

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL  
ALGA MERAH *Eucheuma spinosum*  
DARI PERAIRAN WONGSOREJO BANYUWANGI**

**Ahmad Hanapi, A. Ghanaim Fasya, Ulfatul Mardiyah dan Miftahurrahmah**

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRACT**

Antioxidant and antibacterial activity assay and active compound identification red algae *Eucheuma spinosum* extract was conducted. Active compound extraction was conducted using maceration method with methanol. Antioxidant activity assay using DPPH method with determining EC<sub>50</sub> value. Antibacterial activity assay using diffusion method toward *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The results show that antioxidant activity of *Eucheuma spinosum* methanol extract has EC<sub>50</sub> value 22.13 ppm. Antibacterial activity toward *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria had inhibition in 80 mg/mL concentration at the amount of 4 mm and 3 mm respectively. The result of phytochemical essay shows that compounds which discovered in *Eucheuma spinosum* methanol extract were flavonoids, triterpenoids and ascorbic acid.

**Keywords:** *Eucheuma spinosum*, Antioxidant activity, DPPH, antibacterial activity, *E. coli*, *S. aureus*.

**ABSTRAK**

Telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan, antibakteri dan identifikasi senyawa aktif ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum*. Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan metode maserasi menggunakan metanol. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan menentukan nilai EC<sub>50</sub>, sedangkan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* tergolong sangat kuat dengan nilai EC<sub>50</sub> 22,13 ppm, sedangkan aktivitas atibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tergolong lemah dengan daya hambat pada konsentrasi 80 mg/mL secara berturut-turut sebesar 4 mm dan 3 mm. Uji fitokimia ekstrak metanol alga merah *E. spinosum* menunjukkan adanya kandungan golongan senyawa flavonoid, triterpenoid dan asam askorbat.

**Kata Kunci:** *Eucheuma spinosum*, aktivitas antioksidan, DPPH, aktivitas antibakteri, *E. coli*, *S. aureus*.

**I. PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan Negara bahari dengan keanekaragaman hayati laut terbesar di dunia yang memiliki total luas perairan Nusantara seluas 2,8 juta Km<sup>2</sup>, dan laut teritorial seluas 0,3 juta Km<sup>2</sup>. Indonesia mempunyai luas daratan sekitar 1,9 juta Km<sup>2</sup>, panjang garis pantai lebih dari 81.000 Km dan jumlah pulau lebih dari 18.000 pulau. Laut beserta kawasan pesisir Indonesia mempunyai manfaat dan potensi ekonomi (pembangunan) yang sangat besar dan beraneka ragam (Kusumastanto, 2011).

Salah satu potensi biota laut perairan Indonesia adalah *makro alga* atau dikenal dalam perdagangan sebagai rumput laut. Saat ini sudah ditemukan 555 jenis alga yang berdasarkan kandungan pigmennya dikelompokkan menjadi 4 kelas, yakni : Rhodophyceae, Phaeophyceae, Chlorophyceae, Cyanophyceae. Salah satu

alga dari kelas Rhodophyceae adalah *Eucheuma spinosum*. Alga merah ini mempunyai talus yang keras, silindris dan berdaging (Romimohtarto dan Juwana, 1999).

Alga, baik yang liar maupun yang telah dibudidayakan secara tradisional digunakan sebagai obat diet (Wibowo, 2001), bahan makanan dan obat-obatan, karena kaya akan protein, lipid, vitamin dan mineral yang sangat penting bagi manusia. Temuan terakhir membuktikan bahwa rumput laut berpotensi sebagai antivirus (Manilal *et al.*, 2009), antibakteri (Izzati, 2007), antijamur (Khazanda *et al.*, 2007), antitumor (Zandi *et al.*, 2010) dan antioksidan (Lestario dkk., 2008).

Faten *et al.* (2009) mengekstrak alga merah *Gracilaria verrucosa* menggunakan pelarut etanol 70 % kemudian dipartisi menggunakan etil asetat, *n*-butanol dan

petroleum eter, didapatkan bahwasanya fraksi etil asetat dan petroleum eter merupakan fraksi yang cukup aktif dalam menghambat radikal bebas menggunakan DPPH. Selain itu, Suryaningrum dkk. (2006) mengekstrak rumput laut segar dan kering dari *Halmenia harveyana* dan *Eucheuma cottoni* yang tergolong dalam kelas *Rhodophyceae* dengan pelarut metanol *p.a* kemudian dipartisi dengan 200 mL campuran metanol : *n*-heksana (2:3) lalu diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH, dan didapatkan ekstrak rumput laut segar memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

Iskandar (2009) melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol alga merah jenis *Eucheuma cottonii*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol alga merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Bacillus cereus* adalah 0,1 % dan terhadap *Escherichia coli* adalah 0,5 %. Sedangkan Enida (2011) melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol pada alga coklat *Sargassum polycystum* C.Agardh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat alga coklat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan daya hambat pada konsentrasi 70 mg/mL yaitu 14,78 mm dan konsentrasi 50 mg/mL yaitu 14,39 untuk bakteri *E. coli*. Sedangkan KHM bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 30 mg/mL yaitu 8,24 mm dan bakteri *E. coli* pada konsentrasi 20 mg/mL yaitu 9,76 mm.

Sebagai salah satu upaya untuk mengungkapkan sifat biologis dan medis dari flora laut serta untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam laut Indonesia, khususnya di daerah Banyuwangi maka pada penelitian ini dilakukan ekstraksi senyawa aktif pada alga merah *Eucheuma spinosum* dengan pelarut metanol, kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan terhadap DPPH dan antibakteri menggunakan metode difusi

cakram serta mengidentifikasi senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antibakteri dalam alga merah *E. spinosum* yang berasal dari perairan laut Banyuwangi.

## I. METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, oven, blender, ayakan, desikator, neraca analitik, erlenmeyer, *rotary evaporator*, corong Buchner, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, spektrofotometer Uv-Vis, autoklaf, jarum ose, tabung reaksi, beker gelas, inkubator, dan cawan petri.

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah jenis (*Eucheuma spinosum*) berasal dari laut Wongsorejo Banyuwangi.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol, DPPH, kalium kromat, kloroform, BHT, HCl, etanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, natrium bikarbonat, asam asetat anhidrida, pereaksi Mayer dan Dragendorff, AgNO<sub>3</sub>, serbuk logam Mg, nutrisi agar, penisilin, sterptomisin, DMSO, kertas saring, kapas dan pH indikator universal.

### Prosedur Penelitian

#### Uji Taksonomi

Uji taksonomi alga merah *E. spinosum* dilakukan secara kualitatif di daerah perairan Wongsorejo Banyuwangi dan di Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### Preparasi Sampel

Alga merah *E. spinosum* sebanyak 3 Kg dicuci dengan air, kemudian diiris kecil-kecil lalu dioven pada suhu 30 – 38 °C selama 24 jam dan dihaluskan menggunakan blender hingga didapatkan serbuk alga merah *E. spinosum*.

#### Penentuan Kadar Air Secara Thermo-gravimetri (AOAC, 1984)

Pada penentuan kadar air, disiapkan cawan porselen terlebih dahulu, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan

kadar airnya. Kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, sebanyak 5 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan dalam oven dan dikeringkan pada suhu 105 °C selama ±15, kemudian sampel disimpan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dalam alga merah *E. spinosum* dihitung menggunakan persamaan berikut (AOAC, 1984):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

Dimana :

a = bobot cawan kosong

b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

#### Penentuan Kadar Garam

Sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan diekstrak dengan menggunakan akuades panas 10 mL, ditunggu beberapa lama sehingga semua garam (NaCl) larut, ekstraksi diulang beberapa kali (8-10 kali). Ekstrak diambil sebanyak 5 mL lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer, setelah itu ditambahkan dengan kalium kromat 5% 3 mL dan dititrasi dengan AgNO<sub>3</sub> 0,1 N sampai warna menjadi merah bata. Perhitungan kadar garam (NaCl) menggunakan persamaan berikut (Sudarmadji dkk., 2007):

% NaCl =

$$\frac{\text{mL AgNO}_3 \times \text{N AgNO}_3 \times 58,5}{\text{massa sampel} \times 1000} \times 100 \%$$

#### Ekstraksi Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman. Alga merah yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 100 g dan

diekstraksi secara maserasi menggunakan 300 mL pelarut metanol selama 24 jam dan dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*), setelah itu dilakukan penyaringan menggunakan corong Buchner. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak 3 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama hingga filtrat yang dihasilkan bening, setelah itu dilakukan penyaringan. Ketiga filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu. Kemudian ekstrak yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang lalu dihitung rendemen ekstrak dengan Persamaan berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

dan dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan dan antibakteri.

#### Uji Aktivitas Antioksidan

##### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 3 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi didiamkan ± 10 menit. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh. Dicari λ<sub>maks</sub> larutan dan dicatat hasil pengukuran λ<sub>maks</sub> untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, dkk., 2010).

##### Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Dibuat larutan ekstrak 100 ppm sebanyak 25 mL, kemudian diambil sebanyak 2,25 mL. Ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 0,75 mL, kemudian dicari waktu kestabilan setelah inkubasi dan sebelum inkubasi pada rentangan waktu 5 – 50 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur pada λ<sub>maks</sub> dan waktu kestabilan yang telah didapatkan.

##### Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel

- a) Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 3 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan  $\lambda_{maks}$  yang didapatkan.
- b) Ekstrak pekat *Eucheuma spinosum*, dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 1, 5, 25, 50, 100, 150, dan 200 ppm. Disiapkan tabung reaksi kemudian diisi dengan 2,25 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH sebanyak 0,75 mL dengan konsentrasi 0,2 mM dalam etanol 95 % v/v (perbandingan larutan DPPH : ekstrak 1:3). Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh untuk mengukur absorbansinya pada  $\lambda_{maks}$ . Data absorbansi (A) yang diperoleh dari masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan persamaan berikut (Arindah, 2010):

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \left( \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100\%$$

### Uji Aktivitas Antibakteri Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara menutup alat-alat yang akan disterilkan dengan alumunium foil atau kapas. Dimasukkan ke dalam autoklaf dan diatur pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*). Sterilisasi dilakukan untuk alat selama 30 menit dan bahan selama 15 menit (Irianto, 2006). Alat-alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan dengan menggunakan etanol 70 % (Volk dan Wheeler, 1993).

### Pembuatan Media

Media yang disiapkan adalah media padat agar (*Nutrient Agar*) miring untuk peremajaan biakan murni dan uji antibakteri senyawa hasil reaksi pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Media cair (*Nutrient Broth*) untuk pembuatan larutan inokulum bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pembuatan media padat dilakukan dengan cara sebanyak 2 gram nutrien agar dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam beaker glass dan dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditutup kapas. Selanjutnya, suspensi dipanaskan hingga mendidih lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi (masing-masing 7 mL untuk peremajaan biakan murni dan 10 mL untuk media uji aktivitas antibakteri) (Zamrodi, 2011). Proses ini dilakukan secara aseptis dengan cara bagian ujung alat dipanaskan dan ditutup dengan kapas dan alumunium foil. Media NA disterilkan dalam autoklaf dan diatur pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian media untuk peremajaan diletakkan dalam posisi miring dan didiamkan pada suhu ruang sampai media memadat.

Media cair (*Nutrient Broth*) dibuat dengan cara sebanyak 1 gr *Nutrient Broth* (NB) dilarutkan dalam 125 mL aquades, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas. Selanjutnya, suspensi dipanaskan sampai mendidih, kemudian didinginkan dalam suhu ruang. Selanjutnya, media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi (*per square inchi*) (Volk dan Wheeler, 1993).

### Peremajaan Biakan Murni *S. aureus* dan *E. coli*

Biakan murni *S. aureus* dan *E. coli* digoreskan secara aseptis dengan jarum ose pada media padat agar miring dan tabung media ditutup dengan kapas. Media tersebut diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C di dalam inkubator. Kemudian diletakkan dalam lemari pendingin.

### **Pembuatan Larutan Biakan Aktif Bakteri *S. aureus* dan *E. coli***

Satu ose bakteri hasil peremajaan biakan murni *S. aureus* dan *E. coli* dibiakkan dalam 10 mL media cair (NB) steril dan dihomogenkan. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif.

### **Uji Aktivitas Antibakteri**

Media padat 10 mL yang telah dipanaskan hingga mencair, didinginkan sampai suhu 40 °C, dan dituang dalam cawan petri steril. Ditambahkan 0,1 mL larutan biakan aktif bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dihomogenkan. Dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram (diameter 5 mm) diresapkan dalam ekstrak alga merah *E. spinosum* dan kontrol. Proses peresapan dilakukan dengan cara meneteskan 20 µL kontrol positif (penisilin dan streptomisin), kontrol negatif (pelarut) dan larutan ekstrak (Zakaria *et al.*, 2007). Kertas cakram tersebut diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Media bakteri yang sudah diberi bahan antibakteri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dalam inkubator. Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan penggaris untuk menentukan efektivitas antibakteri (Volk dan Wheeler, 1993). Diameter zona hambat adalah diameter yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas cakram dikurangi diameter kertas cakram.

Uji antibakteri dilakukan dengan cara memvariasi konsentrasi yaitu pada konsentrasi ekstrak sebesar 30, 40, 50, 60, 70, dan 80 mg/mL). Kemudian dilakukan pengulangan uji antibakteri pada masing-masing konsentrasi sebanyak tiga kali. Pada penelitian ini kontrol positif penisilin (konsentrasi 25 mg/mL) digunakan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* (gram positif) sedangkan kontrol positif streptomisin (konsentrasi 6,25 mg/mL) digunakan untuk bakteri *Escherichia coli* (gram negatif) (Soetan, *et.al*, 2006).

### **Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Identifikasi Flavonoid**

Ekstrak kasar 5 mg ditambahkan dengan air panas 1-2 mL air panas dan sedikit serbuk Mg. Kemudian ditambahkan 4-5 tetes HCl 37 % dan etanol 95 % dengan volume yang sama lalu dikocok. Jika menunjukkan warna merah, kuning atau jingga maka ekstrak kasar positif mengandung flavonoid (Febriany, 2004).

### **Identifikasi Alkaloid**

Ekstrak kasar dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

### **Identifikasi Steroid**

Ekstrak kasar diambil 5 mg dilarutkan dalam 2-3 mL kloroform, lalu ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrida dan 2-3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung, jika terbentuk warna biru sampai hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid (Auterhoff, dkk., 1987).

### **Uji Triterpenoid**

Ekstrak alga merah *E. spinosum* dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid dalam sampel (Indrayani, dkk., 2006).

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Preparasi Sampel

Alga merah *Eucheuma spinosum* dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pasir maupun lumpur yang menempel pada tallusnya. Setelah benar-benar bersih, alga merah *E. spinosum* dioven pada suhu 38 °C selama 24 jam. Tujuan pengeringan ini untuk meminimalisir kadar air yang terkandung dalam alga merah *E. spinosum* dan untuk menghambat aktivitas mikroorganisme (jamur maupun bakteri) agar dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama. Pengeringan sampel dilakukan pada suhu 38 °C agar senyawa aktif yang terkandung dalam sampel alga merah *E. spinosum* tidak rusak karena suhu yang terlalu tinggi.

Alga merah yang sudah kering dipotong kecil-kecil lalu diblender hingga halus, dan disaring menggunakan penyaring (ayakan) dengan ukuran 60-250 mesh. Tujuan penghalusan sampel yaitu untuk memperbesar ukuran permukaan sampel sehingga proses ekstraksi berjalan optimal karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara pelarut dan sampel semakin besar. Hasil yang diperoleh dari proses ini menunjukkan bahwa dari 4 Kg sampel basah didapatkan serbuk *E. spinosum* sebanyak 350 gram. Selain itu, serbuk alga merah *E. spinosum* berwarna coklat dan berbau menyengat.

#### Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air bertujuan untuk mengetahui kadar air dalam sampel alga merah *E. spinosum* yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi dan meminimalkan kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme maupun penguraian oleh enzim pada proses penyimpanan sampel. Kadar air dalam alga merah *E. spinosum* ditentukan dengan proses penguapan menggunakan oven pada suhu 105 °C hingga berat sampel konstan. Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang diuapkan. Kandungan air rumput laut segar sama seperti tanaman pada umumnya yaitu berkisar antara 80 – 90 % dan setelah

pengeringan menjadi 10 – 20 % (Astawan, *et al.* 2001). Kadar air alga merah *E. spinosum* sebelum maupun setelah dikeringkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Kadar air dalam alga merah *E. spinosum*

Sampel	Kadar Air (%)
<i>E. spinosum</i> basah	79,996
<i>E. spinosum</i> kering	9,947

Kandungan kadar air pada alga merah *E. Spinosum* basah cukup tinggi, yaitu sebesar 79,96 %. Oleh karena itu perlu dilakukan proses pengeringan sebelum sampel alga merah *E. spinosum* dimaserasi agar tidak mengganggu proses ekstraksi. sampel alga merah *E. spinosum* setelah pengeringan memiliki nilai kadar air yang lebih rendah daripada kadar air maksimum yang disyaratkan yakni 9,947 %. Hal ini menunjukkan bahwa sampel memiliki kadar air yang cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi, karena semakin rendah nilai kadar air bahan maka akan semakin memudahkan pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif yang diinginkan. Setyowati (2009) menyatakan bahwa kadar air maksimum yang disyaratkan agar proses ekstraksi dapat berjalan lancar yaitu sebesar 11 %.

#### Penentuan Kadar Garam

Pada penentuan kadar garam dilakukan untuk mengetahui besarnya kandungan garam dalam sampel yang akan dianalisis. Pada penelitian uji antibakteri ini kadar garam sangat berpengaruh karena kadar garam tinggi dalam suatu sampel maka akan dapat menjadi faktor penghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji kadar garam dilakukan menggunakan salinometer Atago PAL-06S refraktometer. Prinsip alat ini berdasarkan pembiasan sinar, dipakai untuk menentukan indeks bias cairan dan mengukur kadar/konsentrasi bahan terlarut dengan memanfaatkan reaksi cahaya. Semakin besar kandungan garam yang terlarut maka menyebabkan indeks refraktif larutan semakin besar. Garam (NaCl) memiliki indeks bias = 1,544 terhadap cahaya kuning natrium.

Hasil pengukuran kadar garam alga merah *E. spinosum* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Kadar garam alga merah *E. spinosum*

Sampel	Kadar Garam (%)
<i>E. spinosum</i> basah	2
<i>E. spinosum</i> kering	11,5

Kadar garam alga merah *E. spinosum* basah lebih kecil daripada alga merah *E. spinosum* kering dikarenakan pada sampel basah masih banyak mengandung air. Sedangkan pada sampel kering kadar air sudah berkurang sehingga kadar garam meningkat.

Pada umumnya konsentrasi 10-15 % sudah cukup untuk membunuh sebagian besar jenis-jenis bakteri (Hudaya dan Darajat, 1980). *S. aureus* masih mungkin tumbuh pada beberapa produk dengan kadar garam agak tinggi yaitu sampai 7–10%. *S. aureus* akan dihambat pertumbuhannya pada konsentrasi garam 15–20% dan pH dibawah 4,5–5 (Rahayu, dkk., 1992). Sedangkan *E. coli* akan dihambat pertumbuhannya pada konsentrasi garam 13% (Rosida, dkk., 2007). Jadi pada penelitian ini, bakteri uji *S. aureus* (gram positif) dan *E. coli* (gram negatif) kemungkinan tidak terhambat pertumbuhannya dengan kadar garam 11,5%.

### Ekstraksi Senyawa Aktif Alga Merah *E. spinosum*

Ekstraksi senyawa aktif alga merah *E. spinosum* menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Metode maserasi dipilih karena metode ini menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dengan perendaman, sampel tumbuhan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Maserasi dilakukan selama 24 jam menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*) untuk

mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan diperoleh filtrat berwarna hijau tua. Berat sampel yang digunakan ialah 100 gram dalam 300 mL. Maserasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali sampai filtrat berwarna bening.

Ekstrak metanol kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, proses pemekatan ini dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes lagi ke dalam labu alas bulat. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dialiri gas N<sub>2</sub> agar sisa-sisa pelarut yang masih terdapat dalam ekstrak dapat dihilangkan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol (filtrat) pada pengulangan 1 dan 2 berwarna hijau pekat, sedangkan pada pengulangan ekstraksi yang ke-3 sampai ke-5 ekstrak metanol (filtrat) berwarna hijau kekuningan dan bening. Hasil ekstraksi dengan pelarut metanol ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3 Rendemen hasil ekstraksi dengan pelarut metanol

Ekstrak Kasar	Rendemen (%)
Metanol 1	16,86
Metanol 2	16,60
Metanol 3	15,29
<b>Rata-rata</b>	<b>16,25</b>

Nilai rendemen yang didapatkan pada penelitian ini cukup tinggi yaitu 16,256 %. Hal itu disebabkan metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel alga merah *E. spinosum* cukup banyak. Hasil ini lebih baik daripada penelitian Maulida (2007) menyebutkan bahwa nilai rendemen alga hijau *Caulerpa lentillifera* kering dan basah hasil ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol masing-masing sebesar 7,84 % dan 3,06 %.

### Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

Pengukuran potensi antioksidan pada sampel dilakukan dengan berbagai konsentrasi sampel yakni 200, 150, 100, 50, 25, 5 dan 1 ppm, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm dengan waktu kestabilan yang sudah ditentukan. Pengukuran aktivitas

antioksidan tiap-tiap konsentrasi pada sampel harus menggunakan larutan kontrol yang berupa larutan DPPH 0,2 mM. Larutan DPPH kontrol digunakan untuk memberikan kestabilan pada saat pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel (Arindah, 2010). Menurut Molyneux (2003) nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan *baseline* untuk pengukuran saat itu.

Absorbansi kontrol maupun absorbansi sampel yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menentukan persen (%) aktivitas antioksidan. Persen (%) aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Semakin tinggi persen (%) aktivitas antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen yang diberikan senyawa aktif kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Rahayu, *et al.*, 2010). Banyaknya atom hidrogen yang didonorkan oleh molekul antioksidan dapat diketahui secara kualitatif dengan terjadinya perubahan warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning. Hasil pengukuran ekstrak metanol *E. spinosum* ketika ditambahkan larutan DPPH tidak mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning, melainkan hanya terjadi pemudaran warna dari ungu menjadi pink keunguan.

Pengujian antioksidan pada ekstrak metanol *E. spinosum* dibandingkan dengan antioksidan yang sudah ada yaitu BHT dan asam askorbat. Penggunaan pembanding untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak *E. spinosum* jika dibandingkan dengan antioksidan sintetik yang sudah sering dipakai seperti BHT dan asam askorbat. Apabila % aktivitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai aktivitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai

salah satu alternatif antioksidan (Yuliani, 2010).

Persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan persamaan regresi non linear menggunakan *GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*, sehingga nantinya didapatkan nilai  $EC_{50}$  dari sampel.  $EC_{50}$  (*Effective concentration*) merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal sebanyak 50 %. Semakin kecil nilai  $EC_{50}$  suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai penangkap radikal bebas atau antioksidan. Dengan kata lain  $EC_{50}$  merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menurunkan sebesar 50 % dari konsentrasi substrat (radikal DPPH). Nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol *E. spinosum* ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4 Nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol *E. spinosum*

Ekstrak	Nilai $EC_{50}$ (mg/L)
Metanol	22,13
Vitamin C	3,702
BHT	38,25

Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol adalah 22,13 ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol tergolong sangat kuat karena memiliki nilai  $EC_{50}$  kurang dari 50 ppm.

Aktivitas antioksidan yang baik pada ekstrak metanol dapat dikorelasikan dengan hasil uji fitokimia. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak methanol *E. spinosum* mengandung golongan senyawa flavonoid, triterpenoid dan asam askorbat. Diduga berbagai golongan senyawa tersebut aktif dalam meredam radikal bebas (DPPH).

#### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* (gram positif) dan *E. coli* (gram negatif) dengan variasi konsentrasi 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak

metanol ditunjukkan pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5 Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. Coli*

Konsentrasi ekstrak metanol (mg/mL)	Diameter zona hambat (mm)
30	-
40	-
50	1
60	1
70	2
80	3
Total bakteri (CFU/mL)	$2,7 \times 10^8$
Streptomisin (6,25 mg/mL)	13
Kontrol negatif (pelarut)	-

Tabel 6 Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*

Konsentrasi ekstrak metanol (mg/mL)	Diameter zona hambat (mm)
30	-
40	1
50	2
60	2
70	3
80	4
Total bakteri (CFU/mL)	$1,8 \times 10^8$
Ampisilin (0,4 mg/mL)	22
Kontrol negatif (pelarut)	-

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* (Tabel 5) menunjukkan ekstrak metanol pada konsentrasi 30 mg/mL dan 40 mg/mL tidak dapat memberikan daya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kandungan senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak metanol hanya sedikit sehingga pada konsentrasi 30 mg/mL dan 40 mg/mL tidak dapat memberikan daya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Aktivitas penghambatan ekstrak metanol terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak yang ditunjukkan

dengan semakin besarnya diameter zona bening di sekitar kertas cakram. Salah satu faktor penyebabnya yaitu senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak yang bersifat sebagai antibakteri semakin banyak dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak sehingga kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* juga semakin besar.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. Aureus* (Tabel 6) menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak metanol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. Aureus* semakin bertambah besar dengan semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak. Salah satu faktor penyebabnya ialah banyaknya komponen senyawa aktif yang bersifat antibakteri akan semakin banyak dengan semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak sehingga diameter zona hambat akan semakin besar. Jika dibandingkan dengan kontrol streptomisin 6,25 mg/mL dengan daya hambat 13 mm dan ampicilin 0,4 mg/mL dengan daya hambat 22 mm, maka ekstrak yang dihasilkan pada penelitian mempunyai daya hambat lebih kecil dari pada kontrol. Hal ini kemungkinan disebabkan karena terjadinya mekanisme resistensi bakteri terhadap senyawa antibakteri. Terjadinya resistensi dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam menghambat kerja senyawa antibakteri oleh mutasi yang kemungkinan bakteri untuk memintasi langkah-langkah peka yang dihambat oleh zat antibakteri, atau oleh mutasi yang menyebabkan sel bakteri menjadi sulit untuk ditembus oleh bakteri (Volk dan Wheeler, 1993). Mekanisme resistensi bakteri ini juga dapat terjadi karena bakteri menurunkan permeabilitas dinding selnya sehingga senyawa antibakteri akan sulit masuk ke dalam sel. terjadinya resistensi bakteri menyebabkan terbentuknya beberapa populasi bakteri yang resisten sehingga zona hambat yang dihasilkan disekitar cakram semakin kecil. Akan tetapi, hal ini perlu dilakukan kajian lebih lanjut, yaitu dengan melakukan penelitian dengan variasi konsentrasi yang lebih luas karena

ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini merupakan ekstrak kasar dan belum dimurnikan.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah streptomisin untuk *E. coli* dan ampisilin untuk *S. aureus*. Diameter zona hambat ampisilin dengan konsentrasi 0,4 mg/mL sebesar 22 mm dan diameter zona hambat streptomisin 6,25 mg/mL adalah sebesar 13 mm. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* yang digunakan pada penelitian ini tidak tergolong resisten terhadap kontrol ampisilin dengan menghasilkan zona hambat sebesar 22 mm karena bakteri *S. aureus* dapat dikatakan resisten apabila menghasilkan zona hambat kurang dari 20 mm. Begitu juga pada streptomisin untuk bakteri *E. coli* menghasilkan zona hambat 13 mm. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* yang digunakan pada penelitian ini tidak resisten terhadap streptomisin karena menghasilkan zona hambat sebesar 13 mm. *E. coli* dapat dikatakan resisten terhadap streptomisin apabila menghasilkan zona hambat kurang dari 11 mm.

Ekstrak metanol alga merah *E. spinosum* tetap dianggap mempunyai potensi sebagai antibakteri karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 80 mg/mL sebesar 4 mm dan *E. coli* pada konsentrasi 80 mg/mL sebesar 3 mm yang ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar cakram. Hal ini menunjukkan bahwa kekuatan senyawa antibakteri dalam ekstrak tersebut tergolong lemah.

Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan juga memiliki potensi menghambat bakteri. Kontrol negatif yang digunakan ialah metanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memberikan zona hambat pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini bisa diasumsikan bahwa tidak ada pengaruh dari pelarut terhadap zona hambat yang diberikan oleh ekstrak.

### Identifikasi Golongan Senyawa Aktif

Hasil identifikasi golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak metanol alga merah *E. spinosum* ditunjukkan pada Tabel 7.

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung golongan senyawa flavonoid, triterpenoid dan asam askorbat.

Tabel 7 Hasil identifikasi senyawa aktif ekstrak metanol alga merah (*E. spinosum*)

Golongan Senyawa	Ekstrak metanol alga merah ( <i>E. spinosum</i> )
Flavonoid	+++
Triterpenoid	++
Steroid	-
Alkaloid	
- Mayer	-
- Dragendrof	-
Asam Askorbat	+

Keterangan:

- +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
- ++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)
- + = Mengandung senyawa (berwarna)
- = Tidak terkandung senyawa

Berbagai golongan senyawa yang terdapat dalam alga merah *E. spinosum* sangat berperan penting dalam pengujian aktivitas antioksidan dan antibakteri. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa sampel alga merah *E. spinosum* sangat aktif dalam menghambat oksidasi radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti penuaan dini, arthritis dan kanker. Hal ini dapat dilihat dari nilai EC<sub>50</sub> masing-masing fraksi yang berkisar antara 12-80 ppm yang menunjukkan alga merah *E. spinosum* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sehingga dari pengujian ini dapat diketahui bahwa alga merah ini memiliki manfaat yang sangat penting bagi kemaslahatan umat manusia terutama dalam bidang kesehatan masyarakat.

#### IV. KESIMPULAN

Ekstrak metanol alga merah *E. spinosum* mempunyai aktivitas antioksidan terhadap DPPH dengan nilai EC<sub>50</sub> sebesar 22,13 ppm dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan daya hambat pada konsentrasi 80 mg/mL secara berturut-turut sebesar 4 mm dan 3 mm. Uji fitokimia ekstrak metanol alga merah *E. spinosum* menunjukkan adanya kandungan golongan senyawa flavonoid, triterpenoid dan asam askorbat.

#### V. DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Inc.* Washington DC: Association of Official Analytical Chemists
- Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solanum Muricatum aiton*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Astawan, M., Muchtadi, D., Tutik, W., 2001. Pemanfaatan Rumput Laut pada Berbagai Makanan Jajanan Untuk Mencegah Timbulnya Defisiensi Iodium dan Penyakit Degeneratif. *Laporan Penelitian*. Bogor: IPB
- Auterhoff, H., dan Kovar, K.A. 1987. *Identifikasi Obat*, Bandung: ITB
- Enida, F. BR Naibaho, Ruth. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksana, Etilasetat dan Etanol Rumput Laut Coklat (*Sargassum polycystum* C.Agardh) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Faten, M., Abou, E., and Emad, A.S. 2009. Antioxidant Activity of Extract and Semi-Purified Fractions of Marine Red Macroalga, *Gracilaria Verrucosa*. Australian. *Journal of Basic and Applied Sciences*. Kairo: Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Cairo University
- Febriany, S. 2004. Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara In Vitro. *Skripsi tidak diterbitkan*. Bogor: Fakultas MIPA IPB
- Hudaya, S. dan Daradjat, S. 1981. *Dasar-Dasar Pengawetan I*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta
- Indrayani, L., H. Soetjipto, dan L. Sihasale. 2006. Skinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Iskandar, Yoppi. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol rumput laut (*Euclima cottonii*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. Sumedang: Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran Jatinangor, Sumedang 45363.
- Izzati, Munifa. 2007. Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu. *Laboratorium Fungsi Tumbuhan*. Vol. 9, No. 2. 62 – 67
- Khazanda, K.A., Wazir, S.T.G., Samina, K., Shahzadi, S. 2007 et al. *Antifungal Activity, Elemental Analysis And Determination Of Total Protein Of Seaweed, Solieria robusta (Greville) Kylin From The Coast Of Karachi*. National Center of Excellence for Analytical Chemistry. Pakistan: University of Sindh, Jamshoro-76080,
- Kusumastanto, T. 2011. Pengembangan Sumberdaya Kelautan dalam Memperkokoh Perokonomian Nasional Abad 21. *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Bogor: Insitut Pertanian Bogor
- Lestario, Ninan, L., Sugiarto, S., Timotius, K.H. 2008. Aktivitas antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria verucosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* Vol XIX No 2. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Manilal. A., Sujith, S., Selvin, J., Kiran, G.S., Shakir, C. 2009. In vivo Antiviral Activity of Polysaccharide from the

- Indian Green Alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): Potential Implication in Shrimp Disease Management, *Journal of Fish and Marine Sciences*. Department of Microbiology. India: Bharathidasan University
- Molyneux, P., 2003, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*, Vol 26(2) : 211-219
- Rahayu, D.S., Dewi, K., Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrilhidrazil (DPPH). *Skripsi Diterbitkan*. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
- Rahayu PW, Ma'oen S, Suliantari, Fardiaz S. 1992. *Teknologi Fermentasi Produk Perikanan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Romimuhtarto, K., dan Sri Juwana. 1999. *Biologi Laut*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Rosida dan Susiloningsih, E.K.B. 2007. Pengaruh Konsentrasi Starter *Lactobacillus plantarum* dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas dan Kerusakan Produk Terasi. *Jurnal Protein*: Vol.15 No.2
- Setyowati A, Hidayati D, Awik PDN, Abdulgani N. 2009. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mugil cephalu*) di muara sungai Aloo Sidoarjo. *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Surabaya: Program Studi Biologi FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Soetan, K., Oyekunle, M., Aiyelaagbe, O., and Fafunso, M., 2006, Evaluation of The Antimicrobial Activity of Saponins Extract of *Sorgum bicolor* L. Moench, *African Journal of Biotechnology*, Vol 5 (23): 2405-2407.
- Sudarmadji, S., B., Haryono, dan Suhardi. 2007. *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Volk.W.A dan Wheeler M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Markham. Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama.
- Wibowo, S.T. 2001. Potensi Jenis-Jenis Rumput Laut dari Pantai Sayang Heulang-Pameungpeuk Garut Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi. Bogor*: Jurusan biologi, Institut Pertanian Bogor
- Yuliani, D. 2011. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*, L.). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Zakaria, Z.A., Zaiton, H., Henie, E.F.P., Jais, A. M.M., and Zainuddin, E.N.H., 2007, In Vitro Antibacterial Activity of Averrhoa bilimbi L. Leaves and Fruits Extracts, *International Journal of Tropical Medicine*, (Online), 2(3):96-100, [http://www.medwelljournals.com/fulltext/ijtm/2007/96-100 .pdf](http://www.medwelljournals.com/fulltext/ijtm/2007/96-100.pdf), diakses 1 November 2011.
- Zamrodi, Moh. 2011. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.). *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Zandi, K., Saeed, T. Iraj, N., Zahra, R., Forough, Y., Samin, S., Kohzad, S. 2010. In Vitro Antitumor Activity of *Gracilaria corticata* (A Red Alga) Against Jurkat And Molt-4 Human Cancer Cell Lines. *Journal of Biotechnology Bushehr Iran: University of Medical Sciences*