

KANDUNGAN FITOKIMIA, POTENSI ANTIBAKTERI, DAN ANTIOKSIDAN HASIL EKSTRAKSI *Caulerpa racemosa* DENGAN PELARUT BERBEDA

Phytochemical Content, Antibacterial, and Antioxidant Potency of Caulerpa racemosa Extracted with Different Solvents

Endar Marraskuranto^{1*}, Muhammad Nursid¹, Swestri Utami², Iriani Setyaningsih², dan Kustiariyah Tarman²

¹Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jl. KS Tubun, Petamburan VI, Jakarta Pusat, DKI Jakarta, 10260 Indonesia

²Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jl. Agatis, Bogor, Jawa Barat, 16680 Indonesia

*Korespondensi Penulis: endar.marraskuranto@kpk.go.id

Diterima: 23 September 2020; Direvisi: 25 November 2020; Disetujui: 4 Februari 2021

ABSTRAK

Caulerpa racemosa merupakan rumput laut hijau yang mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan. Perbedaan profil fitokimia dan bioaktivitas suatu ekstrak dapat dipengaruhi oleh kepolaran pelarut ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil fitokimia, aktivitas antibakteri, dan antioksidan ekstrak *C. racemosa*. Ekstrak diperoleh dari sampel segar *C. racemosa* yang dimaserasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Uji antibakteri dilakukan dengan metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Hasil penapisan fitokimia memperlihatkan bahwa ekstrak *n*-heksana mengandung alkaloid dan triterpenoid, sedangkan ekstrak etil asetat dan metanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan steroid. Aktivitas antibakteri terbaik ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat dengan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) terhadap *E. coli* sebesar 250 µg/mL. Ekstrak etil asetat *C. racemosa* juga memperlihatkan aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} DPPH sebesar 110,7 µg/mL dan nilai FRAP sebesar 96,68 µmol Fe (II)/g.

KATA KUNCI : *Caulerpa racemosa*, antibakteri, antioksidan, skrining fitokimia

ABSTRACT

Caulerpa racemosa is a green seaweed that contains active compounds that are potential for antibacterial and antioxidant. The phytochemical constituents and bioactivity of an extract could depend on the extraction solvent polarity. This study aimed to determine the phytochemical profiles, antibacterial, and antioxidant activity of *C. racemosa* extracts. Extracts were obtained from the fresh *C. racemosa* samples that were macerated with *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol. Antibacterial assay was tested by *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) method against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Antioxidant activity was determined using *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) and *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) methods. Phytochemical screening showed that *n*-hexane extract contained alkaloid and triterpenoid, while ethyl acetate and methanol extracts contained alkaloids, flavonoids, tannins, phenols, and steroids. The most active extract in the antibacterial assay was ethyl acetate extract with a *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) value of 250 µg/mL against *E. coli*. Ethyl acetate extract of *C. racemosa* also showed the best antioxidant activity where the IC_{50} of DPPH value was 110.7 µg/mL and the FRAP value was 96.68 µmol Fe(II)/g.

KEYWORDS: *Caulerpa racemosa*, antibacterial, antioxidant, phytochemical screening

PENDAHULUAN

Caulerpa racemosa atau yang dikenal dengan anggur laut merupakan jenis rumput laut hijau yang dapat dikonsumsi dari kelompok *Chlorophyceae*. Rumput laut *C. racemosa* mengandung konstituen

kimia seperti fenol, flavonoid, alkaloid, steroid (Rusli, Metusalach, Tahir, Salengke, & Syamsuar, 2016), caulerpin, caulerpicin, dan caulerpenin (Felline, Caricato, Cutignano, Gorbi, & Lionetto, 2012). Komponen bioaktif yang terkandung dalam *C. racemosa* tersebut berpotensi untuk dimanfaatkan

sebagai bahan antioksidan dan antibakteri. Kandhasamy dan Arunachalam (2008) mengungkapkan aktivitas antibakteri ekstrak *Caulerpa* dengan spektrum luas terhadap bakteri patogen Gram negatif dan Gram positif. Selain sebagai antibakteri, *C. racemosa* diketahui dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan (Belkacemi, Belalia, Djendara, & Bouhadda, 2020).

Salah satu informasi dasar yang diperlukan untuk memanfaatkan *C. racemosa* sebagai sumber senyawa antibakteri dan antioksidan adalah jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif yang ada di dalamnya. Ekstrak yang diperoleh dari pelarut dengan kepolaran berbeda dapat mengandung komponen aktif sesuai kelarutannya. Ekstrak etanol, etil asetat, dan *n*-heksana *C. racemosa* dilaporkan mengandung senyawa tanin, alkaloid, flavonoid, dan fenol dengan persentase yang berbeda (Marfuah, Dewi, & Rianingsih, 2018).

Rumput laut *C. racemosa* banyak tersebar hampir di seluruh perairan pantai Indonesia, salah satunya Pantai Binuangeun, Kecamatan Wanassalam, Kabupaten Lebak, Banten. Rumput laut *C. racemosa* tumbuh pada zona pasang surut berupa rata-rata terumbu yang terhampar luas di Pantai Binuangeun. Profil metabolit *C. caulerpa* dari pantai Binuangeun yang dipanen dengan cara yang berbeda telah diteliti oleh Sihono, Tarman, Maddupa, dan Januar (2018). Nursid et al. (2016) juga telah melakukan penapisan aktivitas antioksidan terhadap beberapa spesies rumput laut dari daerah ini.

Beberapa penelitian telah melaporkan aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak rumput laut menggunakan berbagai jenis pelarut yang berbeda. Ekstrak *n*-heksana, kloroform, etil asetat, aseton, dan metanol dari *C. chemnitzia* menunjukkan penghambatan terhadap bakteri *E. coli* dengan zona hambat yang berbeda, yaitu masing-masing 10,1; 12,0; 12,8; 11,6; dan 10,3 mm (Raj, Chandrasekaran, Krishnamoorthy, & Venkatesalu, 2015). Penelitian lainnya mengungkapkan ekstrak *n*-heksana, kloroform, etil asetat, aseton, dan metanol dari *C. scapelliformis* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat yang berbeda pula, yaitu masing-masing 13,0; 13,5; 15,5; 12,1; dan 10,8 mm (Jegan, Raj, Chandrasekaran, & Venkatesalu, 2019). Ekstrak metanol *C. racemosa* memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri *Vibrio cholerae* (Radhika, Veerabahu, & Priya, 2012).

Ekstrak metanol *C. racemosa* kering (dosis 4000 ppm) menunjukkan nilai FRAP rata-rata sebesar 46,5 $\mu\text{mol Fe (II)/g}$ dan penghambatan terhadap DPPH rata-rata sebesar 31% (Djapiala, Lita, Montolalu, & Mentang, 2013). Aktivitas antioksidan DPPH ekstrak

C. racemosa dari Pantai Sundak, Gunungkidul, Yogyakarta yang diekstraksi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol menunjukkan nilai IC_{50} berturut-turut 336,2 ppm; 180,2 ppm; dan 367,8 ppm (Kurniawan, Dewi, & Agustini, 2012), dengan profil fitokimia yang dihasilkan juga berbeda. Hal yang sama diungkap oleh Noor dan Nursandi (2015) dimana terdapat perbedaan profil fitokimia, rendemen, dan aktivitas antioksidan *Caulerpa* sp. dari Teluk Lampung yang diekstraksi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Rumput laut *Halimeda macroloba* dilaporkan juga menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 259,34; 1567,27 dan 38,57 $\mu\text{g/ml}$ setelah diekstraksi masing-masing dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol (Muzaki, Setyati, Subagiyo, & Pramesti, 2018).

Penelitian ekstraksi rumput laut *C. racemosa* dari Pantai Binuangeun, Banten menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda masih terbatas informasinya, demikian juga bioaktivitasnya, khususnya antibakteri dengan metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) dan kapasitas antioksidan dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Oleh karena itu, penelitian bioprospeksi *C. racemosa* dengan metode REMA dan FRAP dari wilayah tersebut penting untuk dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari profil fitokimia dan bioaktivitas ekstrak *C. racemosa* yang diekstraksi dengan pelarut yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rumput laut hijau *C. racemosa* yang diperoleh dari perairan Pantai Binuangeun, Banten. Bakteri uji *E. coli* (ATCC@25922™) dan *S. aureus* (ATCC@25923™) koleksi dari Laboratorium Bioteknologi, Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBRPPBKP), pelarut *n*-heksana analitis (JT Baker), etil asetat analitis (JT Baker), metanol analitis (JT Baker), bahan uji antioksidan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) (Sigma Aldrich) 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazin (TPTZ) (Sigma Aldrich), dan resazurin (Sigma Aldrich).

Metode

Pengambilan sampel dan ekstraksi

Sampel diambil dari zona pasang surut Pantai Binuangeun, Banten. Sampel yang diperoleh langsung dipreservasi di dalam *cool box* berisi es batu (15-20°C). Identifikasi jenis berdasarkan karakteristik morfologi dilakukan menurut Atmadja, Kadi, Sulistijo dan Rachmaniar (1996) dan Setyobudiandi, Soekendarsi, Juariah, Bahtiar, dan Hari (2009).

Proses identifikasi dilakukan di Laboratorium Hidrobiologi Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan rasio berat rumput laut terhadap volume pelarut 1:2 (b/v). Rumput laut dicuci sampai bersih, ditiriskan, ditimbang sebanyak 100 g, dipotong kecil-kecil (sekitar 1-2 cm³), dan dimaserasi dengan pelarut berbeda, masing-masing dengan 200 ml *n*-heksana, etil asetat, atau metanol. Maserasi dilakukan selama 72 jam pada suhu ruang dan kondisi gelap. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 93. Evaporasi pelarut dilakukan dengan *rotary vacuum evaporator* (Buchi) dengan suhu penangas 40°C dan tekanan vakum berkisar antara 70-300 mbar. Ekstrak yang telah pekat kemudian dikeringkan menggunakan *vacuum concentrator* pada suhu ruang 33°C dan disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan untuk penelitian selanjutnya.

Analisis fitokimia ekstrak *C. racemosa*

Analisis fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak *C. racemosa* meliputi deteksi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid yang mengacu pada Endarini (2016). Sedangkan analisis senyawa fenol dan saponin mengacu pada Harborne (1987).

Uji aktivitas Antibakteri ekstrak *C. racemosa*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menentukan nilai *Minimum Inhibition Concentration* (MIC). Metode pengujian MIC yang digunakan yaitu *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) sesuai Fajarningsih, Munifah, dan Zilda (2018). Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* digunakan sebagai bakteri uji. Biakan bakteri uji diinokulasikan ke media *Mueller Hinton Broth* (MHB) dan ditumbuhkan dengan kondisi terkontrol pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri uji yang telah tumbuh diencerkan hingga diperoleh kepadatan suspensi bakteri sesuai dengan standar *McFarland* 0,5 sebesar 10⁸ CFU/mL dengan nilai *Optical Density* (OD) 0,8-1,0 pada panjang gelombang 625 nm. Pengujian dilakukan menggunakan mikroplate 96 sumuran steril. Sumuran pertama diisi larutan ekstrak dengan konsentrasi tertinggi yaitu 10 mg/mL sebanyak 100 µL. Selanjutnya, pada ekstrak tersebut dilakukan pengenceran bertingkat (50 µL akuades ditambah 50 µL ekstrak) ke sumuran selanjutnya. Pengenceran dilakukan dalam satu baris mikroplate sampai dengan 11 kali pengenceran. Larutan reagen resazurin (Sigma Aldrich) sebanyak 10 µL ditambahkan pada setiap sumuran. Suspensi bakteri 10 µL (10⁸ CFU/mL) dalam media MHB 30 µL ditambahkan pada tiap sumuran. Mikroplate diinkubasi

dengan kondisi terkontrol pada suhu 37°C selama 24 jam. Kontrol positif (kloramfenikol) disiapkan dengan cara yang sama seperti sampel. Kontrol negatif disiapkan tanpa penambahan ekstrak. Pengamatan perubahan warna dilakukan secara visual, ekstrak yang aktif (dapat menekan pertumbuhan bakteri) akan menghasilkan warna biru pada sumuran, sedangkan ekstrak yang tidak aktif menghasilkan warna merah muda. Penentuan nilai MIC dilakukan berdasarkan penghambatan pertumbuhan bakteri pada konsentrasi paling rendah.

Uji aktivitas antioksidan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan menurut Sachindra et al. (2007) dengan beberapa modifikasi. Ekstrak kasar *C. racemosa* dibuat beberapa seri konsentrasi. Larutan sampel dimasukkan ke dalam sumuran masing-masing sebanyak 160 µL untuk setiap seri konsentrasi. Selanjutnya, larutan DPPH (konsentrasi 0,76 mM) ditambahkan ke dalam sumuran yang berisi larutan sampel masing-masing sebanyak 40 µL. Kontrol sampel dibuat dengan mereaksikan larutan sampel sebanyak 160 µL dan metanol sebanyak 40 µL di dalam sumuran. Kontrol negatif dibuat dengan mereaksikan 160 µL metanol dan 40 µL DPPH, serta 200 µL metanol digunakan sebagai blanko. Larutan asam askorbat (Merck) yang dibuat dalam beberapa seri konsentrasi digunakan sebagai kontrol positif. *Microplate* disimpan pada ruang gelap selama 30 menit dan suhu 27-28°C. Absorbansi dari setiap sumuran dibaca dengan *microplate reader* Multiskan GO (Thermo) pada panjang gelombang 517 nm. Penghambatan radikal bebas dinyatakan sebagai persentase penghambatan dan dihitung dengan rumus pada persamaan (1).

$$\text{Hambatan (\%)} = \frac{(C - D) - (A - B)}{(C - D)} \dots\dots\dots (1)$$

A adalah absorbansi ekstrak; B adalah absorbansi kontrol ekstrak; C adalah absorbansi kontrol negatif; dan D adalah absorbansi blanko. Selanjutnya, nilai *Inhibition Concentration 50* (IC₅₀) ditentukan dari ekstrapolasi persentase penghambatan radikal bebas DPPH terhadap seri konsentrasi sampel. Nilai IC₅₀ tersebut dihitung menggunakan analisis probit.

Uji kapasitas antioksidan metode FRAP

Uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP mengacu pada Benzie dan Strain (1996) dan Kelman et al. (2012). Reagen FRAP disiapkan dengan mencampurkan 300 mM buffer asetat (pH 3,6), 10 mM larutan 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazin/TPTZ (Sigma Aldrich), dan 20 mM FeCl₃·6H₂O dengan rasio 10:1:1

(v/v). Reagen FRAP dibiarkan bereaksi pada suhu 37°C selama 1 menit. Larutan buffer asetat (pH 3,6) disiapkan dengan melarutkan 40,8 g natrium asetat trihidrat dalam 500 mL akuades dan pH larutan disesuaikan dengan penambahan asam asetat glasial. Larutan TPTZ disiapkan dengan mengencerkan TPTZ dalam 40 mM larutan HCl. Reagen FRAP sebanyak 150 µL dituangkan ke mikroplate 96 sumuran dan ditambahkan dengan ekstrak *C. racemosa* (konsentrasi 1000 µg/ml) sebanyak 20 µL. Mikroplate diinkubasi dalam keadaan gelap pada suhu 27-28°C selama 8 menit. Absorbansi diukur dengan pembacaan dari *microplate reader* Multiskan GO (Thermo) pada panjang gelombang 595 nm. Untuk kurva standar, yang digunakan FeSO₄.7H₂O dengan metode yang sama dengan sampel dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 µM. Kapasitas antioksidan ekstrak dihitung menggunakan persamaan yang dihasilkan dari kurva standar FeSO₄.7H₂O dalam satuan µmol Fe(II)/g ekstrak.

Pengolahan data

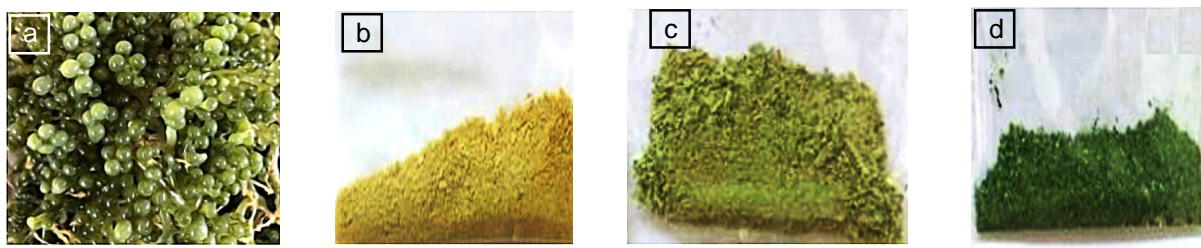
Setiap unit perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan. Data ditampilkan dalam bentuk rerata dan simpangan baku. Perbedaan tiap rerata dianalisis dengan uji ANOVA satu arah (signifikansi 5%) yang dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (Tukey). Analisis dilakukan dengan bantuan perangkat lunak MINITAB versi 15.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Ekstrak

Identitas sampel rumput laut hijau terkonfirmasi sebagai spesies *C. racemosa* melalui analisis morfologi di Laboratorium Hidrobiologi Laut, FPIK-IPB (Gambar 1a). Ekstrak *n*-heksana *C. racemosa* menghasilkan warna kuning kehijauan, sementara ekstrak etil asetat menghasilkan warna hijau muda, dan ekstrak metanol menghasilkan warna hijau tua (Gambar 1b-d). Rendemen masing-masing ekstrak *C. racemosa* dapat dilihat pada Tabel 1. Ekstrak metanol merupakan ekstrak dengan rendemen tertinggi, yaitu 4,25%, sementara rendemen terendah terdapat pada ekstrak *n*-heksana sebesar 1,22% ($p < 0,05$).

Ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan senyawa bioaktif target secara optimal dari suatu bahan atau material (Chang, Yang, Wen, & Chern, 2002). Efisiensi ekstraksi sangat dipengaruhi oleh beberapa kondisi, antara lain metode ekstraksi, temperatur, waktu, komposisi fitokimia, dan pelarut yang digunakan. Jika kondisi ekstraksi tersebut sama, maka pelarut merupakan parameter yang paling penting dalam isolasi suatu senyawa aktif (Truong et al., 2019). Tingginya rendemen ekstrak metanol menunjukkan bahwa *C. racemosa* mengandung senyawa-senyawa polar dan semi polar yang dapat larut dengan baik dalam metanol. Polaritas pelarut sangat



Gambar 1. Sampel rumput laut *C. racemosa* (a), dan hasil ekstrak *n*-heksana (b), etil asetat (c), dan metanol (d) *C. racemosa*

Figure 1. *C. racemosa* seaweed sample (a), and extracts of *n*-hexane (b), ethyl acetate (c) and methanol (d) of *C. racemosa*

Tabel 1. Rendemen ekstrak *C. racemosa* yang diekstraksi dengan pelarut berbeda

Table 1. Yield of *C. racemosa* extracts that were extracted with different solvent

Pelarut/Solvents	Rendemen/Yield (%)
<i>n</i> -Heksana/ <i>n</i> -Hexane	1.22 ± 0.33 ^a
Etil asetat/ <i>Ethyl acetate</i>	2.08 ± 0.29 ^b
Metanol/ <i>Methanol</i>	4.25 ± 0.24 ^c

Keterangan/Notes : *) Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata secara statistik pada $p < 0,05$ /Different letters indicate statistical differences at $p < 0.05$

mempengaruhi jumlah bahan aktif yang dapat terekstrak. Metanol memiliki kisaran polaritas yang lebar sehingga dapat mengekstrak bahan aktif dalam jumlah yang lebih banyak, mulai dari senyawa non polar, semi polar sampai polar.

Sejumlah senyawa polar seperti gula, asam amino, dan glikosida (Houghton & Raman, 1998), senyawa fenol dengan berat molekul rendah dan sedang serta senyawa-senyawa dengan polaritas medium (Lin, Kuo, Lin, & Chiang, 2009), aglikon flavonoid (Dehkharghanian, Adenier, & Vijayalakshmi, 2010), antosianin, terpenoid, saponin, tanin, xantoxilin, totarol, quacinoid, lakton, penon, dan polifenol larut di dalam metanol. Senyawa-senyawa alkaloid, aglikon, glikosida, sterol, terpenoid, dan flavonoid larut di dalam etil asetat (Cowan, 1999). *N*-heksana dapat melarutkan senyawa non polar seperti lemak, wax, aglikon, sterol, dan terpenoid (Cowan, 1999; Houghton & Raman, 1998).

Penapisan fitokimia bertujuan memberikan informasi golongan senyawa yang terkandung pada *C. racemosa*. Ekstrak etil asetat dan metanol terlihat memiliki profil golongan senyawa yang sama. Perbandingan antara hasil uji fitokimia ekstrak *C. racemosa* dalam penelitian ini dengan penelitian lain dapat dilihat pada Tabel 2.

Profil fitokimia ekstrak *C. racemosa* memperlihatkan bahwa pada ekstrak *n*-heksana terdeteksi adanya golongan senyawa alkaloid dan triterpenoid, berbeda dengan ekstrak etil asetat dan metanol yang menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, tanin, fenol, dan steroid. Berdasarkan profil fitokimia tersebut dapat diduga

absennya salah satu atau kombinasi dari keempat golongan senyawa tersebut dapat menyebabkan bioaktivitas ekstrak *n*-heksana tidak sebaik ekstrak etil asetat dan metanol. Pada ekstrak metanol terdeteksi beberapa senyawa, antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan steroid. Keberadaan flavonoid dan fenol pada ekstrak metanol sama dengan hasil yang diperoleh beberapa penelitian sebelumnya (Azhagu, Mala, & Prakasam, 2015; Nurjanah, Jacob, Asmara, & Hidayat, 2019) (Tabel 2). Perbedaan preparasi sampel dan metode maserasi diduga dapat mempengaruhi profil fitokimianya.

Penelitian Mehdinezhad, Ghannadi, dan Yegdaneh (2016) mengungkapkan adanya kandungan tanin, sterol, dan triterpenoid relatif tinggi pada profil fitokimia beberapa spesies rumput laut *Sargassum*. Tingginya aktivitas penangkapan radikal bebas pada rumput laut tersebut berhubungan dengan adanya gugus hidroksil senyawa fenolik. Selain itu, adanya senyawa fenol juga berhubungan dengan aktivitas antibakteri. Dalam penelitian ini, konstituen lain yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat dan metanol adalah saponin dan steroid. Saponin dapat berperan sebagai anti inflamasi sedangkan steroid dapat dimanfaatkan sebagai agen antimikroba (Ambhore & Whankatte, 2016).

Aktivitas Antibakteri Ekstrak *C. racemosa*

Ekstrak etil asetat memiliki nilai MIC yang paling kecil dibandingkan ekstrak *n*-heksana dan metanol yaitu sebesar 250 µg/mL, baik terhadap bakteri *S. aureus* maupun *E. coli* (Tabel 3). Ekstrak *n*-heksana memiliki nilai MIC 1000 µg/mL terhadap kedua bakteri tersebut. Ekstrak metanol memiliki nilai MIC sebesar

Tabel 2. Komponen fitokimia ekstrak *C. racemosa*
 Table 2. *Phytochemical constituents of C. racemosa extract*

Uji/Test	Ekstrak/Extract			Hasil penelitian lain/ Other research results	
	Hek	EA	M	M ⁽¹⁾	M ⁽²⁾
Alkaloid	+	+	+	-	-
Flavonoid	-	+	+	+	+
Tanin	-	+	+	-	+
Saponin	-	-	-	+	+
Fenol	-	+	+	+	+
Triterpenoid	+	-	-	-	-
Steroid	-	+	+	+	-

Keterangan/Notes : (+) : terdeteksi/*detected*; (-) : tidak terdeteksi/*not detected*; Hek : *n*-heksana/*n-hexane*; EA : etil asetat/*ethyl acetate*; M : metanol/*methanol*; Cl : khlorofom/*chloroform*; ⁽¹⁾: Nurjanah et al., (2019); ⁽²⁾: Azhagu et al. (2015).

250 µg/mL terhadap *S. aureus* dan 500 µg/mL terhadap *E. coli*.

Metode uji antibakteri REMA merupakan metode mikrodilusi yang menggunakan resazurin sebagai indikator warna untuk mengetahui penghambatan pertumbuhan bakteri. Perubahan warna karena reduksi resazurin (warna biru) menjadi resofurin (merah muda) disebabkan oleh enzim oksidoreduktase di dalam sel hidup (Sarker, Nahar & Kumarasamy, 2007). Metode ini memiliki sensitivitas dan selektifitas yang lebih baik dibandingkan metode lain (Bwanga, Joloba, Haile, & Hoffne, 2010). Aktivitas antibakteri diperoleh dengan menentukan nilai MIC. Nilai MIC didefinisikan sebagai konsentrasi terkecil dari suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga semakin kecil nilai MIC maka aktivitas antibakteri semakin tinggi. Penggunaan metode REMA memungkinkan untuk menentukan konsentrasi ekstrak dalam satuan tertentu sehingga nilai hambatannya terhadap pertumbuhan bakteri dapat diketahui secara kuantitatif.

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki bioaktivitas antibakteri terbaik dengan nilai MIC 250 µg/mL terhadap dua bakteri uji. Ekstrak metanol juga memperlihatkan bioaktivitas yang baik tetapi memiliki nilai MIC yang lebih tinggi yakni sebesar 500 µg/mL terhadap *E. coli*. Aktivitas antibakteri ekstrak *C. racemosa* masuk dalam kategori cukup potensial. Kategori ini mengacu pada Fajarningsih et al. (2018) yang menyatakan bahwa kategori tidak aktif apabila nilai MIC lebih dari 1000 µg/mL, kategori cukup potensial 100-1000 µg/mL, kategori potensial 10-100 µg/mL, dan kategori sangat potensial apabila nilai MIC kurang dari 10 µg/mL. Dalam penelitian ini, ekstrak etil asetat dan metanol *C. racemosa* memiliki aktivitas antibakteri tertinggi. Hasil berbeda justru diperoleh oleh Marfuah et al. (2018) yang memperlihatkan bahwa ekstrak etanol *C. racemosa* dari perairan Karimunjawa memiliki

hambatan terbaik terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi ekstrak 15%.

Mengacu pada hasil penapisan fitokimia, ekstrak etil asetat dan metanol *C. racemosa* mengandung senyawa fenol dan tanin, sedangkan ekstrak *n*-heksana tidak mengandung kedua golongan senyawa tersebut. Penelitian Belkacemi et al. (2020) mendapatkan kandungan tanin dan fenol yang paling tinggi dalam ekstrak kloroform dibanding ekstrak *n*-heksana dan metanol. Seperti pada hasil penelitian ini, ekstrak *n*-heksana dan metanol memiliki aktivitas antibakteri lebih rendah daripada ekstrak etil asetat sehingga senyawa antibakteri yang terdapat dalam *C. racemosa* diduga berasal dari golongan fenol, saponin, ataupun steroid. Reguant, Bordons, Arola, dan Rozès (2000) menyatakan bahwa senyawa fenol memiliki efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba. Tanin memiliki peran sebagai antivirus dan antibakteri. Sebagai tambahan, caulerpin, sebagai senyawa metabolit sekunder yang sudah banyak dikenal pada *C. racemosa* diduga berhubungan dengan aktivitas antibakteri. Caulerpin, suatu senyawa bisindol alkaloid, memiliki aktivitas antimikrobal khususnya sebagai agen antituberkulosis (Chay, Cansino, Pinzón, Torres-Ochoa, & Martínez, 2014).

Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Selaras dengan hasil uji antibakteri, ekstrak etil asetat memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH terbaik dengan nilai IC₅₀ yang paling rendah (p<0,05). Ekstrak *n*-heksana adalah ekstrak yang paling tidak aktif diantara ekstrak etil asetat dan metanol (Gambar 2).

Nilai IC₅₀ aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak etil asetat *C. racemosa* diperoleh sebesar 110,7 µg/mL. Nilai tersebut termasuk dalam kisaran aktivitas antioksidan medium. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol (IC₅₀ = 132,08 µg/mL) juga termasuk dalam katagori medium, sedangkan aktivitas

Tabel 3. Nilai MIC ekstrak *C. racemosa* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*
 Table 3. MIC value of *C. racemosa* extract againsts *S. aureus* and *E. coli*

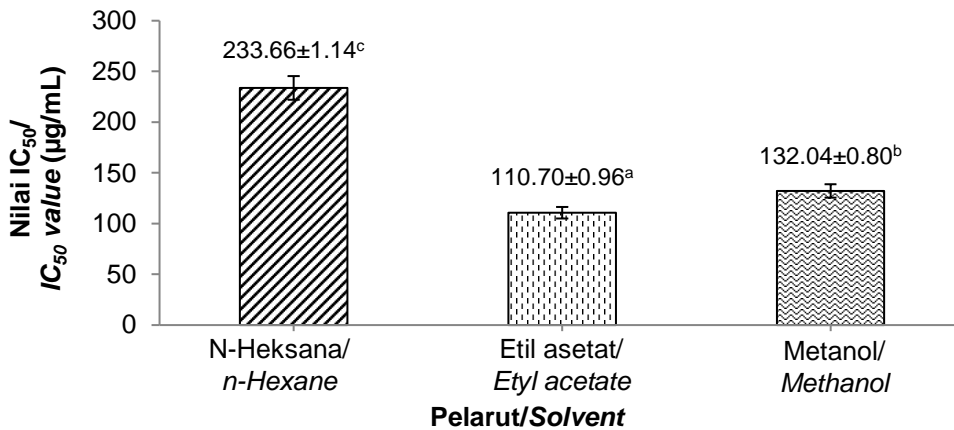
Ekstrak/Extracts	Nilai MIC/MIC value (µg/mL)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>n</i> -Heksana/ <i>n</i> -Hexane	1000	1000
Etil asetat / <i>Ethyl acetate</i>	250	250
Metanol/ <i>Methanol</i>	250	500
Kloramfenikol (kontrol positif)/ <i>Chloramphenicol (positive control)</i>	0.49	0.49

antioksidan ekstrak *n*-heksana ($IC_{50} = 233,66 \mu\text{g/mL}$) termasuk dalam katagori lemah. Menurut Molyneux (2004), aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat dibagi dalam beberapa kategori, yaitu sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat $50-100 \mu\text{g/mL}$, medium $101-150 \mu\text{g/mL}$, dan lemah $> 150 \mu\text{g/mL}$.

Penanganan rumput laut pasca pengambilan sampel mempengaruhi aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH. *Caulerpa* yang dipreservasi dengan suhu dingin (penambahan es) memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibanding dengan sampel yang dipreservasi dengan nitrogen cair dan disimpan dengan air laut (Sihono et al., 2018). Sementara itu, Nursid et al. (2016) mendapatkan aktivitas antioksidan *C. caulerpa* dengan metode FRAP berkisar antara $10,0-11,0 \mu\text{M}/\mu\text{g}$ ekstrak dan nilai inhibisi terhadap DPPH sebesar sekitar 15% pada konsentrasi ekstrak $1000 \mu\text{g/mL}$.

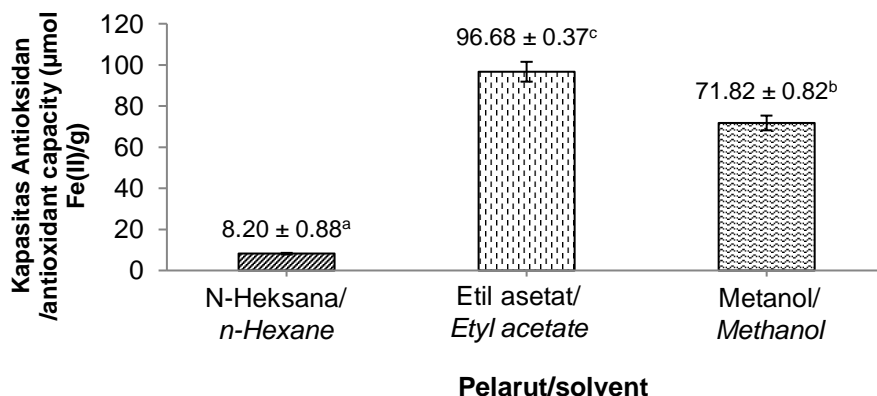
Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

Nilai FRAP tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat, yaitu $96,68 \mu\text{mol Fe(II)/g}$, diikuti oleh ekstrak metanol dan *n*-heksana dengan nilai FRAP berturut-turut sebesar $71,82 \mu\text{mol Fe(II)/g}$ dan $8,20 \mu\text{mol Fe(II)/g}$ (Gambar 3). Nilai FRAP ketiga ekstrak *C. racemosa* berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Selaras dengan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH, kapasitas antioksidan metode FRAP ekstrak etil asetat ($96,68 \mu\text{mol Fe(II)/g}$) dan metanol ($71,8 \mu\text{mol Fe(II)/g}$) juga termasuk dalam kategori medium. Kapasitas antioksidan ekstrak *n*-heksana ($8,20 \mu\text{mol Fe(II)/g}$) termasuk lemah. Jika suatu bahan atau ekstrak memiliki nilai kapasitas antioksidan $\geq 500 \mu\text{mol Fe(II)/g}$, maka dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat, nilai kapasitas antara $100-500 \mu\text{mol Fe(II)/g}$ termasuk kategori kuat, nilai kapasitas $10-100 \mu\text{mol}$



Keterangan/Notes : Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata secara statistik pada $p < 0,05$ /Different letters indicate statistical differences at $p < 0.05$

Gambar 2. Aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH ekstrak *C. racemosa*
Figure 2. DPPH free radical scavenging activity of *C. racemosa* extract



Keterangan/Notes: Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata secara statistik pada $p < 0,05$ / different letters indicate statistical differences at $p < 0.05$

Gambar 3. Kapasitas antioksidan FRAP ekstrak *C. racemosa*
Figure 3. FRAP antioxidant capacity of *C. racemosa* extract

Fe(II)/g termasuk medium dan nilai kapasitas ≤ 10 $\mu\text{mol Fe(II)/g}$ termasuk lemah (Wong, Li, Cheng, & Chen, 2006). Keberadaan senyawa flavonoid pada sampel dapat membantu proses reduksi ion logam misalnya besi (Benavente, Castillo, Marin, Ortuño, & Del-Rio, 1997). Oleh karena itu, keberadaan senyawa flavonoid pada ekstrak etil asetat menunjukkan efek positif pada hasil uji kapasitas antioksidan metode FRAP. Adanya komponen yang memiliki daya reduksi mengindikasikan bahwa komponen tersebut dapat bersifat sebagai pendonor elektron dan bisa mengurangi oksidasi lemak pada proses peroksidasi (Yen & Chen, 1995).

Uji antioksidan metode DPPH dan FRAP termasuk uji yang didasarkan pada metode transfer elektron (*electron transfer base assay* atau *ET-base assay*). *ET-base assay* mengukur kapasitas antioksidan suatu bahan dengan mereduksi oksidan yang umumnya berubah warna pada saat tereduksi. Derajat perubahan warna tersebut berkorelasi dengan konsentrasi antioksidan pada suatu sampel (Apak, Ozyurek, Guc'lu, & C'apanoglu, 2013). Uji aktivitas antioksidan dalam penghambatan radikal bebas DPPH didasarkan pada kemampuan suatu bahan atau ekstrak mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH, sehingga akan terbentuk radikal bebas yang bersifat lebih stabil. FRAP merupakan uji kapasitas antioksidan yang mengukur kemampuan antioksidan suatu bahan mendonorkan elektron, sehingga terjadi reaksi reduksi kompleks Fe (III)-tripiridiltriazin (TPTZ) yang tidak berwarna menjadi kompleks Fe (II)-TPTZ yang berwarna biru pada pH rendah (Pisoschi & Negulescu, 2011). Reaksi FRAP dengan antioksidan yang menghasilkan warna tunggal, yaitu Fe (II)-TPTZ diamati secara spektrofotometri, dimana absorbansi FRAP versus kurva konsentrasi memiliki linieritas yang baik. Kekurangan metode FRAP adalah kurang sensitif dalam mendeteksi kapasitas antioksidan protein yang mengandung tiol, resveratrol dan karotenoid (Pulido, Bravo, & Saura-Calixto, 2000).

Uji DPPH dan FRAP termasuk metode yang relatif sederhana, praktis, dan relatif tidak mahal dalam mengevaluasi aktivitas penghambatan radikal bebas suatu antioksidan (Kedare & Singh, 2011). Apak et al. (2013) mempertegas bahwa tidak ada uji antioksidan lain yang lebih sederhana dan murah dibandingkan dengan metode DPPH. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini memperlihatkan potensi antibakteri dan antioksidan rumput laut *C. racemosa* serta pendugaan konstituen fitokimia yang ada di dalamnya. Meskipun aktivitas ekstrak *C. racemosa* termasuk dalam kategori medium, tetapi hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menambah informasi dan sebagai bahan pertimbangan dalam

pengembangan bahan aktif yang terdapat pada *C. racemosa* sebagai *ingredient* nutrasetika, kosmetika, maupun farmasetika.

KESIMPULAN

Ekstrak yang diperoleh dari pelarut dengan kepolaran berbeda memberikan pengaruh terhadap senyawa aktif yang dihasilkan dari *C. racemosa*. Perbedaan kepolaran pelarut yang digunakan berpengaruh pada rendemen, aktivitas antibakteri, dan antioksidan masing-masing ekstrak. Walaupun memiliki rendemen yang lebih rendah daripada hasil ekstraksi dengan metanol, ekstrak etil asetat *C. racemosa* yang terdeteksi mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan steroid merupakan ekstrak yang menghasilkan aktivitas antibakteri dan antioksidan terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambhore, J. S. & Whankatte, V. R. (2016). Biodiversity of marine algae along the Raigad Coast of Konkan, Maharashtra. *European Journal Experimental Biology*, 6(4), 69-76.
- Apak R, Ozyurek M, Guc'lu K, & C'apanoglu, E. (2013). Antioxidant activity/capacity measurement 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 64(5), 997-1027.
- Atmadja, W. S., Kadi, A., Sulistijo, & Satari, R. (1996). *Pengenalan jenis-jenis rumput laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi, LIPI, Jakarta.
- Azhagu, R. R., Mala, K., & Prakasam, A. (2015). Phytochemical analysis of marine macroalga *Caulerpa racemosa* (J. Agardh) (Chlorophyta - Caulerpaceae) from Tirunelveli District, Tamilnadu, India. *Journal of Global Biosciences*, 4(8), 3055-3067.
- Belkacemi, L., Belalia, M., Djendara, A. C., & Bouhadda, Y. (2020). Antioxidant and antibacterial activities and identification of bioactive compounds of various extracts of *Caulerpa racemosa* from Algerian coast. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10(2), 87-94. doi: 10.4103/2221-1691.275423
- Benavente, G. O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuño, A., & Del-Rio, J. A. (1997). Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 45(1), 4505-4515. doi: 10.1021/jf970373s
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1), 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292.
- Bwanga, F., Joloba, M. L., Haile, M., & Hoffne, S. (2010). Evaluation of seven tests for the rapid detection of multidrug-resistant tuberculosis in Uganda. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 14(7), 890-895.

- Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Chay, C. I. C., Cansino, R. G., Pinzón, C. I. E., Torres-Ochoa, R. O., & Martínez, R. (2014). Synthesis and anti-tuberculosis activity of the marine natural product caulerpin and its analogues. *Marine Drugs*, 12(4), 1757–1772. doi:10.3390/md12041757
- Cowan, M.M. (1999). Plant product as antimicrobial agents. *Journal of Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- Dehkharghanian, M., Adenier, H., & Vijayalakshmi, M. A. (2010). Study of flavonoids in aqueous spinach extract using positive electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*, 121(3), 863-870. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.007
- Djapiala, F. Y., Montolalu, L. A. D. Y., & Mentang F. (2013). Kandungan total fenol dalam rumput laut *Caulerpa racemosa* yang berpotensi sebagai antioksidan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(2), 1-5. doi: <https://doi.org/10.35800/mthp.1.2.2013.1859>
- Endarini, L.H. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. Pusdik SDM Kesehatan Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumberdaya Manusia Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. (pp. 130-134). Diakses dari: <http://bppsdkm.kemkes.go.id/pusdiksdm/wp-content/uploads/2017/08/Farmakognisi-dan-Fitokimia-Komprehensif.pdf> tanggal 23 September 2020.
- Fajarningsih, N. D., Munifah, I., & Zilda, D. S. (2018). Evaluation of antibacterial assays for screening of marine invertebrate extracts. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 13(1), 1-8. doi: 10.15578/squalen.v13i1.294
- Felline, S., Caricato, R., Cutignano, A., Gorbi, S., & Lionetto, M. G. (2012). Subtle effects of biological invasions: cellular and physiological responses of fish eating the exotic pest *Caulerpa racemosa*. *PLoS ONE*, 7(6), e38763. doi: 10.1371/journal.pone.0038763
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. (pp 1-2, 147-151, 234-236). Terjemahan: Padmawinata K, Sudiro I. Bandung (ID): Institut Teknologi Bandung.
- Houghton, P., & Raman, A. (1998). *Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts* (pp.199). New York : Chapman and Hall.
- Januar, H. I. & Wikanta, T. (2011). Korelasi kandungan fukosantin dari *Turbinaria* sp. terhadap nutrisi laut di Pantai Binuaneun dan Krakal. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 6(1), 18-25. doi: 10.15578/squalen.v6i1.57
- Jegan, S., Raj, G. A., Chandrasekaran, M., & Venkatesalu, V. (2019). Anti-MRSA activity of *Caulerpa* and *Ulva* species from Gulf of Mannar Coast, South India. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 6(1), 78-99.
- Kandhasamy, M. & Arunachalam, K. D. (2008). Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*, 7(12), 1958-1961. doi: 10.5897/AJB08.120.
- Kedare, S. B. & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Sciences & Technology*, 8(4), 412-422. doi: 10.1007/s13197-011-0251-1
- Kelman, D., Posner, E. K., McDermid, K. J., Tabandera, N. K., Wright, P. R., & Wright, A. D. (2012). Antioxidant activity of Hawaiian marine algae. *Marine Drugs*, 10(2), 403-416. doi: 10.3390/md10020403
- Kusumawati, R., Basmal, J., & Utomo, S.B. (2018). Physicochemical characteristics of sodium alginate extracted from *Turbinaria* sp. and *Sargassum* sp. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 13(2), 79-84. doi: 10.15578/squalen.v13i2.297
- Kurniawan, A., Dewi, E. N., & Agustin, T. W. (2012). Kajian potensi aktivitas antioksidan rumput laut *Caulerpa racemosa* dari Pantai Sundak Kabupaten Gunungkidul. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Kelautan dan Perikanan 2012*, Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 310-322.
- Lin, H.Y., Kuo, Y.H., Lin, Y.L., & Chiang W. (2019). Antioxidative effect and active component from leaves of lotus (*Nelumbo nucifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6623-6629. doi: 10.1021/jf900950z
- Marfuah, I., Dewi, E. N., & Rianingsih, L. (2018). Kajian potensi ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 7-14.
- Mehdinezhad, N., Ghannadi, A., & Yegdaneh, A. (2016). Phytochemical and biological evaluation of some *Sargassum* species from Persian Gulf. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(3), 243-249.
- Molyneux, P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science Technology*, 26(2), 211–219.
- Muzaki, A. F., Setyati, W. A., Subagiyo, & Pramesti, R. (2018). Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Halimeda macroloba* dari Pantai Teluk Awur, Jepara, Jawa Tengah. *Jurnal Enggano*, 3(2), 144-155. doi: 10.31186/jenggano.3.2.144-155
- Noor, N. M. & Nursandi, J. (2014). Karakteristik kimiawi rumput laut lokal (*Caulerpa* sp.) dan potensinya sebagai sumber antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian*. Politeknik Negeri Lampung 24 Mei 2014, 577-584.
- Nurjanah, Jacob, A.M., Asmara, D.A., & Hidayat, T. (2019). Phenolic compound of fresh and boiled sea grapes (*Caulerpa* sp.) from Tual, Maluku. *Food Science and Technology Journal*, 1(1), 31-39, doi: :10.33512/fsj.v1i1.6244
- Nursid, M., Wikanta, T., & Susilowati. (2013). Aktivitas antioksidan, sitotoksisitas dan kandungan fukosantin ekstrak rumput laut coklat dari Pantai

- Binuangeun, Banten. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 8(1), 73-84. doi: 10.15578/jpbkp.v8i1.55
- Nursid, M., Marraskuranto, E., Atmojo, K.B., Hartono, T. M. P., Meinita, M. D. N., & Riyanti. (2016). Investigation on antioxidant compounds from marine algae extracts collected from Binuangeun Coast, Banten, Indonesia. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 11(2), 59-67. doi : 10.15578/squalen.v11i2.243
- Pisoschi, A. M. & Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 1(1), 1-10. doi: 10.4172/2161-1009.1000106
- Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 48(8), 3396-3402. doi: 10.1021/jf9913458
- Radhika, D., Veerabahu, C., & Priya, R. (2012). Antibacterial activity of some selected seaweeds from the gulf of Mannar Coast, South India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(4), 89-90.
- Raj, G. A., Chandrasekaran, M., Krishnamoorthy, S., & Venkatesalu, V. (2015). Antibacterial activity of different solvent extracts of *Caulerpa chemnitzia* (Esper) J.V. Lamououx from Mandapam, Gulf of Mannar Southeast Coast, Tamil Nadu, India. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*, 1(1), 24-31.
- Reguant, C., Bordons, A., Arola, L., & Rozès N. (2000). Influence of phenolic compounds on the physiology of *Oenococcus oeni* from wine. *Journal of Applied Microbiology*, 88(6), 1065-1071. doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.01075
- Rusli, A., Metusalach, M., Tahir, M.M., Salengke & Syamsuar. (2016). Analysis of bioactive compounds of *Caulerpa racemosa*, *Sargassum* sp. and *Gracillaria verrucosa* using different solvents. *Jurnal Teknologi*, 78(4-2), 15-19. doi: 10.11113/jt.v78.8146
- Sachindra, N. M., Sato, E., Maeda, H., Hosokawa, M., Niwano, Y., Kohno., & Miyashita, K. (2007). Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites. *Journal of Agricultural Food & Chemistry*, 55(21), 8516-8522. doi: 10.1021/jf071848a
- Sarker, S.D., Nahar, L., & Kumarasamy, Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*, 42(4), 321-324. doi: 10.1016/j.ymeth.2007.01.006
- Setyobudiandi, I., Soekendarsi, E., Juariah, U., Bahtiar & Hari, H. (2009). *Seri biota laut, rumput laut Indonesia, Jenis dan upaya pemanfaatan*. Kendari: UNHALU Press.
- Sihono, Tarman, K., Maddupa, H., & Januar, H.I. (2018). Metabolite profiles and antioxidant activity of *Caulerpa racemosa* with different handlings. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 13(3), 93-100. doi: 10.15578/squalen.v13i3.355
- Truong, D. H., Nyuyen, D. H., Anh, N. T., Bui, A. V., Do, T. H., & Nguyen, H. C. (2010). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and *in vitro* anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, 2019. doi: 10.1155/2019/8178294
- Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., & Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97, 705-711. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.049
- Yen, G. C., & Chen, H.Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 43(1), 27-32.