

ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL SERBUK KERING *Sargassum cristaefolium* TERHADAP BAKTERI *Escherischia coli* DAN *Salmonella thyposa*

Hartati Kartikaningsih^{a,b*}, Yuniar Trihartita^a, Fatih Fuadi^b

^aLaboratorium Keamanan Pangan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitasz Brawijaya, Malang, Indonesia

^bRiset Grup Bioseafood, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitasz Brawijaya, Malang, Indonesia

*Koresponden penulis : hartatikartikaningsih@gmail.com

Abstrak

Serbuk kering *Sargassum cristaefolium* bisa digunakan sebagai campuran pangan dan pakan serta bisa diaplikasikan sebagai serbuk minuman yang mengandung mineral dan bahan aktif triterpenoid. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui aktivitas anti bakteri serbuk kering *Sargassum cristaefolium* terhadap daya hambat bakteri *Escherischia coli* dan *Salmonella thyposa* secara in vitro. Hasil penelitian menunjukkan serbuk kering *Sargassum cristaefolium* memiliki daya hambat lebih baik pada *Salmonella thyposa* (2.3 mm) dibandingkan *Escherischia coli* (1.2 mm) walaupun termasuk bakterisidal lemah. Serbuk kering *Sargassum cristaefolium* menunjukkan positif mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan tannin serta tidak mengandung saponin, memiliki toksisitas rendah (LC50 322 ppm). Uji LCMS menunjukkan satu peak pada retensi 2.16 dengan berat molekul 339.39 m/z. Struktur bahan aktif antibakteri *Sargassum cristaefolium* perlu diperjelas dengan menggunakan C-NMR dan H-NMR.

Kata kunci: anti bakteri, *Escherischia coli*, rumput laut coklat, *Salmonella thyposa*, serbuk kering

Abstract

Sargassum cristaefolium dried powder can be used as food and fed additives as well as a beverage powder, contained some minerals and terpenoid active ingredients. This study aimed to determine the anti-bacterial activity of *Sargassum cristaefolium* dried powder on the inhibition of *Escherischia coli* and *Salmonella thyposa* bacteria in vitro. The research showed that the dried powder of *Sargassum cristaefolium* had better inhibition on *Salmonella thyposa* (2.3 mm) compared to *Escherischia coli* (1.2 mm) although it was classified as weak bactericidal. *Sargassum cristaefolium* dried powder showed positive testing for alkaloids, flavonoids, terpenoids and tannins and does not contain saponins, had low toxicity (LC50 322 ppm). The LCMS test showed a peak at 2.16 retention time with a molecular weight of 339.39 m/z. The structure of the *Sargassum cristaefolium* antibacterial active ingredient should be clarified using C-NMR and H-NMR

Keywords: antibacterial, *Escherischia coli*, Phaeophyta dried powder, *Salmonella thyposa*

PENDAHULUAN

Rumput laut coklat banyak jenisnya, salah satunya adalah *Sargassum cristaefolium*. Jenis *Sargassum* telah diteliti sebagai sumber alginat [1,2,3], bahan pakan udang [4], sumber fukoidan untuk pakan [5], sebagai bahan anti inflamasi [6], anti oksidan dan anti kanker [7] dan bahan bioethanol [8]. Masyarakat Cabbiiyya, Talango, Sumenep menggunakan daun *Sargassum cristaefolium* sebagai bubuk teh. *Sargassum cristaefolium*

direndam dalam air kapur pH 11 selama 6 jam kemudian dikeringkan matahari dan disimpan sebagai bubuk kering teh. Selama ini bubuk kering teh dikenal sebagai sumber antioksidan. Aktivitas antioksidan dan polifenol *Sargassum* ini telah banyak diteliti. [9] meneliti sejumlah spesies *Sargassum* terkait dengan aktivitas antioksidannya. [10] meneliti jumlah anti oksidan *Sargassum cristaefolium* yang tumbuh disekitar perairan Sumenep, Madura. Masih sedikit data terkait aktivitas antibakteri dari bubuk teh *Sargassum cristaefolium*. Bahan aktif antibacterial

Sargassum diduga dari kandungan polisakarida sulfat yang terkandung dalam kelompok pikokolid Sargassum [11,12]. Polisakarida sulfat sebagai antibakteri banyak diperoleh dari kelompok alga merah. Sargassum sebagai anti bakteri diteliti oleh [13] dengan bakteri uji beberapa bakteri patogen penyebab penyakit pada budidaya ikan. Sifat antibakteri Sargassum terhadap bakteri *Escherichia coli* juga diteliti oleh [14]. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan gambaran seberapa besar aktivitas anti bakteri dari serbuk kering *Sargassum cristaefolium* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thyposa*, dua jenis bakteri Gram negative penyebab sakit perut.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan bubuk kering *Sargassum cristaefolium*

Sargassum cristaefolium diperoleh dari perairan Talango, Madura. Sargassum cristaefolium dari perairan laut dicuci dengan air tawar, dimasukkan dalam kantong plastic dengan ditambah sedikit air laut, dimasukkan dalam cool box yang berisi es batu. Sesampai di laboratorium Keamanan Pangan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, *Sargassum cristaefolium* dicuci lagi dengan air tawar, direndam dalam air kapur (2:1 b/v pH 11) 6 jam, dicuci lagi dengan air tawar dan dikeringkan dalam oven suhu 50°C, dihaluskan dengan blender dan disimpan sebagai sampel bubuk kering *Sargassum cristaefolium*.

Ekstrak kasar bubuk kering *Sargassum cristaefolium* dilakukan dengan cara maserasi bubuk kering *Sargassum cristaefolium* dengan ethanol pa (1:5 b/v, 24 jam diaduk dengan *magnetic stirrer*. Hasil maserasi disentrifuse (Hole Ortegon, 4000 rpm) selama 15 menit suhu dingin, disaring dengan kertas Whatman. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (RE2010 1L Xian Yuanxian, China) 40°C, 24 jam. Filtrat digunakan sebagai pengujian antibakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thyposa*.

Pengujian anti bakteri bubuk kering *Sargassum cristaefolium*

Bakteri *Escherichia coli* Dan *Salmonella thyposa* berasal dari koleksi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kedua bakteri ini ditanam dalam media Muller Hinton Agar (Sigma-Aldrich). Kepadatan bakteri dibuat dengan kepadatan bakteri 10⁸ cfu/ml dengan cara membuat kurva pertumbuhan pada nutrient broth (Sigma-Aldrich)

dihitung dengan menggunakan haemocitometer. Bakteri uji ditanam pada lempeng agar kepadatan 10⁸ cfu/mL selama 24 jam 37°C. Cakram disk direndam dalam larutan ekstrak bubuk kering 10%, 20%, 30% selama 5 menit diletakkan kemedial lempeng agar yang telah terisi bakteri uji. Kontrol positif menggunakan streptomisin 10.000 ppm. Kontrol negatif dengan menggunakan DMSO 5%. Semua perlakuan diulang 3 kali. Aktivitas bakteri diukur dengan mengukur zona zernih disekitar kertas disk. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan, yakni menggunakan ekstrak teh rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium* (10%, 20%, 30%) (v/v) dan 1 kontrol pembanding. Masing-masing perlakuan diuji daya hambatnya pada bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thyposa* secara duplo.

Pengujian bahan aktif bubuk kering *Sargassum cristaefolium* dengan LCMS

Pengujian LC-MS dilakukan di Laboratorium Pusat Pengujian Kimia LIPI Serpong Tangerang Selatan menggunakan LC-MS Biospectrometry (merk LC Hitachi L6200) dengan volume injeksi sampel 20 ul, flow rate 0.5 ml/min dan menggunakan eluent methanol serta dengan kolom C18 (RP 18) Phenomenex, panjang kolom 150 nm, diameter kolom 2 mm dan ukuran partikel 5 µm.

Pengujian bahan aktif serbuk kering *Sargassum cristaefolium* dengan GCMS

Pengujian GCMS dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dengan merek GCMS QP2010, suhu kolom 100°C, suhu injeksi sampel 290°C, suhu sumber ion 290°C, suhu interface 250°C, tekanan 100kPa, total aliran sampel 50 mL/menit, aliran sampel dalam

kolom 1.33 ml/menit, dimulai pada m/z 40,00 dan diakhiri m/z 350,00.

Uji fitokimia

Untuk mengetahui keberadaan komponen bioaktif yang terdapat dalam rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium* merupakan tujuan dari pengujian fitokimia. Terdapat pengujian lain yang dilakukan untuk pengujian fitokimia yaitu uji alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tannin. Metode pengujian berdasarkan [15] yang meliputi:

Pengujian alkaloid:

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menambahkan 2 mL HCl 2N pada 2 mL ekstrak *Sargassum cristaefolium*, kemudian ditambahkan beberapa tetes pengujian Dragendorff, pereaksi Meyer, dan pereaksi Wagner. Adanya alkaloid akan ditunjukkan terbentuknya endapan putih kekuningan dengan pereaksi Meyer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan merah-merah jingga pada pereaksi Dragendorff

Pengujian flavonoid:

2 mL ekstrak *Sargassum cristaefolium* ditambahkan 1 mL 2N NaOH. Terbentuknya warna kuning menunjukkan ekstrak positif mengandung flavonoid.

Pengujian triterpenoid/steroid:

Identifikasi triterpenoid/Steroid dilakukan dengan melarutkan 4 g sampel dalam 25 mL etanol kemudian disaring. 0.5 mL ekstrak *Sargassum cristaefolium* ditambahkan 2 ml kloroform dan aquades (1:1v/v), distirer. Lapisan yang terbentuk dikeringkan pada *hot plate* dan tambahkan pereaksi Lieberman-burchard sebanyak 1 tetes. Warna merah menunjukkan positif mengandung senyawa triterpenoid dan warna biru - hijau untuk senyawa steroid

Pengujian tannin:

Identifikasi senyawa tannin dilakukan dengan menambahkan 1 mL FeCl₃ 5% kedalam 1 mL

ekstrak *Sargassum cristaefolium*. Terbentuknya warna biru gelap atau hijau kehitaman mengindikasikan adanya senyawa tannin.

Pengujian saponin (uji busa):

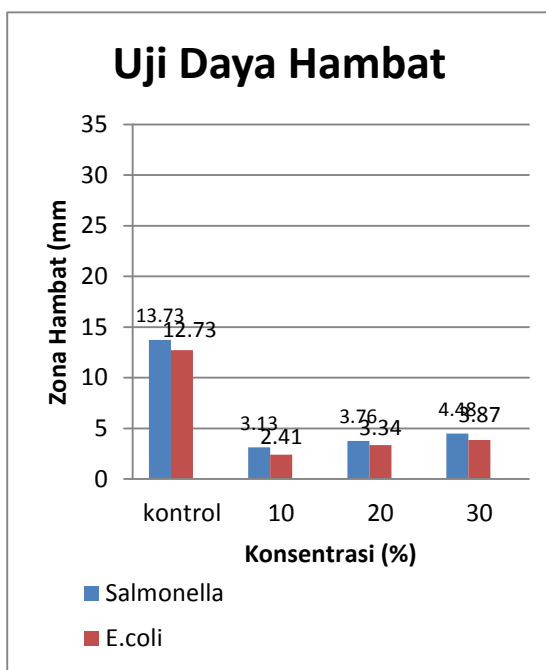
2 ml ekstrak *Sargassum cristaefolium* ditambahkan 2 mL air destilata dicokok pada tabung silinder selama 15 menit. Terbentuknya 1 cm lapisan busa mengidentifikasi senyawa mengandung saponin.

Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas ekstrak *Sargassum cristaefolium* in vitro dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach yang dihitung dengan menggunakan analisis probit [16]. Telur *Artemia salina* Leach sebanyak 5 g direndam dalam air tawar selama 15-30 menit, kemudian dipindah dalam rendaman air lau dengan suhu $\pm 25-30^{\circ}\text{C}$ dan pH $\pm 7-8$. Nauplii akan menetas dalam waktu 18-24 jam. Ekstrak *Sargassum cristaefolium* dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm dan 0 ppm dimasukkan bejana uji. Setiap bejana uji diberikan 30 ekor nauplii *Artemia salina* Leach. LC 50 dihitung /24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Zona hambat menunjukkan pada tiap perbedaan konsentrasi dan sampel menunjukkan perbedaan. Pada control menunjukkan zona hambat *Salmonella thyposa* lebih besar dari *Escherichia.coli* sebesar 13,73 mmdan 12,73 mm. Pada konsentrasi ekstrak *Sargassum cristaefolium* 10% menunjukkan zona hambat *Salmonella thyposa* lebih besar sebesar 3,13 mm dan *Escherichia coli* sebesar 2,41 mm. Hal yang sama ditunjukkan pada daya hambat ekstrak *Sargassum cristaefolium* 20% dan 30%, yakni 3,76 mm dan 4,48 mm pada *Salmonella thyposa* serta 3,34 mm dan 3.87 mm pada *Escherichia coli*. Terjadi perbedaan yang cukup signifikan pada konsentrasi 30%. Pada konsentrasi 30% menjadi daya hambat yang paling baik, namun aktivitas bakteri tersebut jauh lebih rendah dibandingkan dengan control Streptomycin. (Gambar 1)



Gambar 1. Hasil uji daya hambat bubuk kering *Sargassum cristaefolium*

Bila dikaitkan dengan nilai LC50 (Tabel 1), bubuk kering *Sargassum cristaefolium* memiliki toksisitas sedang dengan hewan uji *Artemia salina*. Sifat anti bakteri kelompok *Sargassum* terkait dengan kandungan sulfat pada pikokoloidnya. *Sargassum cristaefolium* sering disebut dengan sampah laut, belum ada industri yang memanfaatkannya disebabkan kadar pikokoloid yang kadarnya lebih rendah dibandingkan jenis alga merah. Namun, bila digunakan sebagai bahan pakan dan pangan, bubuk kering *Sargassum cristaefolium* masih tergolong aman untuk digunakan dan memiliki aktivitas anti bakteri yang rendah terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhosa*.

Dari kedua jenis bakteri ini, anti bakteri *Sargassum cristaefolium* lebih baik untuk menghambat bakteri *Salmonella typhosa* dibandingkan bakteri *Escherichia coli*. Ekstrak rumput laut Phaeophyta lebih baik sebagai antibakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* dibandingkan bakteri gram negative [17,18]. Sifat antibakteri ini terkait dengan mucopolisakarida yang ada di dalam Phaeophyta [19; 1]. *Escherichia coli* dan *Salmonella typhosa*, keduanya termasuk bakteri Gram negative yang memiliki antigen

O sehingga mukopolisakarida yang ada dalam rumput laut ini kurang dapat menghambat pertumbuhannya.

Tabel 1. Hasil uji LC50 *Sargassum cristaefolium*

	LC50			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
Bubuk kering	275	356.4	332.1	321.2	41.77
<i>Sargassum cristaefolium</i>	952	627	878	486	221

Pengujian anti bakteri beberapa rumput laut dan kandungan fitokimianya juga dilakukan oleh [18]. Sifat antibakteri phaeophyta terkait dengan kandungan fitokimianya [20]. Selain kandungan mucopolisakarida dari phaeophyta, bahan antibakteri yang lain adalah kelompok polifenol [21], pigmen [22], quercetin dan pigmen [23]. Hasil uji bahan aktif yang terdapat pada bubuk kering *Sargassum cristaefolium* terlihat pada Tabel 2. Kondisi segar, kering ataupun bubuk kering (yang telah dilakukan proses perendaman kapur) tetap menunjukkan senyawa triterpenoid dengan kadar yang paling banyak dibandingkan komponen lainnya.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia bubuk kering *Sargassum cristaefolium*

Parameter	Segar	Kering	Bubuk Kering
Alkaloid	++	+	+
Flavonoid	++	+	+
Triterpenoid/ Steroid	++	++	++
Tanin	+	+	+
Saponin	-	-	-

Antibakteri kelompok alga diduga adanya kandungan fenolik dan flavonoidnya [24,15]. Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mengandung C₁₅ terdiri dari dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Banyak tanaman obat herbal mengandung senyawa flavonoid kompleks yang tidak berwarna dan bila dihidrolisis dengan asam akan kembali menjadi antosianidin dan kathekin. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang terdapat di alam. Berdasarkan

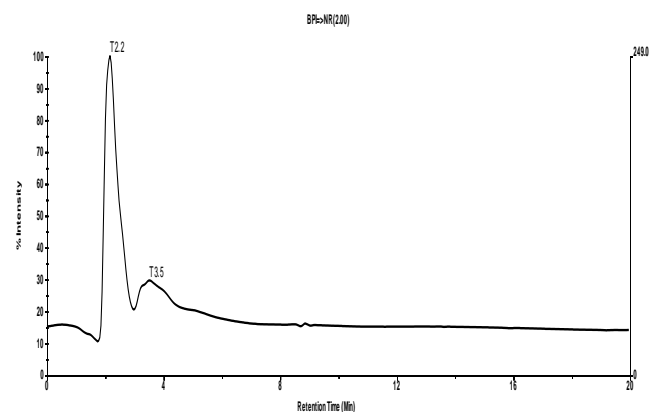
kerangka karbon strukturnya senyawa flavonoid dibagi menjadi 6 sub kelompok utama yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanol, isoflavon, dan antosianidin. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan hasil positif adanya senyawa flavonoid pada alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Triterpenoid merupakan senyawa berkerangka karbon yang tersusun atas enam unit isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari skualen. hidrokarbon C30 asiklik Triterpena berasa pahit. Secara alami, triterpena dalam tumbuhan mempunyai fungsi sebagai pelindung terhadap serangan serangga dan mikroba. Salah satu golongan triterpenoid adalah steroid, yang digunakan sebagai bahan obat herbal.. Hasil uji fitokimia pada alga coklat *Sargassum cristaefolium* menunjukkan hasil yang positif terhadap adanya senyawa steroid/triterpenoid, alkaloid, flavonoid dan tannin.

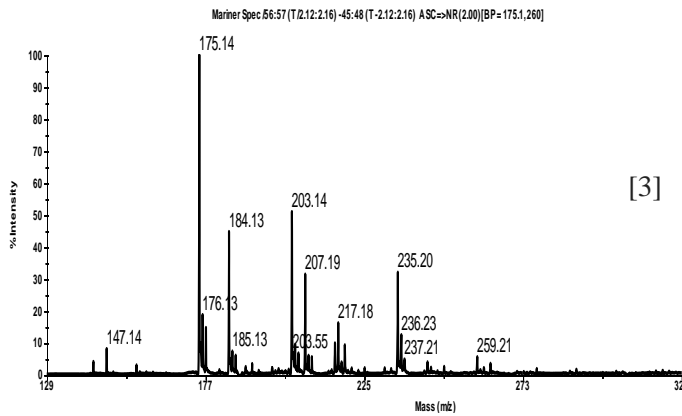
Hasil GCMS bubuk kering *Sargassum cristaefolium* mengandung 10 komponen bahan aktif seperti yang terlihat pada Tabel 3. Dominasi bahan aktifnya adalah kelompok dimethyl benzene (49.37%), amida (11.91%, asam (8.23%) dan aldehid (7.96%). Struktur benzene merupakan tulang punggung struktur fitokimia tanaman, termasuk juga alga. [25] memperlihatkan hasil spektrum ekstrak methanol *Acanthopora specifera* yang memiliki gugus fenol, alkane, alkene, asam karboksilat, aromatic, alkohol, benzene, komponen nitro dan bromo alkane. [26] menyebutkan komponen anti microbial dari algae adalah deprival chlorellin, asam akrilik, terpen, alifatik terhalogenasi, fenol, komponen heterosiklik yang mengnadung sulfur. Terkait dengan hasil LCMS, bubuk kering *Sargassum cristaefolium* terlihat satu puncak pada retensi 2.2 dengan berat molekul 339.29 m/z (Gambar 2 dan 3). Gambar 3 memperlihatkan fargmentasi yang ditandai dengan beberapa puncak ion. Berat molekul senyawa sebesar 339,29 m/z. Berdasarkan penelusuran database spektra massa melalui internet, senyawa dengan berat molekul 339,29 m/z diduga adalah senyawa 3-Acetoxy-4'-methoxy-6,8-Dimethylflavone dengan berat molekulnya 338,11542 m/z dengan rumus molekulnya C₂₀H₁₈O₅. Senyawa ini merupakan golongan flavonoid.

Tabel 3. Hasil komponen *Sargassum cristaefolium* dengan GCMS

No	Dugaan senyawa	Rumus molekul	%
1	5,5'-Dicarboxy-3'-(2-Chloroethyl)-4-(2-Acetoxyethyl)-3,4'-Dimethylpyrromethane	C ₁₉ H ₂₃ C ₁ N ₂ O ₆	4.29
2	Spiro[2.5]Oct-6-eneE-4-Acetaldehyde	C ₁₀ H ₁₄ O	7.96
3	1,2-Dimethylbenzene	C ₈ H ₁₀	49.37
4	2-Hydroxy-3-(2-Methoxyethyl)-3-Butamide	C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O ₄	11.91
5	Ethyl 3,3A-Cis-2-Benzyl	C ₂₈ H ₂₇ N ₃ O ₄	2.52
6	Ethaneperoxic Acid	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	8.23
7	Benzoyl-1H-Naphth[2,3-Djimidazole-6,7-Dicarboxylic Anhydride	C ₂₀ H ₁₀ N ₂ O ₄	6.55
8	7-Hydroxy-7-Phenyl-3,9-Diisopropyl-2,10-Dioxadispiro[3.3.3.1]Dodecan-1,11-Dione	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	1.78
9	7-Oxabicyclo[4.1.0]Heptane, 3-Buten-2-One	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	1.92
10	Octyl Phenyl Ketone	C ₁₅ H ₂₂ O	5.47



Gambar 2. Hasil uji LCMS bubuk *Sargassum cristaefolium*



Gambar 3 Berat molekul senyawa *Sargassum cristaefolium*

KESIMPULAN

Bubuk kering *Sargassum cristaefolium* memiliki aktivitas anti bakteri yang rendah terhadap bakteri *Escherischia coli* dan *Salmonella thyposa*. Bahan anti bakteri diduga berasal dari flavonoid dengan berat molekul 339.29 m/z, namun jenis bahan aktif ini struktur kimianya perlu uji lanjut dengan HNMR dan CNMR

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Rektor Universitas Brawijaya dan Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan atas dana penelitian DIPA tahun 2019 dengan nomor SK Dekan FPIK UB no 54 tahun 2019. Ucapan terima kasih kepada Fuad dan Tita atas bantuannya dalam pengerjaan laboratorium

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Zubia, M., Payri, C. and Deslandes, E. "Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, *Sargassum mangarevense* and *Turbinaria ornata* (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia)". *J. Appl. Phycol* vol 20, no 6, hal.1033-1043 *Journal of Applied Phycology*, 20(6), pp.1033-1043. 2008
- [2] Salosso, Y. and Jasmanindar, Y. "Diversity of brown macroalgae in Kupang Bay waters and alginate content potential and its phytochemistry". *Aquacult Aquarium Conserv Legislation* vol 11 no 3 hal 598-605. 2018
- [3] Sugiono, S., Masruri, M., Estiasih, T. and Widjarnako, S.B. "Structural and Rheological Characteristics of Alginate from *Sargassum cristaefolium* Extracted by Twin Screw Extruder". *J.Aquat Food Prod Technol Journal of Aquatic Food Product Technology*, pp.1-16. October 2, 2019
- [4] Sudaryono, A., Haditomo, A.H. and Isnansetyo, A.. "Evaluation of dietary supplementation of aqueous extract of brown algae *Sargassum cristaefolium* on growth performance and feed utilization of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*". *AAFL Bioflux*, vol 8 no 2 2015
- [5] Isnansetyo, A., Fikriyah, A. and Kasanah, N. "Non-specific immune potentiating activity of fucoidan from a tropical brown algae (Phaeophyceae), *Sargassum cristaefolium* in tilapia (*Oreochromis niloticus*)" *Aquac Int* vol 24 no 2 hal 465-477. .2016
- [6] Wu, G.J., Shiu, S.M., Hsieh, M.C. and Tsai, G.J."Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide from the brown alga *Sargassum cristaefolium*." *Food Hydrocolloids* vol 53 hal 16-23. 2016
- [7] Wang, C.Y., Wu, T.C., Hsieh, S.L., Tsai, Y.H., Yeh, C.W. and Huang, C.Y. "Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from *Sargassum cristaefolium*". *J Food Drug Anal.*vol 23 no 4 hal 766-777 .2015
- [8] Borines, M.G., De Leon, R.L. and McHenry, M.P. "Bioethanol production from farming non-food macroalgae in Pacific island nations: Chemical constituents, bioethanol yields, and prospective species in the Philippines." *Renewable & Sustainable Energy Rev.*vol 15 no 9 hal 4432-4435. 2011

- [9] Balanquit, B.J.R. and Fuentes, R.G. "Preliminary Phycochemical Screening and Antioxidant Activity of Some Brown Algae Sargassum Species From Lawaan, Eastern Samar". *J. Nat Stud* vol 14 no 1 hal 12-21. 2015
- [10] Lailiyah, A., Adi, T.K. and Yusnawan, E. "Kapasitas Antioksidan dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Ekstrak Kasar Alga Coklat Sargassum cristaefolium dari Pantai Sumenep Madura". *Alchemy* hal 18-30. 2014
- [11] Sanjeewa, K.A., Kang, N., Ahn, G., Jee, Y., Kim, Y.T. and Jeon, Y.J. "Bioactive potentials of sulfated polysaccharides isolated from brown seaweed Sargassum spp in related to human health applications: a review". *Food Hydrocolloids* vol 81 hal 200-208. 2018
- [12] Nazia Auckloo, B. and Wu, B., 2016. "Structure, biological properties and applications of marine-derived polysaccharides". *Curr Org Chem* vol 20 no 19 hal 2002-2012. 2016
- [13] Bolaños, J.M., Baleta, F.N. and Cairel, J.D. "Antimicrobial Properties of Sargassum spp.(Phaeophyceae) against Selected Aquaculture pathogens". *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(2), vol 6 no 2 hal 1024-1037. 2017
- [14] Triastinurmiatiningsih, T. and Haryani, T.S. "Potensi Rumput Laut Di Pantai Bayah, Kabupaten Lebak, Banten Sebagai Antibakteri Escherichia coli". *J. Mat Sains dan Teknol*. vol 9 no 1 hal 37-43. 2017
- [15] Deyab, M. D., Elkatony, T., & Ward, F. "Qualitative and quantitative analysis of phytochemical studies on brown Seaweed, Dictyota dichotoma". *Int. J. Eng Dev Res* vol 2 hal 674-678. 2016
- [16] Ayesha, H., Sultana, V., Ara, J., & Ehteshamul-Haque, S. "In vitro cytotoxicity of seaweeds from Karachi coast on brine shrimp". *Pak J Bot*, volume 42 no 5 hal 3555-3560 42(5), 3555-3560. 2010
- [17] Eom, S. H., Kang, M. S., & Kim, Y. M. "Antibacterial activity of the phaeophyta Ecklonia stolonifera on methicillin-resistant Staphylococcus aureus". *Fish & Aquat Sci* vol 11 no 1 hal 1-6 .2008
- [18] Mansuya, P., Aruna, P., Sridhar, S., Kumar, J. S., & Babu, S. "Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from Gulf of Mannar region". *J. Exp Sci* vol 1 no 8 hal 23-26. November 6 2010
- [19] Criado, M. T., & Ferreiros, C. M. "Toxicity of an algal mucopolysaccharide for Escherichia coli and Neisseria meningitidis strains". *Rev Esp. Physiol.* vol 40 no 2 hal 227-230. 1984
- [20] Kumar, I. N., Barot, M., & Kumar, R. "Phytochemical analysis and antifungal activity of selected seaweeds from". *J Coast Life Med*, vol 2 no 7 hal 535-540. 2014
- [21] Vijayabaskar, P., & Shiyamala, V. "Antibacterial activities of brown marine algae (Sargassum wightii and Turbinaria ornata) from the Gulf of Mannar Biosphere Reserve". *Adv in Biol. Res* vol 5 no 2 hal 99-102 ..2011
- [22] Bhagavathy, S., Sumathi, P., & Bell, I. J. S. "Green algae Chlorococcum humicola-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity". *Asian Pasific J. Trop. Biomed* vol 1 no 1 hal 1-.7. 2011
- [23] Abdo, S. M., Hetta, M. H., Samhan, F. A., Din, R. E., & Ali, G. H. "Phytochemical and antibacterial study of five freshwater algal species". *Asian J. Plant Sci* vol 11 no 3 hal 109. 2012
- [24] Akremi, N., Cappoen, D., Anthonissen, R., Verschaeve, L., & Bouraoui, A. "Phytochemical and in vitro antimicrobial and genotoxic activity in the brown algae Dictyopteris

- membranacea”. *South African J Bot.* vol 108 hal 308-314. 2017
- [25] Omar, H., Al-Judaibiand, A., & El-Gendy, A. “Antimicrobial, Antioxidant, Anticancer Activity and Phytochemical Analysis of the Red Alga, *Laurencia papillosa*”. *Int J.Pharm* vol 14 no 4 hal 572-583 . 2018
- [26] Ibtissam, C., Hassane, R., Jose, M., Francisco, D. S. J., Antonio, G. V. J., Hassan, B., & Mohamed, K. “Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco”. *African J Biotechnol* vol 8 no 7 hal 99-106, 2009