji menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak membentuk zona hambat (0 mm) pada *E. coli* maupun *S. aureus*. Hal ini mengonfirmasi bahwa DMSO 10% pada volume yang digunakan murni bertindak sebagai pelarut dan tidak memberikan efek toksik secara mandiri terhadap bakteri uji, sehingga zona hambat yang terbentuk murni merupakan aktivitas dari senyawa bioaktif ekstrak (Humaidah dkk., 2025).

Tabel 2. Data uji antibakteri mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 terhadap bakteri *Escherichia coli*

Kelompok Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	Standar Deviasi	Keterangan
	Cawan petri (CP) 1	Cawan petri (CP) 2	Cawan petri (CP) 3			
Kontrol (-) (DMSO 10%)	0	0	0	0 ^a	0	Tidak Ada
200 μg /cakram	6,5	7,5	4,5	6,16 ^b	1,52	Sedang
400 μg /cakram	7,5	8,75	8,84	8,36 ^{bc}	0,74	Sedang
600 μg /cakram	9,5	10,75	11,75	10,66 ^c	1,12	Kuat
Kontrol (+) (kloramfenikol 30 μg /cakram)	34,43	32,31	32,84	33,19 ^d	1,10	Sangat Kuat

Keterangan: Huruf superskrip (a,b,c,d) pada kolom rata-rata menunjukkan hasil uji lanjut Tukey HSD. Kelompok perlakuan yang memiliki huruf yang sama berarti efektivitasnya sebanding atau tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Kelompok perlakuan dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan efektivitas yang signifikan ($p < 0,05$).

Analisis statistik menggunakan uji One-Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi $p = 0,000$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang bermakna antar kelompok perlakuan. Berdasarkan uji lanjut Tukey HSD, peningkatan konsentrasi ekstrak dari

200 µg menjadi 600 µg memberikan peningkatan zona hambat yang signifikan. Meskipun tidak terdapat perbedaan statistik yang nyata antara konsentrasi 200 µg dengan 400 µg, maupun antara 400 µg dengan 600 µg, penggunaan ekstrak pada konsentrasi tertinggi (600 µg) menunjukkan daya hambat yang paling optimal dan berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 terhadap *Staphylococcus aureus*

Berbeda dengan hasil pada *E. coli*, ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat terhadap *Staphylococcus aureus* (Gambar 4h). Diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 200 dan 400 µg telah masuk dalam kategori kuat, sedangkan pada konsentrasi 600 µg meningkat menjadi kategori sangat kuat (Tabel 3). Pola ini menunjukkan bahwa *S. aureus* lebih sensitif terhadap ekstrak mikroalga dibandingkan *E. coli*.

Tabel 3. Data uji antibakteri mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelompok Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				Standar Deviasi	Keterangan
	Cawan petri (CP) 1	Cawan petri (CP) 2	Cawan petri (CP) 3	Rata-rata		
Kontrol (-) (DMSO 10%)	0	0	0	0 ^a	0	Tidak Ada
200 µg/cakram	12	11,05	12,5	11,85 ^b	0,73	Kuat
400 µg/cakram	16,75	18,8	11,95	15,83 ^b	3,51	Kuat
600 µg/cakram	21,25	21,86	20,24	21,11 ^c	0,81	Sangat Kuat
Kontrol (+) (kloramfenikol 30 µg/cakram)	32,1	32,96	33,62	33,12 ^d	0,76	Sangat Kuat

Keterangan: Huruf superskrip (a,b,c,d) pada kolom rata-rata menunjukkan hasil uji lanjut Tukey HSD. Kelompok perlakuan yang memiliki huruf yang sama berarti efektivitasnya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Kelompok perlakuan dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan efektivitas yang signifikan ($p < 0,05$).

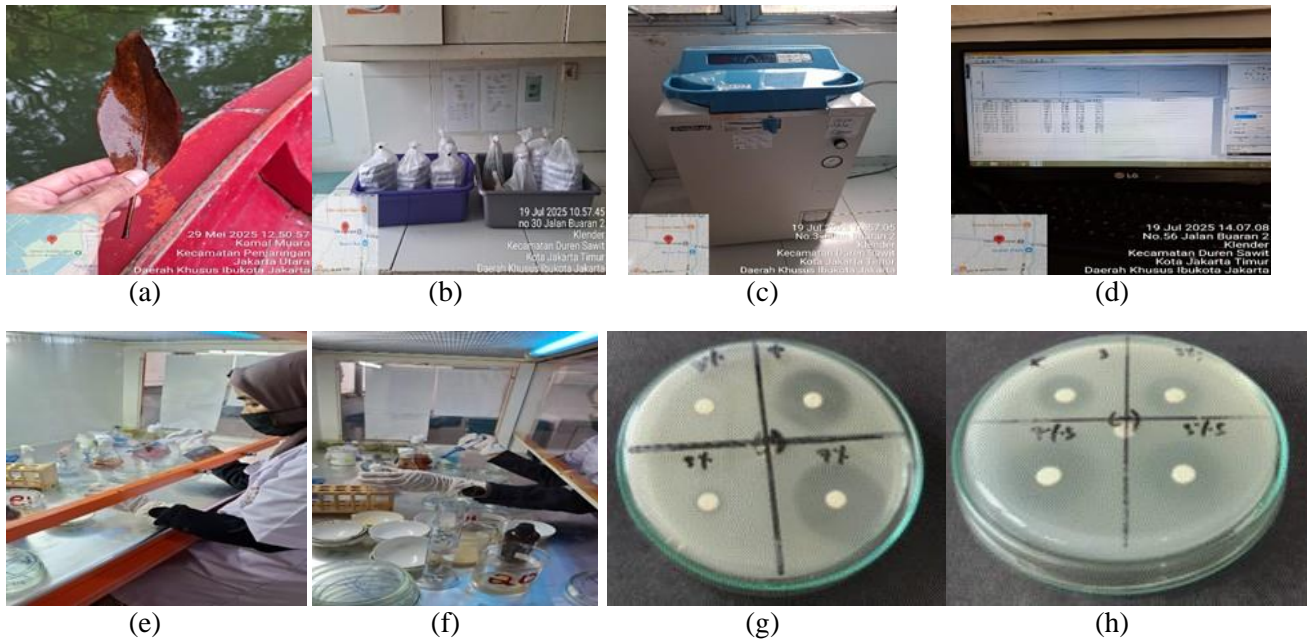
Respons antibakteri yang lebih tinggi pada *S. aureus* dapat dikaitkan dengan karakteristik bakteri Gram-positif yang memiliki struktur dinding sel lebih sederhana dan tidak memiliki membran luar seperti pada bakteri Gram-negatif. Lapisan peptidoglikan yang tebal namun lebih terbuka memungkinkan senyawa antibakteri, seperti flavonoid dan asam lemak tak jenuh, berinteraksi secara langsung dengan membran sitoplasma dan komponen intraseluler bakteri.

Flavonoid diketahui mampu mengganggu permeabilitas membran sel, menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, serta menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam metabolisme bakteri (Parubak, 2013). Selain itu, asam lemak tak jenuh yang dihasilkan oleh *Aurantiochytrium* sp. juga dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme kerusakan membran lipid bakteri. Kombinasi senyawa-senyawa tersebut diduga menghasilkan efek sinergis yang meningkatkan efektivitas penghambatan pertumbuhan *S. aureus*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Kaliyamoorthy dkk. (2023) yang melaporkan bahwa ekstrak biomassa *Aurantiochytrium* sp. menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih signifikan terhadap bakteri Gram-positif dibandingkan Gram-negatif. Dengan demikian, ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 memiliki potensi yang lebih besar untuk dikembangkan sebagai antibakteri alami terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-positif, khususnya *S. aureus*.

Hasil analisis statistik menggunakan uji One-Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi $p = 0,000$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang signifikan antar

kelompok perlakuan terhadap *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan uji lanjut Tukey HSD, penggunaan ekstrak pada konsentrasi 200 µg dan 400 µg tidak memberikan perbedaan daya hambat yang signifikan secara statistik ($p = 0,091$, $p > 0,05$). Namun, peningkatan konsentrasi ekstrak menjadi 600 µg mampu memberikan peningkatan zona hambat yang berbeda nyata secara statistik ($p < 0,05$) dibandingkan kedua konsentrasi yang lebih rendah tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak pada konsentrasi 600 µg memiliki efektivitas paling optimal dalam menghambat *Staphylococcus aureus*.



Gambar 4. Proses uji Antibakteri mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 (a) Pengambilan sampel dari daun *Rhizophora mucronata* di lantai hutan mangrove Taman Wisata Alam Angke Kapuk habitat *Aurantiochytrium* sp. (b) Alat dan bahan yang akan disterilkan, (c) Proses sterilisasi alat dan bahan, (d) Pembuatan suspensi bakteri 25% T, (e) Proses Uji antibakteri, (f) Uji antibakteri, (g) Hasil uji aktivitas antibakteri isolat MAK1 terhadap bakteri *Escherichia coli*, (h) Hasil uji aktivitas antibakteri isolat MAK1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji Toksisitas Akut Mikroalga *Aurantiochytrium* Pada Mencit Jantan

Pengujian toksisitas akut ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 dilakukan menggunakan pendekatan Thompson–Weil untuk mengevaluasi tingkat keamanan awal setelah pemberian dosis tunggal secara oral (Ridwan, 2016). Selama periode observasi 24 jam, seluruh mencit jantan pada kelompok perlakuan menunjukkan kondisi fisiologis yang stabil tanpa adanya kematian maupun gejala toksik yang nyata, seperti kejang, penurunan aktivitas motorik, atau gangguan koordinasi gerak. Kondisi hewan uji sebelum dan setelah perlakuan ditampilkan pada Gambar 5, yang menunjukkan tidak adanya perubahan perilaku ekstrem.

Pemberian ekstrak hingga dosis tertinggi, yaitu 5.000 mg/kg BB, tidak menyebabkan variasi mortalitas pada seluruh kelompok uji (Tabel 4). Kondisi ini menyebabkan nilai *lethal dose* 50 (LD_{50}) tidak dapat dihitung secara kuantitatif menggunakan metode Thompson–Weil. Menurut Mustapa (2019), ketiadaan kematian pada seluruh kelompok dosis menunjukkan bahwa nilai LD_{50} bahan uji berada di atas dosis tertinggi yang diberikan, sehingga bahan tersebut memiliki tingkat toksisitas akut yang sangat rendah.

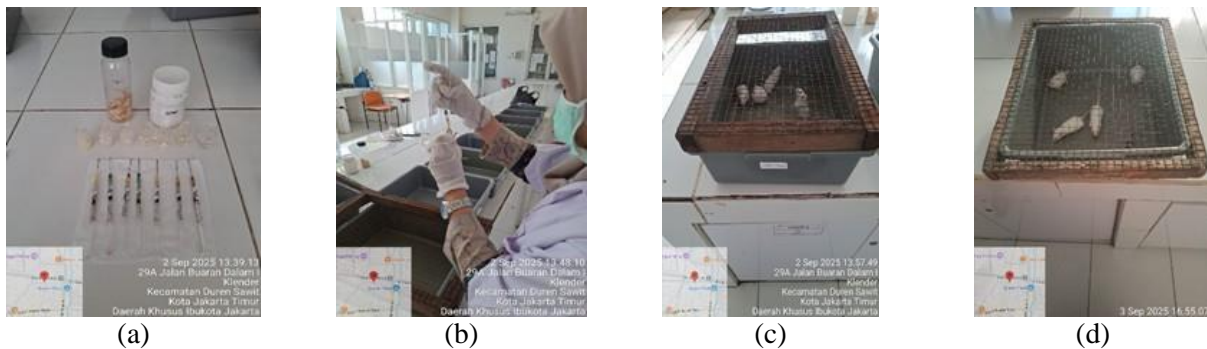
Berdasarkan pedoman toksisitas akut yang ditetapkan oleh (OECD, 2002), bahan dengan nilai LD_{50} lebih besar dari 5.000 mg/kg BB diklasifikasikan ke dalam kategori *practically non-toxic*. Klasifikasi ini menunjukkan bahwa bahan uji relatif aman pada paparan akut dan memiliki risiko toksik yang minimal. Kriteria tersebut juga diperkuat oleh klasifikasi toksisitas yang dikemukakan oleh

Esaiyas dkk. (2016), yang menyatakan bahwa senyawa dengan LD₅₀ di atas 5.000 mg/kg BB dapat dianggap aman untuk penggunaan awal pada penelitian praklinik.

Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa biomassa *Aurantiochytrium* tidak menunjukkan efek toksik signifikan pada uji toksikologi akut (Dillon dkk., 2020). Selain itu, pemanfaatan *Aurantiochytrium* sebagai sumber omega-3 dalam produk pangan dan suplemen di berbagai negara juga mendukung profil keamanannya sebagai bahan alami (Veramaris, 2020). Meskipun demikian, uji toksisitas akut hanya memberikan gambaran keamanan jangka pendek. Oleh karena itu, pengujian lanjutan berupa uji toksisitas subkronik dan kronik tetap diperlukan untuk memastikan keamanan penggunaan jangka panjang, terutama jika ekstrak ini dikembangkan sebagai kandidat antibakteri berbasis mikroalga.

Tabel 4. Kelompok Perlakuan Variasi Dosis Uji Toksisitas Pada Mencit

No	Kelompok (K)	Dosis (mg/kg BB)	Mencit Hidup	Rasio Kematian
1	K Kontrol	0	4	0
2	K1	2500	4	0
3	K2	3000	4	0
4	K3	3500	4	0
5	K4	4000	4	0
6	K5	4500	4	0
7	K6	5000	4	0



Gambar 5. Proses Uji Toksisitas mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 (a) Persiapan pemberian dengan dosis 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 dan 5000 mg/kg BB, (b) Proses pencekukan pada mencit jantan, (c) Kondisi mencit sebelum perlakuan, (d) Kondisi mencit setelah perlakuan 24 jam.

KESIMPULAN

Mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 berhasil diisolasi dari daun bakau di kawasan Mangrove Taman Wisata Alam Angke Kapuk dan menunjukkan karakteristik morfologi yang konsisten dengan genus *Aurantiochytrium*. Biomassa yang dihasilkan mengandung flavonoid total sebesar 25,95 mg/100 g QE dan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, dengan efektivitas yang lebih tinggi terhadap bakteri Gram-positif. Aktivitas antibakteri tersebut diduga berkaitan dengan keberadaan senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan asam lemak tak jenuh, yang bekerja secara sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil uji toksisitas akut menunjukkan bahwa ekstrak *Aurantiochytrium* sp. MAK1 memiliki tingkat toksisitas yang sangat rendah dan relatif aman pada paparan akut. Dengan demikian, mikroalga *Aurantiochytrium* sp. MAK1 berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai sumber antibakteri alami berbasis mikroalga. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengonfirmasi keamanan jangka panjang serta mengidentifikasi senyawa aktif spesifik yang berperan dominan dalam aktivitas biologisnya.

PERNYATAAN BEBAS KONFLIK KEPENTINGAN

Peneliti dalam riset ini tidak terdapat konflik kepentingan sehingga hasil dari penelitian tidak terdapat bias.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada STIKES IKIFA atas dukungan fasilitas dan kesempatan yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aioi, A., Shimizu, T., & Kuriyama, K. (1995). Effect of Squalene on Superoxide Anion Generation Induced by a Skin Irritant, Lauroylsarcosine. *International Journal of Pharmaceutics*, *113*(2), 159–164. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(94\)00190-G](https://doi.org/10.1016/0378-5173(94)00190-G)
- Amarowicz, R. (2009). Squalene: A Natural Antioxidant? *European Journal of Lipid Science and Technology*, *111*(5), 411–412. <https://doi.org/10.1002/EJLT.200900102>
- Amiliah, A., Nurhamidah, N., & Handayani, D. (2021). Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *ALOTROP*, *5*(1), 92–105. <https://doi.org/10.33369/ATP.V5I1.16493>
- An Nisaa, R., Hutari, A., Awaliah, W., Permatasari, R., & Ar Rasyid, M. L. (2025). Identification of Thraustochytrids from Mangrove Forest of Tidung Island, Kepulauan Seribu, Jakarta. *Jurnal Biologi Tropis*, *25*(4b), 275–282. <https://doi.org/10.29303/jbt.v25i4b.10133>
- Athailah, A. (Athailah), & Sugesti, S. (Sugesti). (2020). Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus Epidermis* Menggunakan Ekstrak Etanol Dari *Simplisia Kering Bawang Putih (Allium Sativum L.)*. *Jurnal Education and Development*, *8*(2), 561717. <https://www.neliti.com/publications/561717/>
- Azizah, M., Septy Lingga, L., & Rikmasari. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium Graviolens L.*) dan Madu Hutan Terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Penyakit Kulit. *Jurnal Penelitian Sains*, *22*(1), 37–44. <https://doi.org/10.56064/jps.v22i1.547>
- Budiyanto, A., Ahmed, N. U., Wu, A., Bito, T., Nikaido, O., Osawa, T., Ueda, M., & Ichihashi, M. (2000). Protective Effect of Topically Applied Olive Oil Against Photocarcinogenesis Following UVB Exposure of Mice. *Carcinogenesis*, *21*(11), 2085–2090. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/21.11.2085>
- Chandrasekaran, K., Roy, R. K., & Chadha, A. (2018). Docosahexaenoic Acid Production by a Novel High Yielding Strain of *Thraustochytrium Sp.* of Indian Origin: Isolation and Bioprocess Optimization Studies. *Algal Research*, *32*, 93–100. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2018.03.011>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colometric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 3. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>

- Chen, Y., Gu, Y., Zhao, H., Zhang, H., & Zhou, Y. (2020). Effects of Graded Levels of Dietary Squalene Supplementation on the Growth Performance, Plasma Biochemical Parameters, Antioxidant Capacity, and Meat Quality in Broiler Chickens. *Poultry Science*, 99(11), 5915–5924. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.042>
- Del Giudice, G., Fragapane, E., Bugarini, R., Hora, M., Henriksson, T., Palla, E., O'Hagan, D., Donnelly, J., Rappuoli, R., & Podda, A. (2006). Vaccines With the MF59 Adjuvant Do Not Stimulate Antibody Responses Against Squalene. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 13(9), 1010–1013. <https://doi.org/10.1128/CVI.00191-06>
- Di Pasquale, A., Preiss, S., Da Silva, F. T., & Garçon, N. (2015). Vaccine Adjuvants: From 1920 to 2015 and Beyond. *Vaccines*, 3(2), 320–343. <https://doi.org/10.3390/VACCINES3020320>
- Dillon, G. P., Keegan, J. D., & Moran, C. A. (2020). Toxicological Evaluation of an Unextracted Aurantiochytrium Limacinum Biomass, a Novel Docosahexaenoic Acid Rich Feed Ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 141, 111397. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2020.111397>
- Du, F., Wang, Y. Z., Xu, Y. S., Shi, T. Q., Liu, W. Z., Sun, X. M., & Huang, H. (2021). Biotechnological Production of Lipid and Terpenoid From Thraustochytrids. *Biotechnology Advances*, 48, 107725. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2021.107725>
- Esaiyas, A., Mekonnen, Y., & Tolessa, T. (2016). The Effects of Crude Extracts and Fractions of Alchemilla abyssinica on Smooth Muscle of Guinea-pig Ileum: An in Vitro Study. *American Journal of Biomedical Research*, Vol. 4, 2016, Pages 23-26, 4(1), 23–26. <https://doi.org/10.12691/AJBR-4-1-5>
- Gao, M., Song, X., Feng, Y., Li, W., & Cui, Q. (2013). Isolation and Characterization of Aurantiochytrium Species: High Docosahexaenoic Acid (DHA) Production by the Newly Isolated Microalga, Aurantiochytrium Sp. SD116. *Journal of oleo science*, 62(3), 143–151. <https://doi.org/10.5650/JOS.62.143>
- Gunes, F. E. (2013). Medical Use of Squalene as a Natural Antioxidant. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 3(4), 220–228. <https://doi.org/10.5455/MUSBED.20131213100404>
- Honda, D., Yokochi, T., Nakahara, T., Erata, M., & Higashihara, T. (1998). Schizochytrium Limacinum Sp. Nov., A New Thraustochytrid From a Mangrove Area in the West Pacific Ocean. *Mycological Research*, 102(4), 439–448. <https://doi.org/10.1017/S0953756297005170>
- Huang, Z. R., Lin, Y. K., & Fang, J. Y. (2009). Biological and Pharmacological Activities of Squalene and Related Compounds: Potential Uses in Cosmetic Dermatology. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 14(1), 540–554. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES14010540>
- Humaidah, N., Muslichatin, W., Setyawati, D., Puspita, N. F., Nakai, S., Purwasih, S. B., & Putri, N. L. (2025). Isolation and Characterization of Docosahexaenoic Acid Producing Thraustochytrids From Mangrove Ecosystem. *Konversi*, 14(1). <https://doi.org/10.20527/K.V1411.22114>
- Hutari, A., An Nisaa, R., Suhendra, S., Agustin, Y., & Ayunda, K. A. (2022). Exploration Of High Economic Value Microalgae In The Mangrove Area Of Pari Island, Seribu Islands, Jakarta. *JURNAL PEMBELAJARAN DAN BIOLOGI NUKLEUS*, 8(3), 662–672. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3096>

- Ivanova, S., Tonchev, V., Yokoi, N., Yappert, M. C., Borchman, D., & Georgiev, G. A. (2015). Surface Properties of Squalene/Meibum Films and NMR Confirmation of Squalene in Tears. *International Journal of Molecular Sciences* 2015, Vol. 16, Pages 21813-21831, 16(9), 21813–21831. <https://doi.org/10.3390/IJMS160921813>
- Jaritkhuan, S., & Suanjit, S. (2018). Species Diversity and Polyunsaturated Fatty Acid Content of Thraustochytrids From Fallen Mangrove Leaves in Chon Buri Province, Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, 52(1), 24–32. <https://doi.org/10.1016/J.ANRES.2018.05.002>
- Jumain, J., Syahrani, S., & Farid, F. (2018). Uji Toksisitas Akut dan LD50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium Odoratum* Linn) Pada Mencit (*Mus Musculus*). *Media Farmasi*, 14(1), 28. <https://doi.org/10.32382/MF.V14I1.82>
- Kaliyamoorthy, K., Chavanich, S., Kandasamy, K., Ponnuvel, M., Kamlangdee, N., Taoka, Y., & Viyakarn, V. (2023). PUFA and Carotenoid Producing Thraustochytrids and Their Anti-Microbial and Antioxidant Activities. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1126452. <https://doi.org/10.3389/FMARS.2023.1126452/BIBTEX>
- Kaya, K., Nakazawa, A., Matsuura, H., Honda, D., Inouye, I., & Watanabe, M. M. (2011). Thraustochytrid *Aurantiochytrium* Sp. 18W-13a Accumulates High Amounts of Squalene. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 75(11), 2246–2248. <https://doi.org/10.1271/BBB.110430>
- Kohno, Y., Egawa, Y., Itoh, S., Nagaoka, S. ichi, Takahashi, M., & Mukai, K. (1995). Kinetic Study of Quenching Reaction of Singlet Oxygen and Scavenging Reaction of Free Radical by Squalene in n-Butanol. *Biochimica et biophysica acta*, 1256(1), 52–56. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(95\)00005-W](https://doi.org/10.1016/0005-2760(95)00005-W)
- Kopicová, Z., & Vavreinová, S. (2007). Occurrence of Squalene and Cholesterol in Various Species of Czech Freshwater Fish. <https://cjfs.agriculturejournals.cz/doi/10.17221/733-CJFS.html>, 25(4), 195–201. <https://doi.org/10.17221/733-CJFS>
- Krisyanella, K., Ardianti, M., & Dachriyanus, Dd. (2016). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Tabat Barito (*Ficus Deltoidea* Jack). *Jurnal Farmasi Higea*, 1(1), 29–35. <http://www.jurnalfarmasihigea.org/index.php/higea/article/view/6>
- Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris* L.) Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83–91. <https://doi.org/10.51352/JIM.V6I1.312>
- Mustapa, M. A. (2019). Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*) Menggunakan Metode Thompson-Weil. *E-Frontiers*, 1(3880). <https://repository.ung.ac.id/karyailmiah/show/3880/uji-toksisitas-akut-yang-diukur-dengan-penentuan-ld50-ekstrak-etanol-bunga-cengkeh-syzygium-aromaticum-l-terhadap-mencit-mus-musculus-menggunakan-metode-thompson-weil.html>
- OECD. (2002). *Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure* (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4). OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264070943-EN>
- Parubak, A. S. (2013). Senyawa Flavonoid Yang Bersifat Antibakteri Dari Akway (*Drimys Becariana* Gibbs). *CHEMISTRY PROGRESS*, 1(6). <https://doi.org/10.35799/CP.6.1.2013.2069>

- Ramadheni, P., Mukhtar, H., & Prahmono, D. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* (L.) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Eschericia Coli* Dengan Metode Difusi Agar. *INDONESIA NATURAL RESEARCH PHARMACEUTICAL JOURNAL*, 2(2), 34–45. <https://doi.org/10.52447/INSPJ.V2I2.967>
- Ridwan, E. (2016). Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan Dalam Penelitian Kesehatan. *Journal of The Indonesian Medical Association*. <https://id.scribd.com/document/341736295/Etika-Pemanfaatan-Hewan-Percobaan-dalam-Penelitian-Kesehatan>
- Suhendra, S., Ariandi, T. R., Septianingsih, L., Husna, M., Laksana, Z. A., Yuniasih, D., & Hutari, A. (2022). Isolasi Mikroalga *Aurantiochytrium* dari Raja Ampat dan Potensinya Pada Industri Bahan Baku Adjuvant Vaksin. *Jurnal Rekayasa Proses*, 16(2), 109–119. <https://doi.org/10.22146/JREKPROS.72045>
- Suhendra, S., Chuzaimah, & Hutari, A. (2022). Isolasi Mikroalga *Aurantiochytrium* Dari Hutan Bakau Hingga Isolat Murni: In HKI. Kementrian Hukum dan Hak Asasi Manusia, HKI Nr.: EC00202208612. *Kementrian Hukum dan Hak Asasi Manusia*, Art. HKI Nr: EC00202208612. <https://eprints.uad.ac.id/45954/>
- Suhendra, S., Septianingsih, L., Rizka Ariandi, T., Husna, M., Adi Laksana, Z., Yuniasih, D., & Hutari, A. (2022). Isolasi mikroalga *Aurantiochytrium* dari Raja Ampat dan potensinya pada industri bahan baku adjuvant vaksin. *Jurnal Rekayasa Proses*, 16(2), 34. <https://doi.org/10.22146/jrekpros.72045>
- Veramaris. (2020, Februari 24). *Kaufland Becomes First German Retailer to Introduce Sustainable and Highly Nutritious Algal-Fed Salmon*. Veramaris. <https://www.veramaris.com/media-resources-detail/kaufland-becomes-first-german-retailer-to-introduce-sustainable-and-highly-nutritious-algal-fed-salmon>