

**Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli*
dengan Metode Difusi Cakram**

(Skripsi)

Oleh

Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti

2117061031



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2025

ABSTRAK

Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram

Oleh

Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti

Penggunaan sumber daya laut sebagai alternatif bahan antibakteri alami semakin berkembang dalam beberapa tahun terakhir. *Gracilaria* sp., sejenis alga merah, diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai agen antibakteri, khususnya terhadap *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi antibakteri ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap *E. coli* menggunakan metode jenis eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan analisis data *One-Way* ANOVA dan dilanjutkan dengan Uji Tukey. Larutan stok ekstrak dibuat dengan konsentrasi 100 mg/mL dan diuji pada konsentrasi 0,05%, 1%, 5%, dan 10% dengan kontrol positif ciprofloxacin dan kontrol negatif akuades steril. Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria* sp. menghasilkan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi tertinggi 10% dan 5% dengan rata-rata hanya mencapai (0,075 mm). Dengan demikian, ekstrak metanol *Gracilaria* sp. memiliki potensi antibakteri yang lemah terhadap *Escherichia coli*, karena zona hambat yang terbentuk jauh lebih kecil dibandingkan kontrol positif yang mencapai 1,7 mm.

Kata kunci: *Gracilaria* sp., antibakteri, *Escherichia coli*, difusi cakram, ekstrak metanol.

ABSTRACT

Antibacterial Potential of Methanolic Extract of *Gracilaria* sp. Against *Escherichia coli* Using the Disk Diffusion Method

By

Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti

The use of marine resources as an alternative source of natural antibacterial agents has been increasingly developed in recent years. *Gracilaria* sp., a type of red algae, is known to contain biologically active compounds that have potential as antibacterial agents, particularly against *Escherichia coli*. This study aimed to determine the antibacterial potential of the methanolic extract of *Gracilaria* sp. against *E. coli* using an experimental method based on a Completely Randomized Design (CRD). Data were analyzed using One-Way ANOVA followed by Tukey's test. A stock solution of the extract was prepared at a concentration of 100 mg/mL and tested at concentrations of 0.05%, 1%, 5%, and 10%, with ciprofloxacin as the positive control and sterile distilled water as the negative control. The test was conducted in three replicates. The results showed that the methanolic extract of *Gracilaria* sp. produced an inhibition zone at the highest concentrations (10% and 5%) with an average diameter of only 0.075 mm. Therefore, the methanolic extract of *Gracilaria* sp. has weak antibacterial potential against *Escherichia coli*, as the inhibition zone formed is significantly smaller than that of the positive control, which reached 1.7 mm.

Keywords: *Gracilaria* sp., antibacterial, *Escherichia coli*, disk diffusion, methanolic extract.

**Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli*
dengan Metode Difusi Cakram**

Oleh

Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar

SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria*
sp. terhadap *Escherichia coli* dengan Metode
Difusi Cakram**

Nama Mahasiswa

: **Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117061031

Jurusan / Program Studi

: Biologi / Biologi Terapan

Fakultas

: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

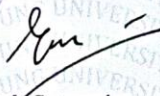
Menyetujui,

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Kusuma Handayani, M.Si
NIP. 19780819 200801 2 018


Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed
NIP. 19640517 198803 2 001

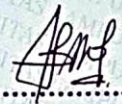
Mengetahui,

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

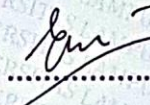

Dr. Jati Mas'ar, M.Si
NIP. 19830131 200812 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
Ketua : Dr. Kusuma Handayani, M.Si.



Anggota : Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed.



Penguji Utama : Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 21 Mei 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti
NPM : 2117061031
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul :

“Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram”

Bahwa keseluruhan dari karya ilmiah ini baik data, hasil analisis, dan kajian ilmiah adalah BENAR hasil karya orisinil yang saya susun berdasarkan riset ilmiah melalui arahan komisi pembimbing dan pembahas. Karya ilmiah ini disusun dengan berpedoman pada norma serta etika akademik dan penulisan yang berlaku. Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat pernyataan yang tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 28 Mei 2025



Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti
NPM.2117061031

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti atau lebih akrab dipanggil Amanda, lahir di Metro, 18 September 2003 dari pasangan Bapak alm. Masono Saputra dan Ibu Heni Nugroho Ningsih. Penulis merupakan anak perempuan tunggal. Penulis mengawali Pendidikan dasar di SDN 7 Kota Metro pada tahun 2009-2015. Penulis kemudian melanjutkan Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 2 Kota Metro pada tahun 2015-2018. Kemudian penulis melanjutkan Pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 4 Kota Metro pada tahun 2018-2021. Penulis melanjutkan pendidikan ke Perguruan Tinggi di Universitas Lampung Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada tahun 2021 melalui jalur masuk Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Penulis menyelesaikan Pendidikan pada Perguruan Tinggi dan meraih gelar Sarjana Sains pada tahun 2025. Penulis telah melaksanakan kegiatan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul “Identifikasi Bakteri *Klebsiella Pneumonia* dengan Kultur Spesimen Sputum pada Pasien di RSUD Jend. Ahmad Yani Kota Metro” pada bulan Desember 2023 sampai Februari 2024 dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di desa Mulyosari, Kecamatan Pasir Sakti, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan karunia-Nya, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Maka skripsi ini saya persembahkan kepada :

Kedua orang tua yang sangat saya sayangi, Bapak alm. Masono Saputra dan Ibu Heny Nugroho Ningsih yang telah memberikan kasih sayang serta doa yang tiada hentinya, memberikan dukungan, motivasi, fasilitas, mengiringi dan meridhoi setiap langkah saya hingga selalu dimudahkan dan dilancarkan dalam setiap proses kehidupan.

Bapak dan Ibu dosen serta dosen pembimbing yang telah mendidik, membimbing, memberi saran, masukan, dan ilmu pengetahuan yang bermanfaat.

Teman-teman seperjuangan saya yang selalu memberi semangat, dukungan, dan bantuan selama masa perkuliahan.

Almamater tercinta, Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

MOTTO

"Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan."

(QS. Al-Insyirah: 6)

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya."

(QS. Al-Baqarah: 286)

"Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras untuk urusan yang lain."

(QS. Al-Insyirah: 7)

"Janganlah kamu merasa lemah jika doamu belum juga dikabulkan. Sebab, keterlambatan itu adalah ujian bagimu, dan kelapangan itu akan datang pada waktunya."

(Ibnu Qayyim Al-Jauziyyah)

"Tak perlu menjadi siapa-siapa untuk membuat perubahan besar. Cukup menjadi dirimu sendiri dan tetap melangkah."

(Tere Liye)

"It always seems impossible until it's done."

(Nelson Mandela)

SANWACANA

Bismillahirrahmanirrahim, Puji syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala, karena berkat rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis diberikan kemudahan dan kelancaran dalam menjalankan perkuliahan, penelitian, dan menyelesaikan penulisan naskah skripsi dengan judul **“Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram”** yang merupakan bagian dari HETI Project Riset Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat menyelesaikan studi di Program Studi S1-Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi para pembaca.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi dapat memahami banyak hal mengenai dunia pekerjaan yang akan dilakukan penulis di masa depan. Hal ini dilakukan sebagai wujud pengaplikasian ilmu yang diterima penulis selama perkuliahan. Selain itu, skripsi dapat menjadi bentuk proses adaptasi bagi setiap mahasiswa dalam memahami dunia kerja yang sesungguhnya. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak terkait terlaksananya skripsi yaitu kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afrani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng, selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S. Si., M. Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S. Si., M. Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

4. Ibu Gina Dania Pratami, M. Si. selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Terapan Universitas Lampung.
5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M. Si. selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasihat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan saran dan dukungan kepada penulis.
7. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed. selaku dosen pembahas yang telah memberikan bimbingan, nasihat, saran, kritik, dan bantuan selama proses penyelesaian skripsi ini.
8. Ibu Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc. selaku dosen pembimbing akademik.
9. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung atas ilmu yang telah diberika kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk menggapai cita-cita.
10. Karyawan, staff dan laboran di lingkungan Jurusan Biologi dan FMIPA yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
11. Kedua orang tua, Bapak alm. Masono Saputra dan Ibu Heny Nugroho Ningsih, yang selalu menyebut nama saya dalam do'anya serta kasih sayang yang tiada henti sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
12. Puza Widiya Ningsih, Andila Agustina, Ghina Fathina Aufa Azhar, Syifa Fariha Nufus, Lisa Sunia, Natalia Rumondang, Devanka Salsabila Savira, sahabat seperjuangan skripsi yang telah mendukung dan memberi bantuan dalam menyelesaikan skripsi.
13. Akhmad Naufal Pratama, Cintia Maharani, Desi Chaesa Rani, Sheka Nidia, M. Irfan Amin Pratama, Damar Cahya Nugraha, M. Leo Fadhil, Dzaky Raihan Cahyadi, Luthfi Hidayah Susetya, sahabat yang telah memberi semangat dan menjadi tempat bekeluh kesah selama proses menyelesaikan skripsi.
14. Terakhir, kepada diri sendiri yang telah berjuang dan berusaha keras walaupun dalam proses penyusunan skripsi ini seringkali menghadapi cobaan dan masalah yang membuat penulis ingin menyerah dan putus asa

namun, terima kasih tetap bertahan sampai saat ini. Apapun kurang dan lebih mari merayakan diri sendiri.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Sedikit harapan dari penulis adalah semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Bandar Lampung, 28 Mei 2025

Penulis,

Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL	xviii
 I. PENDAHULUAN.....	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan	3
1.3. Kerangka pikir	3
1.4. Hipotesis	4
 II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
2.1. <i>Gracilaria</i> sp.	5
2.1.1. Klasifikasi dan Habitat	6
2.1.2. Kandungan Metabolit Sekunder <i>Gracilaria</i> sp.	6
2.1.3. Manfaat <i>Gracilaria</i> sp.	7
2.2. Metanol sebagai Pelarut dalam Ekstraksi	8
2.2.1. Sifat Metanol	8
2.2.2. Efektivitas Metanol dalam Ekstraksi.....	8
2.2.3. Keuntungan dan Kekurangan Penggunaan Metanol	9
2.3. Mekanisme Kerja Antibakteri dari <i>Gracilaria</i> sp.	10
2.3.1. Senyawa Antibakteri pada <i>Gracilaria</i> sp.	10
2.3.2. Pengaruh Ekstrak Metanol pada Gram Negatif.....	11
2.4. <i>Escherichia coli</i> sebagai Bakteri Uji.....	11

2.4.1. Karakteristik <i>Escherichia coli</i>	11
2.4.2. Patogenitas dan Dampak pada Kesehatan Manusia	12
2.4.3. Resistensi Antibiotik pada <i>E.coli</i>	13
III. METODE KERJA.....	14
3.1. Waktu dan Tempat.....	14
3.2. Alat dan Bahan.....	14
3.3. Rancangan Penelitian.....	14
3.4. Prosedur Kerja	15
3.4.1.Persiapan Ekstrak	15
3.4.1.1.Pengumpulan dan Persiapan Sampel.....	15
3.4.1.2.Pembuatan Simplisia	16
3.4.1.3.Metode Ekstraksi.....	16
3.4.1.4.Skrining Fitokimia.....	17
3.4.2.Persiapan Kultur Bakteri	18
3.4.2.1.Pembuatan Media Uji.....	18
3.4.2.2.Peremajaan Bakteri	19
3.4.3.Pembuatan Larutan Uji dan Kelompok Kontrol	19
3.4.4.Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan McFarland	19
3.4.5.Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram.....	20
3.4.6.Diameter Zona Hambat	20
3.5.Analisis Data	21
3.6.Diagram Alir Penelitian	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1. Hasil	23
4.1.1.Identifikasi Metabolit Sekunder <i>Gracilaria</i> sp.	23
4.1.2.Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp. terhadap <i>Eschericia coli</i>	25
4.2. Pembahasan.....	27
4.2.1.Analisis Metabolit Sekunder <i>Gracilaria</i> sp.	27
4.1.2.Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	30
IV. KESIMPULAN	30
5.1. Kesimpulan	30
5.2. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA.....	31
LAMPIRAN.....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Gracilaria</i> sp.	5
2. <i>Eschericia coli</i>	12
3. Skema Pengukuran Zona Hambat.....	20
4. Diagram Alir Penelitian	22
5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.	24
6. Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.	25
7. Surat Keterangan Hasil Determinasi <i>Gracilaria</i> sp.	37
8. Proses Pencucian <i>Gracilaria</i> sp.	38
9. Pengeringan <i>Gracilaria</i> sp.	38
10. Persiapan Simplisia <i>Gracilaria</i> sp.	38
11. Proses Maserasi Selama 3x24 Jam.....	38
12. Proses Penyaringan Ekstrak	38
13. Proses Evaporasi	38
14. Hasil Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.	39
15. Penimbangan Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.	39
16. Pembuatan Larutan Uji	39
17. Media MHA	39
18. Pemberian Tanda pada Cawan Petri	39
19. Biakan Bakteri <i>E.coli</i>	40

20. Kertas Cakram Steril	40
21. Pembuatan Standar Kekeruhan McFarland Menggunakan Spektrofotometer Portabel	40
22. Biakan Bakteri Diratakan Menggunakan Kapas Lidi Steril.....	40
23. Perendaman Kertas Uji Cakram pada Larutan Uji	40
24. Peletakkan Kertas Cakram pada Media yang Berisi Suspensi Bakteri <i>E.coli</i>	40
25. Inkubasi pada Suhu 37°C Selama 24 Jam	41
26. Pengukuran Diameter Zona Hambat Menggunakan Jangka Sorong	41

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Percobaan	15
2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.	23
3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.....	25
4. Hasil Uji One Way ANOVA.....	26
5. Hasil Uji Lanjut Tukey's <i>Honest Significant Difference</i> (HSD)	27
6. Deskriptif Statistik	41
7. Uji Homogenitas Varians	41
8. Uji lanjutan (post- hoc test) Tukey HSD	42
9. Homogenitas dari uji Tukey HSD	43

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sebagai negara maritim, Indonesia memiliki wilayah laut yang luas dengan kekayaan sumber daya hayati yang melimpah. Salah satu sumber daya laut yang bernilai tinggi dan berpotensi besar untuk dikembangkan adalah rumput laut. Alga laut diketahui memiliki berbagai manfaat, seperti sebagai antioksidan (Sanger dkk., 2013), antibakteri (Renhoran dkk., 2016; Dotulong dkk., 2013), serta sebagai antiperadangan, antidiabetes, antikanker, dan lainnya (Kim dkk., 2008; Chew dkk., 2008; Ganesan dkk., 2008). Berbagai jenis alga dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan fungsional yang mendukung kesehatan, karena mengandung senyawa kimia dengan aktivitas biologis atau zat bioaktif (Lantah dkk., 2017). *Gracilaria* sp., alga merah dari keluarga *Gracilariaceae*, dikenal karena kandungannya yang kaya akan metabolit sekunder dan manfaatnya dalam berbagai aplikasi industri dan Kesehatan (Soamole dkk., 2018).

Metabolit sekunder yang terkandung dalam rumput laut menunjukkan potensi sebagai penghasil berbagai senyawa, seperti alkaloid, kuinon, saponin, steroid, fenol, streptonoid, flavonoid, dan lainnya. Senyawa-senyawa ini memiliki beragam aktivitas, termasuk sebagai antibakteri, antivirus, antijamur, dan sitotoksik (Zainuddin dan Malina, 2009). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam rumput laut dapat diidentifikasi melalui pendekatan tertentu yang memberikan informasi mengenai keberadaan senyawa tersebut. Salah satu metode yang sering digunakan adalah uji fitokimia (Setyowati dkk., 2014). Pemanfaatan rumput laut kini mulai diarahkan untuk mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri, riketsia, virus, dan jamur patogen. Metabolit sekunder yang terdapat dalam rumput laut

diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat dan membunuh mikroorganisme yang berpotensi merugikan kesehatan. Saat ini, penggunaan bahan kimia, terutama antibiotik sintetis, semakin dihindari karena dampaknya yang merugikan, seperti pencemaran lingkungan, gangguan ekologi, dan akumulasi residu beracun. Selain itu, penggunaan antibiotik secara tidak bijaksana dapat memicu resistensi bakteri patogen akibat transfer gen yang bersifat karsinogenik. Sebagai alternatif, antibiotik alami yang umumnya berasal dari metabolit sekunder tumbuhan, termasuk rumput laut, menjadi solusi yang lebih ramah lingkungan dan efektif sebagai bahan obat (Delattre dkk., 2005).

Masalah resistensi dan infeksi bakteri patogen yang semakin meningkat menjadi tantangan di dunia saat ini, sehingga pencarian alternatif senyawa obat baru menjadi sangat penting. Salah satu sumber potensial antibakteri alami adalah metabolit sekunder yang terdapat dalam rumput laut. Untuk itu, dilakukan identifikasi senyawa antibakteri yang sebagian besar merupakan metabolit sekunder tanaman. Contoh senyawa ini termasuk golongan fenolik, seperti guaiakol, vanilin, dan kresol, serta golongan terpen, seperti sitral, pinen, dan geraniol yang biasanya ditemukan dalam minyak atsiri. Metabolit sekunder ini umumnya dibiosintesis dari metabolit primer, seperti asam amino, asetil-KoA, asam mevalonat, dan metabolit perantara lainnya. Selain itu, senyawa antimikroba alami dari tanaman meliputi fitoaleksin, asam organik, minyak atsiri, senyawa fenolik, serta berbagai pigmen atau senyawa serupa yang mendukung aktivitas antimikroba (Nychas dan Tassou, 2000).

Escherichia coli umumnya merupakan bakteri yang tidak berbahaya dan hidup secara alami di saluran pencernaan manusia. Namun, jika *E. coli* non-patogen memperoleh gen virulensi dari mikroorganisme lain melalui mekanisme transfer gen, seperti transformasi, konjugasi plasmid, atau transduksi oleh bakteriofag, bakteri ini dapat berubah menjadi patogen. Infeksi yang disebabkan oleh *E. coli* patogen bervariasi tergantung pada sifat virulensi dan mekanisme patogenesis yang dimilikinya. *Escherichia coli* dipilih sebagai bakteri uji karena kemampuannya yang unik dalam mengakuisisi gen virulensi melalui mekanisme genetik, seperti konjugasi, transformasi, dan transduksi. Mekanisme ini memungkinkan *E. coli* berubah dari bakteri komensal menjadi patogen yang

berbahaya. Bakteri ini memiliki beragam patotipe patogen, seperti Enterotoksigenik *E. coli*, Enteropatogenik *E. coli*, Enterohemoragik *E. coli*, Enteroinvasif *E. coli*, Enteroagregatif *E. coli*, dan Difusi Adheren *E. coli*, yang masing-masing dilengkapi gen virulensi spesifik. Contohnya, gen intimin mendukung pelekatan pada Enteropatogenik *E. coli* dan Enterohemoragik *E. coli*, toksin LT/ST menyebabkan diare pada Enterotoksigenik *E. coli*, serta gen plasmid invasi memungkinkan penetrasi seluler pada Enteroinvasif *E. coli* (Rahayu, 2018).

Keanekaragaman patotipe ini menjadikan *E. coli* model ideal dalam studi patogenik karena bakteri ini mampu menginfeksi berbagai target dalam tubuh manusia, seperti saluran pencernaan hingga sistem kekebalan tubuh, tergantung pada patotipenya. Selain itu, *E. coli* juga digunakan sebagai indikator kontaminasi feses dan resistensi antibiotik, yang penting dalam penelitian antimikroba. Faktor virulensi dan adaptabilitasnya memberikan tantangan yang kompleks, sehingga *E. coli* menjadi pilihan utama dalam menguji potensi senyawa antibakteri baru untuk melawan infeksi bakteri patogen yang resisten dan adaptif (Rahayu, 2018).

1.2 Tujuan

Berdasarkan uraian permasalahan latar belakang di atas, tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder *Gracilaria* sp. yang berada di Kabupaten Serang, Banten melalui uji fitokimia.
2. Menentukan potensi aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram.

1.3 Kerangka Pikir

Gracilaria sp. adalah jenis rumput laut yang dikenal memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah sebagai sumber metabolit sekunder yang bermanfaat untuk kesehatan. Senyawa-senyawa ini, seperti antioksidan dan antimikroba, dapat diekstraksi menggunakan berbagai pelarut, tergantung pada jenis senyawa yang ingin diambil. Penggunaan pelarut seperti metanol dan etil asetat membantu menarik senyawa tertentu dari *Gracilaria* sp. yang mungkin efektif melawan bakteri seperti *E. coli*. Dengan menguji ekstrak rumput laut ini, kita bisa

mengetahui seberapa kuat aktivitas antibakteri yang dimiliki *Gracilaria* sp. dan zat apa yang membuatnya efektif dalam membunuh bakteri.

Infeksi bakteri *Escherichia coli* adalah masalah kesehatan yang sering terjadi karena bisa menyebabkan penyakit seperti infeksi saluran kemih dan diare. Penggunaan antibiotik yang terus menerus untuk mengatasi infeksi ini telah membuat bakteri semakin kebal terhadap obat, sehingga kita butuh alternatif pengobatan baru yang lebih aman dan efektif. Rumput laut merah, *Gracilaria* sp., diketahui memiliki potensi sebagai sumber zat-zat aktif yang bisa membunuh bakteri. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa berbagai jenis rumput laut, termasuk *Gracilaria* sp., mengandung senyawa seperti fenol, flavonoid, dan terpenoid yang bisa menjadi agen antibakteri yang kuat.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna dalam pengembangan agen antibakteri baru dari bahan alami, khususnya dari alga *Gracilaria* sp. Penelitian ini dapat berkontribusi dalam pengembangan metode ekstraksi yang lebih efektif dan efisien untuk memperoleh metabolit sekunder dari alga. Dengan demikian, potensi *Gracilaria* sp. sebagai sumber bahan antibakteri alami dapat lebih dieksplorasi dan dimanfaatkan, baik dalam bidang kesehatan maupun industri farmasi.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah.

Ekstrak metanol *Gracilaria* sp. yang berasal dari Kabupaten Serang, Banten memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang ditunjukkan melalui pengukuran zona hambat dengan metode difusi cakram.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Gracilaria* sp.

Rumput laut adalah tumbuhan laut yang biasa dikenal sebagai *algae*, yang tidak dapat membedakan antara akar, daun, dan batang, sehingga seluruh tubuhnya disebut *thallus*. Terdapat beberapa spesies rumput laut, termasuk *Chlorophyceae* (alga hijau), *Rhodophyceae* (alga merah), dan *Phaeophyceae* (alga cokelat), yang merupakan salah satu komoditas ekspor laut yang sangat menjanjikan bagi perekonomian Indonesia. *Gracilaria* sp. adalah salah satu jenis alga merah. *Gracilaria* sp. termasuk dalam kelas alga merah (*Rhodophyta*) dengan nama daerah yang bermacam-macam: sango-sango, rambu kasang, janggut dayung, dongidongi, bulung embulung, agar-agar karang, agar-agar jahe, blung sangu, dan lain-lain. Rumput laut marga ini memiliki banyak jenis dengan sifat-sifat morfologi dan anatomi berbeda-beda seperti: *Gracilaria confervoides*, *Gracilaria gigas*, *Gracilaria lichenoides*, *Gracilaria crasa*, *Gracilaria blodgettii*, *Gracilaria arcuta*, *Gracilaria taenioides*, *Gracilaria eucheumoides*, dan banyak lagi. Beberapa ahli menduga bahwa rumput laut marga *Gracilaria* memiliki jenis yang paling banyak dibandingkan dengan rumput laut marga lainnya (Julianto dan Badrudin, 2014). Berikut adalah morfologi dari *Gracilaria* sp. yang ditunjukkan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. *Gracilaria* sp.

Sumber : Dokumentasi Pribadi

2.1.1 Klasifikasi dan Habitat *Gracilaria* sp.

Gracilaria sp. termasuk dalam kelas *Rhodophyceae* (alga merah) dan tersebar luas di berbagai perairan tropis serta subtropis. Alga ini tumbuh di habitat pesisir, terutama di zona intertidal dan subtidal, melekat pada substrat keras seperti batu karang atau buatan manusia. Kemampuannya beradaptasi terhadap perubahan kondisi lingkungan seperti suhu, salinitas, dan intensitas cahaya memungkinkan *Gracilaria* sp. berkembang baik dalam berbagai ekosistem laut (Rizki, 2023). Berikut adalah klasifikasi rumput laut merah *Gracilaria* sp.

Kerajaan : Plantae
 Divisi : Rhodophyta
 Kelas : Florideophyceae
 Bangsa : Gracilariales
 Suku : Gracilariaceae
 Marga : *Gracilaria*
 Jenis : *Gracilaria* sp. (Prescott, 1954)

Gracilaria sp. ditemukan di berbagai habitat pesisir di seluruh dunia, terutama di perairan tropis dan subtropis. Alga ini umumnya tumbuh di zona intertidal dan subtidal, menempel pada substrat keras seperti batu, karang, atau substrat buatan. *Gracilaria* sp. dapat beradaptasi dengan baik terhadap variasi kondisi lingkungan, termasuk perubahan suhu, salinitas, dan pencahayaan, yang memungkinkan alga ini menyebar luas di ekosistem pesisir. Habitat yang bervariasi dari *Gracilaria* sp. berkontribusi pada perannya dalam ekosistem laut sebagai penyedia habitat penting bagi berbagai organisme laut dan sebagai sumber daya yang berharga untuk industri agar dan penelitian bioteknologi (Widiastuti, 2024).

2.1.2 Kandungan Metabolit Sekunder *Gracilaria* sp.

Gracilaria sp. mengandung berbagai metabolit sekunder yang memberikan potensi terapeutik dan aplikasi industri yang signifikan. Alga ini kaya akan polisakarida seperti agar dan karagenan, yang

memiliki aktivitas gelifikasi yang penting dalam industri makanan dan farmasi. Selain polisakarida, *Gracilaria* sp. juga mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid, yang memiliki sifat antioksidan, antibakteri, dan antitumor. Senyawa-senyawa ini berkontribusi pada potensi terapeutik alga ini dan membuatnya menarik untuk pengembangan produk kesehatan dan kosmetik (Samole dkk., 2018).

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Gracilaria* sp. juga mengandung lipid dan pigmen karotenoid, seperti beta-karoten, yang memiliki potensi sebagai anti-inflamasi dan imunomodulator. Senyawa ini dapat berfungsi sebagai alternatif alami untuk produk sintetik dalam terapi nutrisi dan kesehatan. Studi juga mencatat bahwa *Gracilaria* sp. memiliki kemampuan untuk memproduksi metabolit sekunder yang stabil bahkan dalam kondisi ekstraksi yang berbeda, menjadikannya kandidat ideal untuk formulasi farmasi dan kosmetik. Potensi metabolit sekunder ini membuka peluang untuk penelitian lebih lanjut dan pengembangan aplikasi baru dalam bidang kesehatan dan bioteknologi (Firdaus dkk., 2024).

2.1.3 Manfaat *Gracilaria* sp.

Gracilaria sp. memiliki berbagai manfaat yang penting baik untuk industri maupun kesehatan manusia. Dalam industri, *Gracilaria* sp. dikenal karena kandungan agar dan karagenan yang digunakan sebagai bahan pengental dan pembentuk gel dalam produk makanan, kosmetik, dan farmasi. Selain itu, alga ini memiliki potensi sebagai sumber bahan aktif dalam pengembangan produk kesehatan, termasuk sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Metabolit sekunder yang ditemukan dalam *Gracilaria* sp., seperti polisakarida, flavonoid, dan terpenoid, memberikan manfaat terapeutik yang signifikan dan dapat digunakan dalam formulasi obat dan suplemen kesehatan (Sari dan Kurniawan, 2021).

Di sektor lingkungan, *Gracilaria* sp. berfungsi sebagai bioindikator kualitas air dan berperan dalam restorasi habitat pesisir dengan memberikan substrat untuk organisme laut. Alga ini juga berkontribusi pada peningkatan kualitas air melalui proses biofiltrasi, yang membantu mengurangi konsentrasi nutrisi berlebih dan polutan. Dengan berbagai manfaat ini, *Gracilaria* sp. menjadi bahan yang berharga dalam aplikasi industri, kesehatan, dan lingkungan, serta menawarkan peluang untuk penelitian lebih lanjut dalam bidang bioteknologi dan ekologi (Insani dkk., 2022).

2.2 Metanol sebagai Pelarut dalam Ekstraksi

Metanol adalah pelarut yang sangat efektif dalam ekstraksi karena kemampuannya untuk melarutkan berbagai senyawa polar dan non-polar, termasuk senyawa fenolik dan flavonoid. Penggunaan metanol dalam ekstraksi sering menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi tinggi dari metabolit sekunder, karena metanol mampu menembus sel dan memecah struktur dinding sel tanaman. Selain itu, metanol mudah diuapkan, yang mempermudah pemulihan dan konsentrasi ekstrak tanpa residu pelarut yang signifikan. Keunggulan ini menjadikan metanol sebagai pilihan populer dalam penelitian dan industri ekstraksi untuk menghasilkan produk berkualitas tinggi dengan efisiensi tinggi (Sumihe dkk., 2014).

2.2.1 Sifat Metanol

Metanol, atau alkohol metil, memiliki sifat fisik dan kimia yang menjadikannya pelarut yang efektif dalam berbagai aplikasi. Metanol adalah cairan yang tidak berwarna, mudah menguap, dan memiliki titik didih relatif rendah sekitar 64,7°C, yang memudahkan penguapan setelah proses ekstraksi. Selain itu, metanol memiliki kemampuan larut yang baik untuk senyawa polar dan non-polar, berkat sifat polaritasnya dan kemampuannya membentuk ikatan hidrogen. Sifat-sifat ini menjadikan metanol sebagai pelarut utama dalam ekstraksi, sintesis kimia, dan berbagai proses industri (Agustina dkk., 2018).

2.2.2 Efektivitas Metanol dalam ekstraksi

Metanol dikenal sebagai pelarut yang sangat efektif dalam ekstraksi karena kemampuannya untuk melarutkan berbagai senyawa organik, baik polar maupun non-polar, termasuk metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, dan alkaloid. Keefektifan metanol dalam ekstraksi disebabkan oleh polaritasnya yang tinggi, memungkinkan penetrasi dan pelarutan komponen aktif dari matriks tanaman. Metanol juga memiliki titik didih rendah, yang memudahkan proses evaporasi setelah ekstraksi dan mengurangi residu pelarut dalam produk akhir. Penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metanol sering menghasilkan konsentrasi metabolit sekunder yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lain, menjadikannya pilihan utama dalam penelitian dan aplikasi industri (Moulana dkk., 2012)

2.2.3 Keuntungan dan kekurangan penggunaan metanol

Penggunaan metanol sebagai pelarut dalam ekstraksi menawarkan beberapa keuntungan signifikan, termasuk kemampuannya untuk melarutkan berbagai senyawa organik baik polar maupun non-polar, yang meningkatkan efisiensi ekstraksi metabolit sekunder dari bahan tanaman. Metanol memiliki titik didih rendah, sekitar $64,7^{\circ}\text{C}$, yang memfasilitasi proses pemisahan dan penguapan, sehingga memudahkan pemulihan ekstrak tanpa residu pelarut yang signifikan. Selain itu, metanol relatif murah dan mudah didapat, menjadikannya pilihan ekonomis untuk aplikasi ekstraksi skala besar dan penelitian laboratorium. Keuntungan lainnya adalah bahwa metanol dapat dihapus dengan mudah melalui proses evaporasi, mengurangi kemungkinan kontaminasi produk akhir dengan pelarut (Salamah dan Widyasari, 2015).

Penggunaan metanol sebagai pelarut dalam ekstraksi memiliki beberapa kekurangan yang perlu diperhatikan. Metanol adalah pelarut yang bersifat toksik, sehingga paparan atau kontaminasi dengan

metanol dapat menyebabkan efek kesehatan yang berbahaya, termasuk keracunan dan iritasi pada sistem pernapasan dan pencernaan. Selain itu, meskipun metanol dapat menguap dengan mudah, proses penguapan yang tidak lengkap atau penggunaan metanol dalam konsentrasi tinggi dapat meninggalkan residu pelarut yang berpotensi mengkontaminasi produk akhir. Penggunaan metanol juga memerlukan peralatan yang khusus dan tindakan keamanan ekstra untuk menghindari kebocoran dan paparan, yang dapat meningkatkan biaya operasional dan kompleksitas proses ekstraksi. Akibatnya, penggunaan metanol memerlukan manajemen risiko yang hati-hati dan pelatihan khusus bagi operator (Ariyani dkk., 2017).

2.3 Mekanisme Kerja Antibakteri dari *Gracilaria* sp.

Senyawa alami memiliki berbagai mekanisme kerja antibakteri yang bermanfaat dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Salah satu mekanisme utama adalah penghambatan sintesis dinding sel bakteri, di mana senyawa seperti flavonoid dan tanin mengganggu pembentukan peptidoglikan, komponen kunci dari dinding sel bakteri Gram positif. Metabolit sekunder juga dapat menembus membran sel bakteri dan merusak struktur membran, menyebabkan kebocoran seluler dan kematian bakteri. Selain itu, beberapa senyawa alami berfungsi sebagai penghambat enzim penting dalam metabolisme bakteri, seperti enzim DNA gyrase atau RNA polymerase, yang menghambat sintesis DNA atau RNA. Selain itu, senyawa alami seperti minyak esensial memiliki aktivitas antibakteri melalui pembentukan radikal bebas yang merusak komponen seluler dan menyebabkan stres oksidatif pada bakteri (Zulkarnain dkk., 2021).

2.3.1 Senyawa Antibakteri pada *Gracilaria* sp.

Gracilaria sp. mengandung berbagai metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri yang signifikan. Polisakarida seperti agar dan karagenan, yang merupakan komponen utama dari *Gracilaria* sp., telah terbukti memiliki sifat antibakteri terhadap beberapa patogen, termasuk bakteri Gram positif dan Gram negatif. Selain polisakarida, *Gracilaria* sp. juga mengandung senyawa

fenolik dan flavonoid, yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme penghambatan sintesis protein dan kerusakan membran sel bakteri. Terpenoid dan sterol yang ditemukan dalam ekstrak *Gracilaria* sp. juga berkontribusi pada aktivitas antibakteri, dengan cara merusak membran sel dan mengganggu fungsi metabolik bakteri. Penelitian menunjukkan bahwa kombinasi senyawa ini memberikan potensi terapeutik yang tinggi dalam pengembangan produk antibakteri berbasis alga (Toy dkk., 2015).

2.3.2 Pengaruh Ekstrak Metanol pada Bakteri Gram Negatif

Ekstrak metanol dikenal efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif karena kemampuannya melarutkan metabolit sekunder yang dapat menargetkan komponen-komponen seluler bakteri tersebut. Metanol mampu mengekstraksi senyawa seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian menunjukkan bahwa senyawa fenolik dalam ekstrak metanol dapat merusak membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran isi sel dan kematian bakteri. Selain itu, metanol juga efektif dalam mengisolasi senyawa yang menghambat enzim-enzim penting dalam metabolisme bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri Gram negatif (Iien dkk., 2020).

2.4 *Escherichia coli* sebagai Bakteri Uji

Escherichia coli adalah salah satu bakteri Gram negatif yang sering digunakan sebagai bakteri uji dalam penelitian mikrobiologi karena kemudahan dalam kultur dan karakteristik patogeniknya yang luas. *E. coli* dapat menunjukkan berbagai respons terhadap pengobatan dan pengujian antibakteri, membuatnya menjadi model yang berguna untuk mengukur efektivitas senyawa antimikroba dan antibiotik. Bakteri ini juga sering digunakan untuk menilai aktivitas antibakteri ekstrak tanaman dan metabolit sekunder karena kemampuannya untuk membentuk zona hambat yang jelas dalam uji difusi cakram. Selain itu, *E. coli* memiliki variasi strain yang mempengaruhi hasil uji, sehingga pemilihan strain yang tepat sangat penting untuk mendapatkan hasil yang akurat dan dapat diandalkan (Khusuma dkk., 2019).

2.4.1 Karakteristik *E.coli*

Escherichia coli adalah salah satu bakteri Gram negatif yang dapat menyebabkan patogen, penyakit yang paling umum ditimbulkan yaitu diare (Rusadi dan Setyaningrum, 2022). Bakteri ini memiliki struktur dinding sel yang terdiri dari lapisan tipis peptidoglikan yang dikelilingi oleh membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS), yang berkontribusi pada virulensi dan resistensi terhadap beberapa antibiotik. *E. coli* dapat tumbuh baik dalam kondisi aerobik maupun anaerobik, dan umumnya mengembangkan koloni bulat, krem, dan tidak berwarna pada media agar nutrisi. Bakteri ini dikenal memiliki beberapa strain, termasuk patogen seperti *E. coli* O157 yang dapat menyebabkan penyakit *gastrointestinal* serius, serta strain *non-patogen* yang sering digunakan sebagai model organisme dalam penelitian mikrobiologi. Selain itu, *E. coli* memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm, yang berkontribusi pada infeksi kronis dan kolonisasi permukaan medis (Genisa dan Auliandari, 2018). Berikut adalah klasifikasi bakteri *Escherichia coli*.

Kerajaan : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

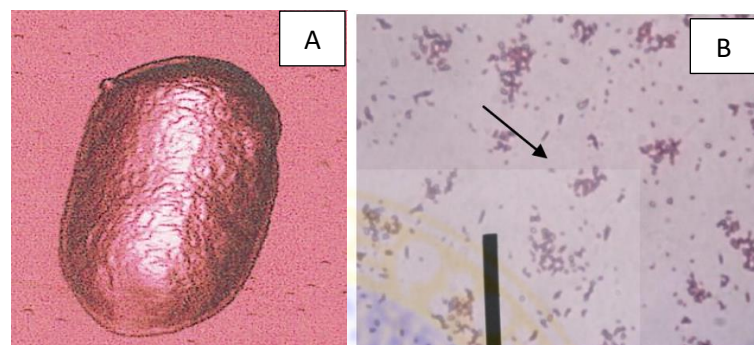
Ordo : Eubacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Kuswiyanto, 2014).

Selengkapnya disajikan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. a. Morfologi *E. coli* skala 500 nm (Braga dan Ricci, 1998)

b. koloni *Escherichia coli* dibawah mikroskop perbesaran 100x10 (Marosa, 2012).

2.4.2 Patogenitas dan Dampak pada Kesehatan Manusia

Escherichia coli adalah salah satu patogen utama yang dapat menyebabkan berbagai infeksi dan gangguan kesehatan pada manusia. Beberapa strain patogenik seperti *E. coli* O157 dapat menghasilkan toksin shiga, yang menyebabkan diare berdarah, sindrom *hemolitik-uremik* (HUS), dan gagal ginjal akut. Selain itu, *E. coli* juga dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK), yang sering terjadi pada wanita dan dapat mengakibatkan nyeri, demam, dan komplikasi lebih lanjut seperti pielonefritis jika tidak diobati dengan tepat. Strain-strain patogenik seperti *E. coli enteropatogenik* (EPEC) dan *E. coli enterotoksigenik* (ETEC) dapat menyebabkan gastroenteritis dengan gejala mual, muntah, dan diare, terutama di negara-negara dengan sanitasi yang buruk. Patogenitas *E. coli* terkait erat dengan kemampuannya untuk membentuk biofilm dan resistensi terhadap berbagai antibiotik, yang mempersulit pengobatan dan meningkatkan risiko infeksi kronis (Rahayu, 2018).

2.4.3 Resistensi Antibiotik pada *E.coli*

Escherichia coli mengalami peningkatan signifikan dalam resistensi antibiotik, menjadikannya salah satu patogen utama dalam infeksi nosokomial dan komunitas. Resistensi antibiotik pada *E. coli* sering kali disebabkan oleh produksi enzim-enzim pengurai seperti *beta-laktamase* spektrum luas (ESBL) dan *carbapenemase*, yang dapat memecah dan menonaktifkan banyak antibiotik, termasuk *cephalosporins* dan *carbapenems*. Peningkatan resistensi ini sering dipengaruhi oleh penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak tepat, serta transfer gen resistensi melalui plasmid dan transposon. Resistensi terhadap antibiotik seperti *fluoroquinolones* dan *aminoglycosides* juga melibatkan mutasi pada target enzim dan pompa *efflux* yang mengeluarkan antibiotik dari dalam sel bakteri. Pengelolaan resistensi antibiotik memerlukan strategi yang

komprehensif, termasuk pengawasan ketat terhadap penggunaan antibiotik dan pengembangan alternatif terapeutik (Januari dkk., 2019).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dan Laboratorium Mikrobiologi UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung, pada bulan Desember 2024 sampai bulan Januari 2025.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tabung reaksi, pipet tetes, erlenmeyer, hot plate, magnetic stirrer, autoklaf, jarum ose, kapas lidi steril, cawan petri, pinset steril, kertas cakram, incubator, laminar air flow, bunsen, dan jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *E.coli* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung, *Gracilaria* sp., HCl, reagen Mayer Wagner, reagen Dragendrof, NaOH, akuades steril, alcohol 70%, pelarut methanol, FeCl 3%, medium TSA dan TSB, medium MHA, *ciprofloxacin* sebagai kontrol positif dan akuades steril sebagai kontrol negatif.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Konsentrasi ekstrak *Gracilaria* sp. yang digunakan yaitu 0,05%, 1%, 5%, dan 10% serta kontrol positif menggunakan *ciprofloxacin*, kontrol negatif menggunakan aquades steril. Terdapat 4 perlakuan uji yang akan

dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi diulang sebanyak tiga kali pengulangan. Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Penguji dilakukan dengan cakram-cakram yang telah dibasahi ekstrak ditempatkan di atas permukaan media TSB yang telah diinokulasi dengan *E. coli* menggunakan pinset steril. Jarak antar cakram sekitar 2-3 cm agar tidak terjadi tumpang tindih zona hambat. Metode uji antibakteri *Gracilaria* sp. Terhadap bakteri *E.coli* dilakukan dengan modifikasi dari metode (Melki dan Ayu, 2011). dengan rincian tata letak sebagai berikut.

Tabel 1. Tata letak percobaan

Ulangan	K1 (Kontrol Negatif)	K2 (Kontrol Positif)	P1 (10 %)	P2 (5 %)	P3 (1 %)	P4 (0,05%)
1	K1	K2	P1	P2	P3	P4
2	K1	K2	P1	P2	P3	P4
3	K1	K2	P1	P2	P3	P4

Keterangan :

K1 : Larutan akuades steril

K2 : 1 ml larutan ciprofloxacin + 10 ml akuades steril

P1 : ekstrak methanol *Gracilaria* sp. 1 mg + 9 ml akuades steril

P2 : ekstrak methanol *Gracilaria* sp. 0,5 mg + 9,5 ml akuades steril

P3 : ekstrak methanol *Gracilaria* sp. 01 mg + 9,9 ml akuades steril

P4 : ekstrak methanol *Gracilaria* sp. 5 µg + 9,995 ml akuades steril

3.4 Prosedur Kerja

Adapun prosedur kerja yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah

3.4.1 Persiapan Ekstrak

3.4.1.1 Pengumpulan dan Persiapan Sampel

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Gracilaria* sp. yang didapatkan dari Desa Wanayasa, Kecamatan Kramtatwatu, Kabupaten Serang, Banten, Indonesia. *Gracilaria* sp.

dikumpulkan dari lokasi perairan yang terkontrol untuk memastikan kualitas dan menghindari kontaminasi.

3.4.1.2 Pembuatan Simplisia

Proses pembuatan simplisia melibatkan beberapa tahapan, yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, penghalusan, dan penyaringan. Tahap pertama dimulai dengan pengumpulan rumput laut *Gracilaria* sp. Sortasi basah untuk memisahkan bahan asing yang tidak diinginkan atau berbahaya, seperti kerang pasir. Setelah itu, sekitar 100 kg rumput laut dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Tahap berikutnya adalah pengeringan, di mana rumput laut dijemur di bawah sinar matahari dengan penutup kain hitam atau waring guna melindungi kandungan kimia dalam daun dari kerusakan akibat paparan sinar matahari langsung. Rumput laut disortasi kering, dihaluskan menggunakan blender, dan diayak. (Putri dkk., 2023).

3.4.1.3 Metode Ekstraksi

Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Serbuk simplisia dan pelarut metanol digunakan dengan perbandingan 1:10. Sebanyak 600 gram *Gracilaria* sp. dimaserasi dengan total 3 liter pelarut, dibagi menjadi 1 liter setiap hari. Simplisia dimasukkan ke dalam maserator kaca, ditambahkan pelarut hingga terendam, diaduk menggunakan shaker selama 3 jam, dan didiamkan 24 jam. Filtrat disaring, dan ampas dimaserasi ulang dengan pelarut baru. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu maksimum 50°C, kemudian dikentalkan dengan waterbath. (Winata dkk., 2023)

3.4.1.4 Skrining Fitokimia

a. Analisis Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak methanol *Gracilaria* sp. ditempatkan pada tabung reaksi. Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi H_2SO_4 pekat. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna jingga (Tyagi, 2017).

b. Uji Terpenoid

Sebanyak 2 ml sampel ditempatkan pada tabung reaksi. Sampel ditambahkan dengan 1 ml pereaksi Liebermann-Burchard. Hasil positif steroid ditunjukkan dengan terbentuknya perubahan warna hijau kebiruan sedangkan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet menunjukkan positif triterpenoid (Simaremare, 2014)

c. Uji Polifenol

Ekstrak methanol *Gracilaria* sp. ditimbang sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dipanaskan dengan akuades steril sebanyak 10 dalam penangas air sampai mendidih, menyaring dalam keadaan panas dan kemudian setelah dingin ditambahkan $FeCl_3$. Jika terjadi warna hijau-biru menunjukkan adanya polifenol (Lanipi dkk, 2022).

d. Uji Tanin

Ekstrak *Gracilaria* sp. ditimbang sebanyak 0,5 g dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 20 ml aquadest setelah itu dipanaskan di atas penangas air, kemudian menambahkan larutan $NaCl$ 10% sebanyak 3 tetes dan direaksikan dengan larutan $FeCl_3$, bila terbentuk warna biru hitam menandakan positif adanya tanin (Lanipi dkk, 2022).

e. Uji Saponin

Ekstrak methanol *Gracilaria* sp. ditimbang sebanyak 0,5 g ke dalam tabung reaksi, lalu menambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian di kocok kuat-kuat selama 10 detik. Terbentuknya busa yang menetap selama tidak kurang dari 10 menit, kemudian dilanjutkan dengan menambahkan 2 tetes asam

klorida N, jika busa tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin (Lanipi dkk, 2022).

f. Uji Alkaloid

Ekstrak methanol *Gracilaria* sp. dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan yang didapat kemudian dibagi 3 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendroff sebanyak 3 tetes, dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Jones dan Kinghorn, 2006).

g. Uji Steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol spons diambil dan ditambahkan dengan 2 mL kloroform. Setelah itu campuran dikocok. Kemudian filtrat ditambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat masing-masing sebanyak 2 tetes. Reaksi positif ditunjukkan pada perubahan warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau (Rumagit, 2015).

3.4.2 Persiapan Kultur Bakteri

3.4.2.1 Pembuatan Media Uji

Sebanyak 10 gram bubuk TSA dan 7,5 gram bubuk TSB dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Masing-masing dilarutkan dengan menambahkan 250 ml aquades. Larutan kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* sambil dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit (Melki dan Ayu, 2011).

3.4.2.2 Peremajaan Bakteri

Biakan bakteri *E. coli* sebanyak satu ose diinokulasikan secara aseptis ke dalam medium agar miring TSA dengan meletakkan

jarum ose pada dasar kemiringan agar, kemudian ditarik dengan gerakan zig-zag. Bakteri *E. coli* sebanyak dua ose diinokulasikan ke dalam medium TSB yang terpisah. Masing-masing medium diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. (Melki dan Ayu, 2011).

3.4.3 Pembuatan Larutan Uji & Kelompok Kontrol

Larutan uji ekstrak metanol *Gracilaria* sp. dibuat dengan empat seri konsentrasi: 10 %, 5 %, 1 %, dan 0,05 %. Untuk mendapatkan konsentrasi 10 %, 1 mg ekstrak metanol dilarutkan dalam 9 mL aquades steril. Larutan 10 % diencerkan secara bertahap untuk memperoleh konsentrasi 5 %, 1 %, dan 0,05 %. Untuk larutan 5 %, 0,5 mg ekstrak dilarutkan dalam 9,5 mL aquades steril. Larutan 1 % dibuat dengan melarutkan 0,1 mg ekstrak dalam 9,9 mL aquades steril, sedangkan larutan 0,05% dibuat dengan melarutkan 5 µL ekstrak dalam 9,995 mL aquades steril.

Larutan kontrol positif dibuat dari satu tablet *ciprofloxacin* 500 mg yang digerus, ditimbang 65 mg, dan dilarutkan dalam 50 mL aquades. Dari larutan ini, 1 mL diambil dan ditambahkan aquades hingga 10 mL untuk memperoleh larutan *ciprofloxacin* 5 µg/50 µL. Larutan kontrol negatif menggunakan aquades steril. (Wangkanusa, 2016).

3.4.4 Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan McFarland

Larutan baku McFarland terdiri atas dua komponen, yaitu larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Sebanyak 0,05 mL larutan BaCl₂ 1% dicampurkan dengan 9,95 mL larutan H₂SO₄ 1% dan dikocok hingga homogen. Nilai absorban larutan baku McFarland 0,5 ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi 1,5 x 10⁸ CFU/mL (Toy dan Hutagalung, 2015).

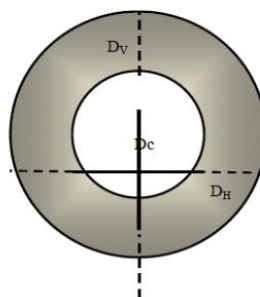
3.4.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

Suspensi yang telah sesuai dengan standar McFarland dituangkan sebanyak 1 mL ke dalam cawan petri yang berisi media uji MHA (Mueller Hinton Agar) (Rhimou dkk, 2010). Biakan bakteri diratakan menggunakan kapas

lidi steril agar suspensi tersebar merata pada media dan didiamkan selama 10 menit agar suspensi terserap. Kemudian, satu buah kertas cakram berdiameter 6 mm diletakkan di dalam cawan petri menggunakan pinset steril. Kertas cakram tersebut sebelumnya dicelupkan ke dalam setiap konsentrasi ekstrak *Gracilaria* sp. selama 10–15 menit. Semua media kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam (Putri dkk., 2023).

3.4.6 Diameter Zona Hambat

Pengamatan pada media dilakukan setelah 24 jam pada masa inkubasi. Diameter zona hambat atau zona bening yang disekitar kertas cakram merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan diameter zona hambat. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur dengan diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong (Toy dkk., 2015). Selengkapnya disajikan pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Skema Pengukuran Zona Hambat (Toy dkk., 2015)

Diameter zona hambat diukur dengan rumus :

$$\frac{Dv - Dc + Dh - Dc}{2}$$

Keterangan :

Dv : Diameter vertikal

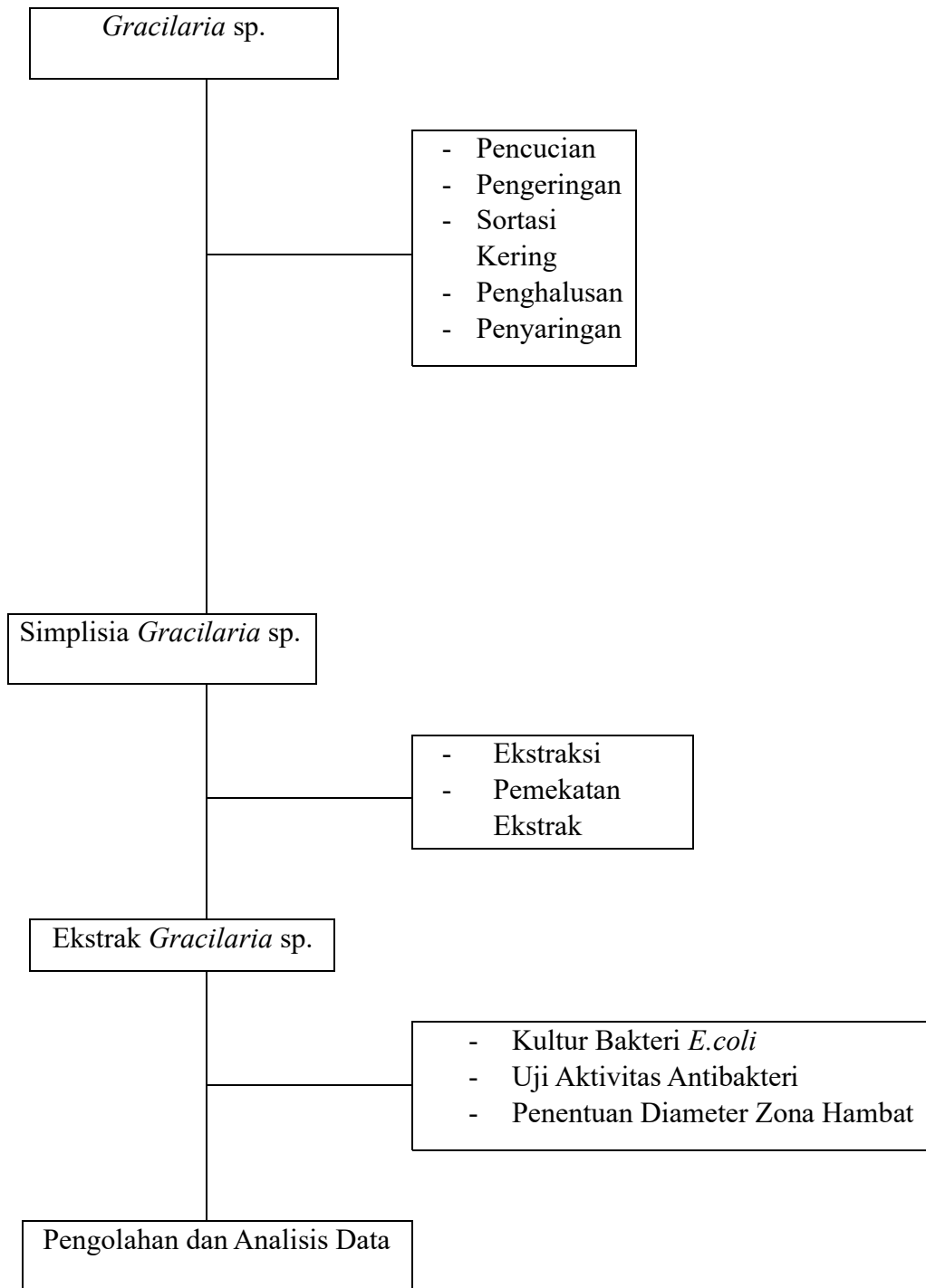
Dh : Diameter horisontal

Dc : Diameter cakram

3.5 Analisis Data

Data dalam penelitian ini dianalisis menggunakan uji *One-Way* ANOVA untuk mengetahui perbedaan signifikan antara berbagai konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. (0,05%, 1%, 5%, dan 10%) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Jika hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), maka dilakukan uji lanjut Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*) untuk menentukan kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan nyata satu sama lain. Analisis ini bertujuan untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan antar masing-masing konsentrasi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

3.6 Diagram Alir Penelitian



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria* sp. mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, polifenol, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid, yang berpotensi sebagai antibakteri.
2. Ekstrak metanol *Gracilaria* sp. memiliki potensi yang lemah sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*, karena zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi tertinggi (10% dan 5%) hanya mencapai rata-rata (0,075 mm, jauh lebih kecil dibandingkan kontrol positif (1,7 mm).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, beberapa saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Meningkatkan konsentrasi ekstrak untuk mengamati potensi aktivitas antibakteri yang lebih kuat.
2. Melakukan analisis lanjutan menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) untuk mengenali gugus fungsi metabolit sekunder serta *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengetahui profil senyawa kimia dalam ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., Lusiana, N., Purnamasari, R., dan Hadi, M. I. 2018. Identifikasi senyawa aktif dari ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dengan perbandingan beberapa pelarut pada metode maserasi. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 2(2), 108-118.
- Anggadiredja, J.T. 2006. *Rumput Laut*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Arifin, Z.. 2022. Potential of saponins as antimicrobial and antibiofilm agents. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(1), 1–7.
- Ariyani, F., Setiawan, L. E., dan Soetaredjo, F. E. 2017. Ekstraksi minyak atsiri dari tanaman sereh dengan menggunakan pelarut metanol, aseton, dan n-heksana. *Widya teknik*, 7(2), 124-133.
- Azwanida, N.N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation, *Medicinal & Aromatic Plants*, 04 (03) : 3–8.
- Braga, P. C., & Ricci, D. 1998. Atomic force microscopy: application to investigation of *Escherichia coli* morphology before and after exposure to cefodizime. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(1), 18-22.
- Cushnie, T. P. T., dan Lamb, A. J. 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107.
- Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181.
- Davis, W.W., dan Stout, T.R., 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22 (1): 659-665.
- Dellattre C., Michaud B., Courtoris J. 2005. Oligosaccharides engineering from plants and algae applications in biotechnology and therapeutics. *Minerva Biotechnol* 17: 107-117.
- Dotulong, V., Montolalu L. A. D. Y., dan Damongilala L. J. 2016. Potensi Anti Bakteri Rumput Laut Merah *Laurencia* sp. Asal Perairan Sulawesi Utara. *Jurnal, Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*.

- E. S. Simaremare, "Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd)," *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, vol. 11, no. 1, pp. 98–107, 2014.
- Firdaus, S., Fadli, M. Z., dan Bintari, Y. R. 2024. Aktivitas Antiinflamasi Melalui Metode Denaturasi BSA (*Bovine Serum Albumin*) pada Ekstrak Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) dengan Variasi Pelarut. *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 12(1).
- Genisa, M. U., dan Auliandari, L. 2018. Sebaran spasial bakteri koliform di Sungai Musi bagian hilir. *A Scientific Journal*, 35(3), 131-138.
- Gyawali, R., dan Ibrahim, S. A. 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412–429.
- Harborne, J. B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, Edisi kedua, 5, 69-76, ITB Press, Bandung.
- Ien, H., Zulkifli, L., dan Sedijani, P. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak metanol daun turi (*Sesbania grandiflora* L.) terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(2), 219-226.
- Insani, A. N., Hafiludin, H., dan Chandra, A. B. 2022. Pemanfaatan Ekstrak *Gracilaria* sp. dari Perairan Pamekasan sebagai Antioksidan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, 3(1), 16-25.
- Januari, C., Sudarwanto, M. B., dan Purnawarman, T. 2019. Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Daging Ayam pada Pasar Tradisional di Kota Bogor. *Jurnal Veteriner*, 20(1), 125-131.
- Jones, W.P. dan Kinghorn, A.D., 2006. Extraction of plant secondary metabolites, In: Sarker, S.D., Latif, Z. dan Gray, A.I., eds. Natural Products Isolation. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press.
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia*. In Jakarta penerbit buku kedokteran EGC. 53(9), 1-116
- Katuuk, R. H., Wanget, S. A., dan Tumewu, P. 2019. Pengaruh perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan metabolit sekunder pada gulma babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *In Cocos* (Vol. 1, No. 4).
- Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A., dan Rizki, K. 2019. Uji teknik difusi menggunakan kertas saring media tampung antibiotik dengan *Escherichia coli* sebagai bakteri uji. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), 151-155.
- Kim, D. E., Kim, M. H., Cha, J. E., & Kim, S. O. (2008). Numerical investigation on thermal–hydraulic performance of new printed circuit heat exchanger model. *Nuclear Engineering and Design*, 238(12), 3269-3276.
- Kurnianto, E., Rahman, I. R., Kartikasari, D., & Hairunnisa, H., 2021. Formulasi Lotion Ekstrak Terpurifikasi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(2), pp.186-194.

- Kuswiyanto. 2014. *Buku Ajar Analisis Kesehatan : Bakteriologi 2*. Jakarta : EGC
- Lanipi, R. P., Astuti, R. A., Hardia, L., dan Budianto, A. B. 2022. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus adrogynus (L) Merr*). *Jurnal Etnofarmasi*, 1(02), 1-6.
- Lantah, P. L. Montololu L. A. D. Y, dan Reo R. A. 2017. Kandungan Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii*. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, Vol. 5. No. 3.
- Makkar, H. P. S. 2007. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241–256.
- Marliana, E., dan Saleh, C. 2011. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz*) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2), 63–69.
- Marosa, D. 2012. *Analisis Bakteri Patogen pada Air Sumur Warga Studi Kasus di Pemukiman Kumuh Kecamatan Semampir Surabaya* (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS AIRLANGGA).
- Martsiningsih, A., Suyana, S., Noviani, A., Rahmawati, U., Sujono, S., dan Astuti, F. D. 2023. Pengaruh waktu inkubasi terhadap diameter zona hambat antibiotik pada uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumonia*. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 11(1), 1-8.
- Melki, W. A. E., dan Ayu, W. Kurniati. 2011. Uji Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus Aureus*. Program Studi Ilmu kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya.
- Moulana, R., Juanda, J., Rohaya, S., dan Rosika, R. 2012. Efektivitas penggunaan jenis pelarut dan asam dalam proses ekstraksi pigmen antosianin kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 4(3).
- Muthmainnah, B. 2017. Skrinning Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*. Vol 13(2).
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno, Hidayati, N. 2014. Phytochemical Screening Test On hexan, Chloroform and Methanol Extracts of Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*), Prosiding Seminar Nasional Kimia, hal.279-286.
- Naufalin, R. 2005. Kajian Sifat Antimikroba Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa Horan*) terhadap berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Nychas G.J.E and Tassou C.C., 2000. Traditional presentative – oil and spices. Di dalam Robinson RK, Batt CA, Patel PD (Ed) *Enyclopedia of Food Microbiology*. Volume 2. *Academy Press.London*.

- Prima, M. I. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol ganggang merah *Gracilaria verrucosa* terhadap beberapa bakteri patogen gram positif dan gram negatif.
- Putri, L., Sasadara, M. M. V., Cahyaningsih, E., dan Santoso, P. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bulung Sangu (*Gracilaria* sp.) Terhadap Bakteri Gram Negatif *Pseudomonas aeruginosa*. *Usadha*, 2(4), 20-26.
- Rahayu, W. P. 2018. *Escherichia coli*: Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko
- Rizki, F. 2023. *Inventarisasi Makroalga Di Perairan Pantai Selatan Kabupaten Aceh Selatan Sebagai Media Pembelajaran Biologi* (Doctoral dissertation, UIN Ar-Raniry Fakultas Tarbiyah dan Keguruan).
- Rumagit, H. M. 2015. Uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea*. *Pharmacon*, 4(3), 183-192.
- Rusadi, R. R. P. A., dan Setyaningrum, E. Review Jurnal: Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) yang Menimbulkan Diare.
- Salamah, N., dan Widyasari, E. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25-34.
- Sanches, F. R.. 2021. Flavonoids as antibacterial agents: Structure–activity relationship. *Natural Product Reports*, 38(6), 1007–1025.
- Sanger, G. Rarung LK. Kaseger BE. dan Timbowo S. 2017. Composition of Pigments and Antioxidant Activity In Edible Seaweed *Halimena durvilae* Obtained From North Sulawesi. *International Journal of Chemical Tekhnology Research*. 10(15): 255-262.
- Sari, D. M. M., dan Kurniawan, A. 2021. Pemberdayaan Tenaga Kerja Budidaya Rumput Laut (*Gracilaria* sp.) Melalui Pendidikan Non Formal. *E-Dimas: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*, 12(1), 197-202.
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, Mulyani, B., Rahmawati, C.P. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio Zibethinus Murr. Varietas Petruk*). Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI.
- Shahidi, F. dan P. Ambigaipalan. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*. 18 : 82 - 897.
- Soamole, H. H., Sanger, G., Harikedua, S. D., Dotulong, V., Mewengkang, H. dan Montolalu, R. 2018. Kandungan fitokimia ekstrak etanol rumput laut segar (*Turbinaria* sp., *Gracilaria* sp., dan *Halimeda macroloba*). *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3).

- Sumihe, G., Runtuwene, M. R., dan Rorong, J. A. 2014. Analisis Fitokimia dan Penentuan Nilai LC50 Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*, 125-128.
- T. Tyagi. 2017. Phytochemical screening of active metabolites present in *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* (L.): Role in ethnomedicine. *Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, vol. 6, no. 4, pp. 40–56.
- Thakur, M. 2014. Pharmacological profile of alkaloids: A review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 4(36), 1–7.
- Toy, T. S., Lampus, B. S., dan Hutagalung, B. S. 2015. Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria* sp. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *e-GiGi*, 3(1).
- Wangkanusa, D. 2016. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacon*, 5(4).
- Widiastuti, N. K. P. J. 2024. *Uji Aktivitas Antibakteri Karagenan Rumput Laut Merah (Gracilaria sp.) Terhadap Bakteri Salmonella typhi* (Doctoral dissertation, Universitas Mahasaraswati Denpasar).
- Winata, H. S., Andry, M., Nasution, M. A., Rezaldi, F., Shindy, A., dan Sembiring, F. B. 2023. Anti-Inflammatory Activity of Stem Barks Ethanol Extracts of *Garcinia xanthochymus* On Male White Rats Hanafis. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences (AMS)*. 9(1), 47–53.
- Zainuddin, E. N dan Malina, A, C. 2009. Skrining rumput laut asal Sulawesi Selatan sebagai antibiotik melawan bakteri patogen pada ikan.
- Zulkarnain, Z., Muthiadin, C., dan Nur, F. 2021. Potensi Kandungan Senyawa Ekstraksi Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) sebagai Kandidat Antibiotik Alami. *Teknosains: Media Informasi Sains dan Teknologi*, 15(2), 190-196.