

# STABILITAS EKSTRAK KASAR SENYAWA ANTIBAKTERI *Halimeda micronesica*

Vidya Octaverina, Dewi Purnama, Nurlaila Ervina Herliany, Maya Angraini Fajar Utami,  
Bertoka Fajar Surya Perwira Negara

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

## ABSTRAK

Bakteri patogen dapat menimbulkan penyakit terhadap ikan, jenis bakteri patogen yang sering menyebabkan penyakit pada ikan antara lain adalah *Aeromonas salmonicida* dan *Aeromonas hydrophila*. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri patogen, oleh sebab itu penting untuk mencari sumber molekul bioaktif baru yang dapat dijadikan antibiotik yang aman. Rumput laut *Halimeda micronesica* yang berasal dari Pantai Panjang, Kota Bengkulu memiliki potensi sebagai antibakteri, namun stabilitas senyawa antibakteri yang terkandung dalam rumput laut tersebut belum diketahui. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur stabilitas senyawa antibakteri yang terkandung didalam rumput laut *Halimeda micronesica*. Bakteri uji (*Aeromonas salmonicida* dan *Aeromonas hydrophila*) diinokulasikan kedalam cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar*. Kemudian kertas cakram ( $\pm 6$ ) mm diletakkan diatas permukaan media *Nutrient Agar*, lalu diteteskan ekstrak kasar rumput laut sebanyak 20  $\mu$ l dengan konsentrasi 15% pada masing-masing kertas cakram dan diinkubasi pada temperatur 28°C, 30 °C, 32 °C selama 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak kasar rumput laut *Halimeda micronesica* tidak stabil. Karena diameter zona bening yang terbentuk berbeda di setiap pengukuran. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Halimeda micronesica* tidak stabil meskipun diameter zona bening yang terbentuk tergolong kuat

*Kata Kunci: Bakteri patogen, Aeromonas salmonicida, Aeromonas hydrophila, Antibakteri, dan Stabilitas Senyawa.*

## PENDAHULUAN

Bakteri patogen dapat menimbulkan penyakit terhadap ikan air laut dan air tawar (hias dan konsumsi), jenis bakteri patogen yang sering menyebabkan penyakit pada ikan antara lain adalah *Aeromonas Salmonicida* dan *Aeromonas hydrophyla* yang dapat mematikan sampai 100%. Bakteri ini menyerang ikan pada semua umur dan hampir semua komoditas perikanan yang ada di Indonesia, sehingga dapat menjadi wabah mematikan yang menyebabkan kerugian bagi masyarakat khususnya para pembudidaya dan nelayan. Pengobatan pada ikan yang terinfeksi bakteri tersebut biasanya dengan memberikan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi. Diketahui bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* telah resisten terhadap *chloramphenicol*, *ampicillin*,

*rifampicin*, *ciprofloxacin*, *trimethoprim*, dan *cefixime* (Purwandani, 2018). Oleh sebab itu, penting untuk mencari sumber molekul bioaktif baru yang dapat dijadikan antibiotik yang aman dan tidak berbahaya jika digunakan secara terus-menerus.

Telah banyak usaha dilakukan untuk melawan bakteri tersebut antara lain dengan upaya penemuan senyawa yang mampu membunuh dan menghambat bakteri. Zat-zat seperti ini kemudian dikenal dengan istilah zat antibakteri. Saat ini dunia pengobatan semakin berkembang dan telah mengarah kembali ke alam, karena bahan-bahan alami telah terbukti lebih aman dan tidak menimbulkan efek samping seperti halnya obat-obatan kimia. Para peneliti mulai bersaing dalam menemukan obat baru yang lebih aman, efektif, berefikasi tinggi, murah dan mudah

didapat. Sebab kebutuhan akan obat setiap tahunnya meningkat dan terkadang tidak memenuhi keinginan yang diharapkan karena aktivitasnya yang kurang atau karena resistensi yang telah terjadi. Salah satu sumber daya hayati yang berasal dari perairan Indonesia adalah rumput laut. Rumput laut banyak mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antikanker, antioksidan, antiperadangan, antivirus, dan sebagainya (Widowaty, 2018). Telah banyak penelitian yang dilakukan menggunakan rumput laut sebagai bahan untuk mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri, antara lain adalah Kontesa (2018) yang menunjukkan bahwa ekstrak kasar *Halimeda micronesica* memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap mikroba patogen seperti *Escherichia coli*, *Salmonella thypii*, dan *Staphylococcus aureus*, kemudian Basir dkk. (2017) menunjukkan bahwa ekstrak alga hijau *Halimeda gracilis* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Rumput laut dengan genus *Halimeda* khususnya *Halimeda micronesica* sendiri banyak ditemukan keberadaannya di Pantai Panjang, Kota Bengkulu. Berdasarkan penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Kontesa (2018), diketahui bahwa rumput laut jenis *Halimeda micronesica* yang berasal dari Pantai Panjang, Kota Bengkulu memiliki potensi sebagai antibakteri, namun stabilitas senyawa antibakteri yang terkandung dalam rumput laut tersebut belum diketahui. Stabilitas senyawa sendiri penting diketahui guna mengetahui kapan waktu yang baik untuk mengonsumsi obat yang mengandung senyawa tersebut (jarak waktu antar pemakaian). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai stabilitas senyawa antibakteri pada rumput laut tersebut guna menguji efektivitas dan stabilitas dari senyawa tersebut.

## METODE PENELITIAN

### Pengambilan dan Pengeringan Sampel

Sampel rumput laut *Halimeda micronesica* yang digunakan di dalam penelitian ini diambil dengan metode *purposive sampling*, berdasarkan keberadaan lumpur laut tersebut

di kawasan Pantai Panjang, Kota Bengkulu. Pengambilan sampel rumput laut dilakukan 1 kali, sampel diambil sebanyak 1 kantong plastik untuk mendapatkan berat basah kurang lebih 1 kg.

Rumput laut segar yang telah diperoleh dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran dan epifit yang menempel. Kemudian ditiriskan dan ditimbang berat basah, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, timbang berat kering rumput laut sampai berat kering rumput laut konstan (Kontesa, 2018).

### Ekstraksi Senyawa Antibakteri

Rumput laut *Halimeda micronesica* yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan *blender* sehingga diperoleh bubuk kering. Kemudian ekstraksi metabolit sekunder dilakukan dengan merendam serbuk rumput laut dalam pelarut aseton (ekstraksi maserasi) (Kontesa, 2018). Sebanyak 10 gr serbuk rumput laut *Halimeda micronesica* direndam dalam pelarut aseton selama 24 jam. Setelah 24 jam, filtrat dipisahkan dengan cara disaring, lalu ampasnya dibuang sehingga didapatkan ekstrak kasar (maserat) (Siregar, 2012).

### Uji Stabilitas Senyawa Antibakteri dan Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan uji ANOVA dua arah (*two way Analysis of Variants*). Jika  $F_{hitung} > F_{tabel}$  maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95%. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF). Perlakuan pada penelitian ini adalah perbedaan temperatur (28°C, 30°C, dan 32°C) dan waktu inkubasi yakni per 2 jam sekali selama 24 jam. Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh antibakteri dapat dilihat pada zona bening disekitar kertas saring (kertas cakram). Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan jangka sorong dengan pengulangan sebanyak 3 kali masing-masing zona (Siregar, 2012). Variabel bebas pada penelitian ini adalah temperatur dan waktu, sedangkan

variabel terikatnya adalah diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak rumput laut.

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

H<sub>0</sub>: Interaksi antara temperatur dan lama waktu inkubasi tidak mempengaruhi stabilitas senyawa.

H<sub>1</sub>: Interaksi antara temperatur dan lama waktu inkubasi mempengaruhi stabilitas senyawa.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Rumput laut *genus Halimeda* memiliki ciri-ciri *thallus coenocytic*, mengandung kapur dan hidup membentuk koloni (berkelompok) (Sartika *dkk.*, 2013). Memiliki ruas pemegang (*holdfast*) berbentuk akar serabut (*rizhoidal*) sebagai alat yang digunakan untuk melekat

(menancap) pada substrat berpasir dan karang mati (Kadi, 1987). Secara morfologi menyerupai kaktus yang membentuk lembaran-lembaran berwarna hijau (Basir, 2017). Kemudian rumput laut ini hidup di tempat yang dekat dengan pantai dengan kejernihan air sampai kedalaman 5 meter (Purnama *dkk.*, 2011). Basir (2017) menyatakan bahwa rumput laut *genus Halimeda* sp. memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan penelitian Kontesa (2018), diketahui bahwa rumput laut *Halimeda micronesica* asal kawasan Pantai Panjang Kota Bengkulu memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thypii*.

Tabel 1. Zona hambat ekstrak kasar *Halimeda micronesica* terhadap *Aeromonas salmonicida*.

Waktu Inkubasi (jam)	Temperatur (°C)		
	Zona Hambat (mm)		
	28	30	32
2	13.92 ± 0.53 <sup>++</sup>	16.75 ± 1.57 <sup>++</sup>	12.07 ± 1.84 <sup>++</sup>
4	13.88 ± 0.81 <sup>++</sup>	17.23 ± 1.58 <sup>++</sup>	12.16 ± 2.07 <sup>++</sup>
6	14.00 ± 0.80 <sup>++</sup>	17.34 ± 1.34 <sup>++</sup>	12.06 ± 1.46 <sup>++</sup>
8	13.62 ± 0.54 <sup>++</sup>	16.60 ± 1.89 <sup>++</sup>	11.97 ± 1.61 <sup>++</sup>
10	13.43 ± 0.92 <sup>++</sup>	16.84 ± 1.21 <sup>++</sup>	10.71 ± 3.47 <sup>++</sup>
12	12.82 ± 0.88 <sup>++</sup>	15.92 ± 1.30 <sup>++</sup>	11.98 ± 1.57 <sup>++</sup>
14	12.50 ± 0.69 <sup>++</sup>	16.00 ± 1.05 <sup>++</sup>	11.34 ± 1.68 <sup>++</sup>
16	12.04 ± 0.93 <sup>++</sup>	16.08 ± 1.61 <sup>++</sup>	11.89 ± 1.69 <sup>++</sup>
18	12.17 ± 0.82 <sup>++</sup>	16.98 ± 2.04 <sup>++</sup>	11.38 ± 1.41 <sup>++</sup>
20	12.49 ± 0.42 <sup>++</sup>	15.89 ± 1.03 <sup>++</sup>	11.61 ± 1.92 <sup>++</sup>
22	12.32 ± 0.40 <sup>++</sup>	15.89 ± 1.69 <sup>++</sup>	11.78 ± 1.67 <sup>++</sup>
24	12.12 ± 0.50 <sup>++</sup>	15.23 ± 1.15 <sup>++</sup>	11.56 ± 1.87 <sup>++</sup>
Kisaran	12.04 – 14.00	15.23 - 17.34	10.71 - 12.16
Rata-rata	12.94	16.39	11.71

Ket: ++: Kuat, +: Sedang, -: Lemah

Untuk bakteri *Aeromonas salmonicida* dengan temperatur 28°C, zona hambat tertinggi terbentuk pada waktu inkubasi jam

ke-6 yaitu 14 mm, sedangkan zona hambat terendah terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-16 yaitu 12.04 mm. Pada temperatur 30°C

zona hambat tertinggi terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-6 yaitu 17.34 mm, sedangkan zona hambat terendah terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-24 yaitu 5.23 mm. Pada temperatur 32°C, zona hambat tertinggi terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-4 yaitu 12.15 mm, sedangkan zona hambat terendah terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-10 yaitu 10.71 mm (tabel 1)

Untuk bakteri *Aeromonas hydrophyla* dengan temperatur 28°C, zona hambat tertinggi terbentuk pada waktu inkubasi jam

ke-6 yaitu 14.32 mm, sedangkan zona hambat terendah terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-24 yaitu 5.38 mm. Pada temperatur 30°C zona hambat tertinggi terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-18 yaitu 16.71 mm, sedangkan zona hambat terendah terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-2 sampai 16 yaitu 0 mm. Pada temperatur 32°C, zona hambat tertinggi terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-4 yaitu 13.56 mm, sedangkan zona hambat terendah terbentuk pada waktu inkubasi jam ke-24 yaitu 11.30 mm (tabel 2).

Tabel 2. Zona hambat ekstrak kasar *Halimeda micronesica* terhadap *Aeromonas hydrophyla*.

Waktu Inkubasi (jam)	Temperatur (°C)		
	Zona Hambat (mm)		
	28	30	32
2	13.17 ± 5.84 <sup>++</sup>	0 ± 0 <sup>-</sup>	12.79 ± 1.75 <sup>++</sup>
4	14.13 ± 7.14 <sup>++</sup>	0 ± 0 <sup>-</sup>	13.57 ± 3.24 <sup>++</sup>
6	14.32 ± 7.20 <sup>++</sup>	0 ± 0 <sup>-</sup>	13.06 ± 1.97 <sup>++</sup>
8	9.39 ± 3.13 <sup>+</sup>	0 ± 0 <sup>-</sup>	12.69 ± 1.73 <sup>++</sup>
10	8.94 ± 2.58 <sup>+</sup>	0 ± 0 <sup>-</sup>	12.44 ± 1.86 <sup>++</sup>
12	8.69 ± 2.70 <sup>+</sup>	0 ± 0 <sup>-</sup>	12.80 ± 1.65 <sup>++</sup>
14	7.59 ± 1.81 <sup>+</sup>	0 ± 0 <sup>-</sup>	12.40 ± 1.36 <sup>++</sup>
16	7.10 ± 1.56 <sup>+</sup>	14.10 ± 2.10 <sup>++</sup>	12.38 ± 1.60 <sup>++</sup>
18	7.10 ± 1.71 <sup>+</sup>	16.71 ± 0.60 <sup>++</sup>	12.34 ± 1.87 <sup>++</sup>
20	5.58 ± 4.83 <sup>+</sup>	15.19 ± 0.95 <sup>++</sup>	12.67 ± 1.59 <sup>++</sup>
22	5.74 ± 4.98 <sup>+</sup>	15.23 ± 1.82 <sup>++</sup>	12.68 ± 1.61 <sup>++</sup>
24	5.39 ± 4.67 <sup>+</sup>	14.62 ± 1.14 <sup>++</sup>	11.30 ± 3.19 <sup>++</sup>
Kisaran	5.39 - 14.32	0 - 16.71	11.30 - 13.57
Rata-rata	8.93	6.32	12.59

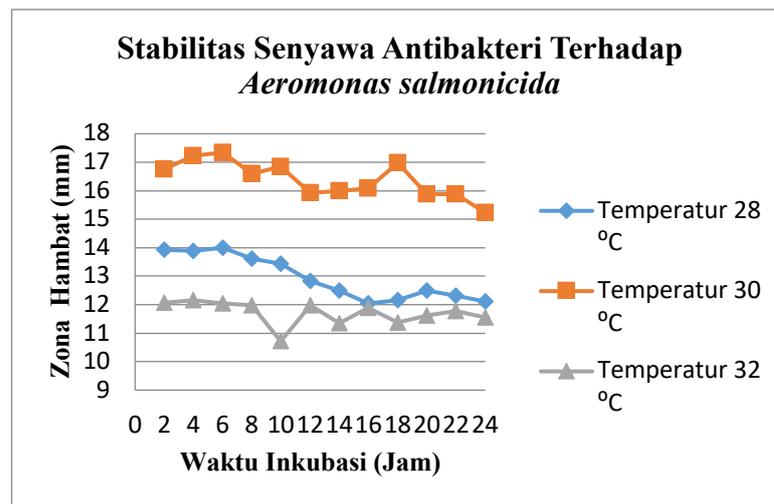
Ket: ++: Kuat, +: Sedang, -: Lemah

Berdasarkan kategori Davis and Stout (1971), dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak kasar *Halimeda micronesica* terhadap *Aeromonas salmonicida* pada temperatur 28°C, 30°C, dan 32°C di setiap waktu inkubasi tergolong kuat karena memiliki diameter yang berkisar antara 10-20

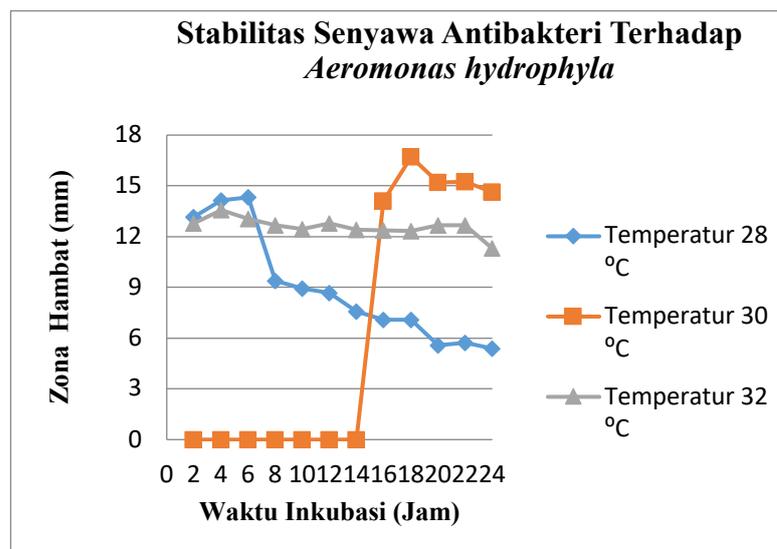
mm. Dari ketiga temperatur tersebut, zona hambat tertinggi terhadap bakteri *Aeromonas salmonicida* terbentuk pada temperatur 30°C dan waktu inkubasi jam ke-6 yaitu sebesar 17.34 mm. Aktivitas antibakteri ekstrak kasar *Halimeda micronesica* terhadap *Aeromonas hydrophyla* pada temperatur 28°C waktu

inkubasi 2-6 jam tergolong kuat karena memiliki zona bening yang berkisar antara 10-20 mm, namun pada waktu inkubasi 8-24 jam tergolong sedang karena memiliki zona bening yang berkisar antara 5-10 mm. Pada temperatur 30°C waktu inkubasi 2-14 jam tergolong lemah karena diameter zona bening yang terbentuk 0 mm, sebab zona bening dengan diameter 0-5 mm tergolong lemah, sementara pada waktu inkubasi 16-24 jam

tergolong kuat karena zona bening yang terbentuk berkisar antara 10-20 mm. Pada temperatur 32°C pada setiap waktu inkubasi tergolong kuat karena memiliki zona bening dengan diameter 10-20 mm. Dari ketiga temperatur tersebut, zona hambat tertinggi terhadap bakteri *Aeromonas hydrophyla* terbentuk pada temperatur 30°C dan waktu inkubasi jam ke-18 yaitu sebesar 16.71 mm.



Gambar 1. Grafik stabilitas senyawa antibakteri terhadap *Aeromonas salmonicida*.



Gambar 2. Grafik stabilitas senyawa antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophyla*.

Semakin besar zona bening yang terbentuk, maka semakin besar aktivitas ekstrak kasar rumput laut terhadap bakteri patogen (Pelczar and Chan, 2008). Rastina *dkk.* (2015), menyatakan bahwa kemampuan

suatu antibakteri dalam menghambat mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antibakteri dan jenis bahan antibakteri yang dihasilkan. Semakin besar konsentrasi suatu antibakteri, maka semakin besar zona

bening yang terbentuk. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi bahan antibakteri, maka semakin banyak zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga efektivitas dalam menghambat bakteri akan semakin meningkat dan menghasilkan zona bening yang lebih luas. Sebaliknya, pada konsentrasi yang rendah maka zat antibakteri yang terdapat di dalam suatu bahan antibakteri akan semakin sedikit, sehingga aktivitasnya akan semakin berkurang (Pratiwi, 2016). Menurut Lorain (2005), semakin besar konsentrasi antibakteri maka semakin cepat terjadi difusi, sehingga daya antibakteri akan semakin besar dan diameter zona hambat yang dihasilkan semakin luas.

Mekanisme yang terjadi dan senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakteri ekstrak kasar *Halimeda micronesica* belum diketahui secara pasti. Banyak penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan fenol pada rumput laut (makroalga) dapat mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme bakteri yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri (Renguant *et al.*, 2000). Senyawa fenol diduga menjadi faktor terbesar dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Renguant *et al.*, 2000). Selain itu pelarut yang digunakan untuk mengekstrak rumput laut juga mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan, karena beberapa senyawa metabolit sekunder rumput laut dapat larut di suatu pelarut namun tidak dapat larut di pelarut lain (Rangaiyah *et al.*, 2010). Cox *et al.* (2010) menyatakan bahwa ekstraksi senyawa antibakteri untuk mengekstrak rumput laut hijau lebih baik ketika menggunakan aseton, dan rumput laut didalam penelitian ini diekstrak menggunakan aseton.

Stabilitas senyawa antibakteri dari ekstrak kasar *Halimeda micronesica* yang diuji dengan perlakuan temperatur 28°C, 30°C, dan 32°C serta waktu inkubasi 2 jam selama 24 jam terhadap *Aeromonas salmonicida* (Gambar 1) dan *Aeromonas hydrophyla* (Gambar 2) didapatkan hasil bahwa senyawa

yang terkandung dalam ekstrak kasar *Halimeda micronesica* tidak stabil, karena diameter zona hambat yang terbentuk di setiap kenaikan temperatur dan penambahan waktu inkubasi berbeda (tidak berukuran sama). Senyawa tersebut dikatakan stabil bila pada setiap pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk sama. Menurut Tedja (2017), apabila diameter zona hambat yang diukur pada setiap perlakuan tetap sama, maka senyawa antibakteri dapat dikatakan stabil.

Hasil zona hambat bakteri uji *Aeromonas salmonicida* setelah dilakukan uji statistik dengan ANOVA dua arah (*two way Analysis of Variants*) (Lampiran 1) didapatkan hasil untuk perlakuan temperatur  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , sementara untuk waktu inkubasi dan interaksi antara temperatur dan waktu inkubasi  $F_{hitung} < F_{tabel}$ . Maka hanya perlakuan temperatur yang dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95% (Lampiran 3) dan didapatkan hasil bahwa perbedaan antara temperatur 28°C, 30°C, dan 32°C berbeda nyata, temperatur 30°C adalah temperatur dengan rata-rata diameter zona hambat tertinggi. Sementara untuk hasil zona hambat bakteri uji *Aeromonas hydrophyla* setelah dilakukan uji statistik dengan ANOVA dua arah (*two way Analysis of Variants*) (Lampiran 2) didapatkan hasil untuk perlakuan temperatur, waktu inkubasi dan interaksi antara temperatur dan waktu inkubasi  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , maka kedua perlakuan beserta interaksi antar perlakuan tersebut dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95% (Lampiran 4) dan didapatkan hasil bahwa perbedaan antar temperatur 28°C, 30°C, dan 32°C serta waktu inkubasi berbeda nyata. Temperatur 32°C adalah temperatur dengan rata-rata diameter zona hambat tertinggi, sementara untuk waktu inkubasi adalah pada jam ke-18. Kemudian untuk interaksi antara temperatur dan waktu inkubasi juga berbeda nyata. Rata-rata nilai zona hambat tertinggi adalah pada jam ke-18 dengan temperature 30°C.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian diketahui bahwa senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak kasar rumput laut *Halimeda micronesica* tidak stabil. Karena diameter zona hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan berbeda. Senyawa tersebut dikatakan stabil apabila pada setiap pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk sama.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai melalui pendanaan Penelitian Pembinaan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Bengkulu Tahun 2019 dengan No Kontrak 2145/UN30.15/LT/2019 .

## DAFTAR PUSTAKA

- Basir, A., K. Tarman, dan Desniar. 2017. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Alga Hijau *Halimeda Gracilis* dari Kabupaten Kepulauan Seribu. *JPHPI*. 20 (2) : 211-218.
- Bauer, A. W., W. M. Kirby, J. C. Sherris, dan M. Turek. 1996. *Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method*. *Am. J. Clin. Pathol.* 45 (4) : 493-496.
- Davis, W. W., and T. R. Stout. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 22 (4) : 659-665.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Pelatihan dan Penulisan Artikel Ilmiah. Yogyakarta.
- Kadi, A. 1987. Cara Mengenal Jenis-Jenis dari Marga *Halimeda*. *Oseana*. 12 (1) : 1-12.
- Kontesa, R. 2018. Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kasar *Halimeda micronesica* Asal Pantai Panjang Kota Bengkulu. *Skripsi*. Universitas Bengkulu.
- Purwandani, R. 2018. Uji Sensitivitas Beberapa Isolat *Aeromonas Hydrophila* terhadap Beberapa Antibiotik. *Thesis*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sartika, R., Melki, dan A. I. S. Purwiyanto. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma cottoni* terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* dan *Salmonella typhosa*. *Maspri*. 5 (2) : 98-103.
- Siregar, A. F., A. Sabdono dan D. Pringgenies. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*. 1 (2) : 152-160.
- Tedja, Y. 2017. Aktivitas dan Stabilitas Senyawa Antibakteri dari Ekstrak *Chaetoceros Gracilis*. *Thesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Widowaty, W. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar *Sargassum* sp. dari Pantai Sayang Heulang, Garut-Jawa Barat. *Agroscience*. 8 (2) : 268-274.