

DAYA HAMBAT EKSTRAK *Eucheuma spinosum* DENGAN KONSENTRASI BERBEDA TERHADAP *Bacillus cereus*

INHIBITION OF *Eucheuma spinosum* EXTRACT WITH DIFFERENT CONCENTRATION OF *Bacillus cereus*

Madyasta Anggana Rarassari^{1*}, Darius² dan Hartati Kartikaningsih²

¹)Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Palembang

²)Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang

*Penulis Korespondensi : Email: madyastaanggana@yahoo.com

(Diterima Oktober 2015/Disetujui Desember 2015)

ABSTRAK

Eucheuma spinosum adalah salah satu filum dari alga merah yang dapat dijadikan sebagai bahan antibakteri alami. Bakteri indikator yang digunakan adalah *Bacillus cereus* yaitu penyebab penyakit bawaan makanan. Cara penanggulangannya adalah dengan menggunakan antibiotik, namun hal ini menyebabkan bakteri menjadi resisten. Sehingga diperlukan upaya untuk mendapatkan antibakteri dari bahan alami. Tujuan penelitian ini mendapatkan konsentrasi ekstrak *E.spiniosum* terbaik untuk menghambat *B.cereus* serta mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam *E.spiniosum*. Perlakuan konsentrasi 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm dengan 4 ulangan. Analisis data diolah menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan uji pembeda (Uji F). Hasil penelitian menghasilkan daya antibakteri terbaik pada ekstrak *E.spiniosum* dengan konsentrasi 800 ppm. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter zona hambat terhadap *Bacillus cereus* pada ekstrak *E. spinosum* dengan konsentrasi 800 ppm adalah 1,73 mm. Sedangkan hasil analisa dengan metode GC-MS, diduga terdapat 9 senyawa antibakteri yang terekstrak dari *E.spiniosum*, antara lain *Phenol*, *Eugenol*, *Pentadecane*, *Heptadecane*, 3- *Eicosene*, 9- *Eicosene*, 1- *Hexadecane*, *Docosane* dan 1- *Octadecene*.

Kata Kunci : Ekstrak *E. spinosum*, *Bacillus cereus*, konsentrasi terbaik, senyawa bioaktif.

ABSTRACT

Eucheuma spinosum is one phylum of red algae, that can be used as a natural antibacterial. Indicator bacteria used were *Bacillus cereus* causes food spoilage. How to handle with antibiotic, but the bacteria to become resistant. Therefore, it takes effort to get the antibacterial from natural material. The purpose of this study to get the best concentration of the *Eucheuma spinosum* extract to inhibit *Bacillus cereus* and obtain bioactive compounds contained in *Eucheuma spinosum*. Treatment concentration of 400 ppm, 800 ppm and 1600 ppm with 4 replications. Analysis of the test data using a completely randomized design factorial with a differentiator (Test F). The results produced the best antibacterial from *Eucheuma spinosum* extract with a concentration of 800 ppm. This is indicated by the average diameter of inhibition zone against *Bacillus cereus* in *Eucheuma spinosum* extract with a concentration of 800 ppm is 1,73 mm. While the results of the analysis by GC-MS methods allegedly contained 9 antibacterial compounds extracted from *Eucheuma spinosum*, such as *Phenol*, *Eugenol*, *Pentadecane*, *Heptadecane*, 3- *Eicosene*, 9- *Eicosene*, 1- *Hexadecane*, *Docosane* dan 1- *Octadecene*.

Keywords: *Echeuma spinosum* extract, *Bacillus cereus*, best concentration, bioactive compounds.

PENDAHULUAN

Alga merah atau Rhodophyta adalah salah satu filum dari alga berdasarkan zat warna atau pigmentasinya. Salah satu jenis dari alga merah yaitu *Eucheuma spinosum*. Penggunaan rumput laut *Eucheuma spinosum* juga merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah sebagai bahan antibakteri (Prayitno, 2006).

Antibakteri merupakan salah satu senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif umumnya diekstraksi dari sampel rumput laut yang masih segar (Ballantine, *et al.*, 1987). Ditambahkan oleh Harborne (1978), proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar.

Bakteri indikator yang digunakan adalah *Bacillus cereus*, menurut Wikipedia (2012) *Bacillus cereus* merupakan endemik, terdapat didalam tanah, Gram-positif, berbentuk batang, bakteri hemolitik beta dan menyebabkan penyakit bawaan makanan. Cara penanggulangannya dapat menggunakan antibiotik. Akan tetapi menurut Wattimena *et. al* (1991) antibiotik dalam jaringan dapat menyebabkan penurunan kualitas produk, yaitu penurunan nilai keamanan pangan. Residu antibiotik dapat berpindah ke tubuh manusia yang mengkonsumsinya. Sehingga diperlukan upaya untuk mendapatkan antibakteri dari bahan alami.

Walaupun akhir-akhir ini penelitian tentang antibakteri dari bahan alami terhadap *Bacillus cereus* telah dilakukan, namun masih sangat sedikit informasi yang menyebutkan penggunaan *E.spinosum* sebagai antibakteri alami terhadap *B.cereus*. Oleh karena itu dibutuhkan kajian yang lebih dalam mengenai antibakteri dari bahan alami, salah satunya dengan *E.spinosum*. *E.spinosum* menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan *B.cereus*, sedangkan untuk

mendapatkan antibakteri yang menghambat pertumbuhan *B.cereus* dibutuhkan konsentrasi terbaik dalam ekstrak *E.spinosum*. Penelitian ini bertujuan untuk pemanfaatan alga merah jenis *Eucheuma spinosum* sebagai antibakteri terhadap *B.cereus* pada bahan pangan dengan konsentrasi ekstrak terbaik.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang pada Februari – Mei 2015.

Materi Penelitian

Eucheuma spinosum segar diperoleh dari perairan Madura, Jawa Timur. *E. spinosum* dipanen dari daerah budidaya dan pada saat pemanenan *E. spinosum* dicuci dengan menggunakan air laut. Dicuci untuk membersihkan pasir, sisa lumpur dan kotoran lainnya yang masih melekat. Pelarut yang digunakan untuk ekstrak *E. spinosum* didapatkan dari makmur sejati yaitu dimetil sulfoksida (DMSO) konsentrasi 10 % dan etanol teknis dengan konsentrasi 96%. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji cakram adalah kertas cakram (paper disc) yang masing-masing berdiameter 6 mm, cotton swap, aquades, biakan murni bakteri *Bacillus cereus*, media NB merk (*Nutrient Broth*), media MHA merk (*Mueller Hinton Agar*), dan media TSA merk (*triptone soya agar*) untuk menumbuhkan *Bacillus cereus*. Kepadatan bakteri adalah 107 cfu/ml. Semua bahan diperoleh dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Metode Penelitian

Penelitian ini dibagi dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari penggunaan pelarut etanol terhadap kualitas antibakteri hasil ekstraksi. Hipotesis ini dibuktikan dengan melakukan uji daya penghambatan antibakteri dari senyawa yang berhasil diekstraksi oleh pertumbuhan bakteri uji *Bacillus cereus*. Indikator yang ingin dicapai adalah adanya perbedaan diameter zona bening (zona penghambatan bakteri) dimana semakin lebar zona bening, maka semakin efektif senyawa kimia dari sampel yang berhasil diekstraksi.

- Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian adalah ekstrak bioaktif *E. spinosum*. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor dengan 4 ulangan. Faktor pertama adalah penggunaan bioaktif *E. spinosum* dan antibiotik ampisilin. Faktor kedua adalah konsentrasi berbeda (400 ppm, 800 ppm, 1600 ppm).

Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1% dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilkakukan uji BNT pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan terbaik, dalam hal konsentrasi yang digunakan.

Parameter Uji

Parameter yang dilakukan adalah parameter kuantitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Sebagai pembanding (kontrol) dilakukan pengukuran zona hambat dari masing-masing pelarut untuk mengetahui apakah zona hambat yang dihasilkan berasal dari daya antibakteri ekstrak itu sendiri atau berasal dari daya antibakteri ekstrak itu sendiri atau berasal dari pelarutnya yang memang sudah memiliki daya antibakteri. Rumus untuk mencari zona hambat adalah: Daya hambat = diameter zona jernih - diameter paper disk. Kategori daya hambat antibakteri menurut Davis Stout (2000), dapat diklasifikasikan seperti berikut:

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan

Daya hambat antibakteri	Kategori daya hambat antibakteri
20 mm	Sangat kuat
10 – 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
5 mm	Lemah

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol untuk mengekstrak *E. spinosum*, karena etanol merupakan pelarut polar yang dapat memiliki kelarutan terhadap senyawa polar sangat tinggi. Didukung oleh Vogel (1987), terdapat kecenderungan bagi senyawa polar akan larut ke dalam pelarut polar, sedangkan senyawa non polar akan larut dalam pelarut polar. Oleh karena itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan juga tergantung jenis pelarutnya. Proses ekstraksi dengan pelarut etanol menghasilkan ekstrak kental berwarna cokelat pekat dan bau pelarut.

Hasil ekstraksi *E. spinosum* dijadikan sebagai konsentrasi (400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm) yang mengalami kenaikan dan penurunan dari hasil konsentrasi terbaik dalam menghambat bakteri *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur dinding sel lebih tebal dibandingkan dengan lipid. Sehingga memungkinkan *B. cereus* tidak mudah meloloskan difusi pasif dari senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri yang bersifat lipofilik dapat dengan mudah merusak atau mengganggu selektivitas membran sel dan akan mengakibatkan kebocoran atau keluarnya organel dari dalam sel dan menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, bakteri *B. cereus* kurang tahan terhadap ekstrak dari *E. spinosum*.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dilihat dari zona bening pada media MHA (Mueller Hinton Agar) yang dapat dilihat pada Tabel 2.

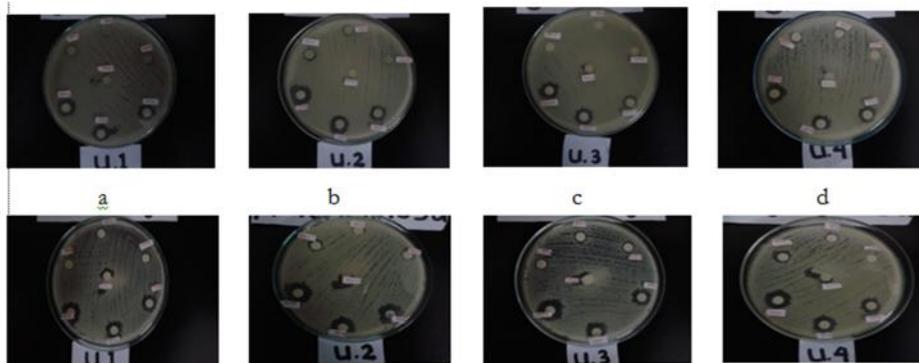
Tabel 2. Notasi BNT 5% Perbandingan Diameter Zoan Hambat Ekstrak *Eucheuma spinosum* dan Ampicilin terhadap *Bacillus cereus*.

Rata-rata Diameter	Ac	Aa	Ab	Ba	Bb	Bc
Ac (4,19)	-	-	-	-	-	-
Aa (6,7)	2,51	-	-	-	-	-
Ab (6,9)	2,71	0,2	-	-	-	-
Ba (19,65)	15,46	12,95	12,75	-	-	-
Bb (24,5)	20,31	17,8	17,6	4,85	-	-
Bc (27,97)	23,78	21,27	21,07	8,32	3,47	-
Notasi BNT _{0,05} =1,094	a	ab	ac	d	e	f

Keterangan :

- Aa = Ekstrak *E. spinosum* konsentrasi 400 ppm
- Ab = Ekstrak *E. spinosum* konsentrasi 800 ppm
- Ac = Ekstrak *E. spinosum* konsentrasi 1600 ppm
- Ba = Kontrol ampicilin 400 ppm
- Bb = Kontrol ampicilin 800 ppm
- Bc = Kontrol ampicilin 1600 ppm

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa daya hambat terkecil terdapat pada Ac jika dibandingkan dengan Aa, Ab serta kontrol positif (Ba, Bb dan Bc). Sedangkan daya hambat terbesar terdapat pada Ab jika dibandingkan dengan Ac dan Aa. Perbandingan diameter daya hambat pada ekstrak *E. spinosum* dengan kontrol positif (ampicilin) konsentrasi 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan Zona Hambat Ekstrak *E. spinosum* dengan kontrol Ampicilin dengan Konsentrasi 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm pada Ulangan 1 (a), Ulangan 2 (b), Ulangan 3 (c) dan Ulangan 4 (d)

Perbedaan daya hambat diduga karena semakin tinggi konsentrasi tidak berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan. Didukung oleh Dewi (2010), konsentrasi yang semakin besar tidak memberikan efek penghambatan yang lebih besar, kemungkinan disebabkan karena ekstrak yang digunakan merupakan ekstrak kasar yang kelarutan senyawa antibakterinya belum maksimal, sehingga aktivitasnya tidak maksimal pula.

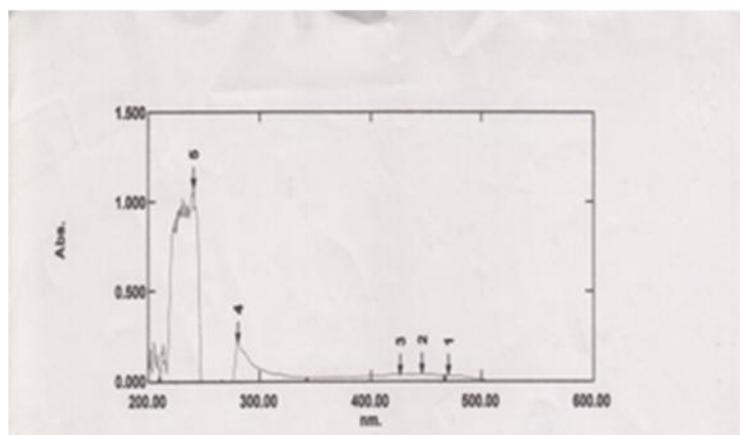
Senyawa yang terekstrak dari *E. spinosum* dengan menggunakan pelarut etanol diduga merupakan senyawa flavonoid. Menurut Prayitno (2006), penggunaan rumput laut *E. spinosum* juga merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah sebagai bahan antimikroba yang mengandung senyawa flavonoid. Karena memiliki sejumlah gugus hidroksil, flavonoid merupakan senyawa polar sehingga pada umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, air dan sebagainya.

Diameter daya hambat antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dikatakan resisten terhadap ampicilin jika membentuk diameter daya hambat < 11 mm. Hasil rata-rata daya hambat yang dihasilkan ampicilin terhadap *Bacillus cereus* yaitu 6,01 mm. Hal ini berarti *Bacillus cereus* bersifat resisten terhadap ampicilin. Antibiotik ampicilin dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri, didukung oleh Siswandono dan Soekardjo (1995) bahwa mekanisme kerja ampicilin di dalam sel bakteri adalah menghambat pembentukan dinding sel dengan cara mencegah bergabungnya asam N-asetilmuramat. Hal ini berakibat biosintesis dinding sel terhambat dan sel bakteri menjadi pecah (lisis).

Identifikasi Senyawa Bioaktif

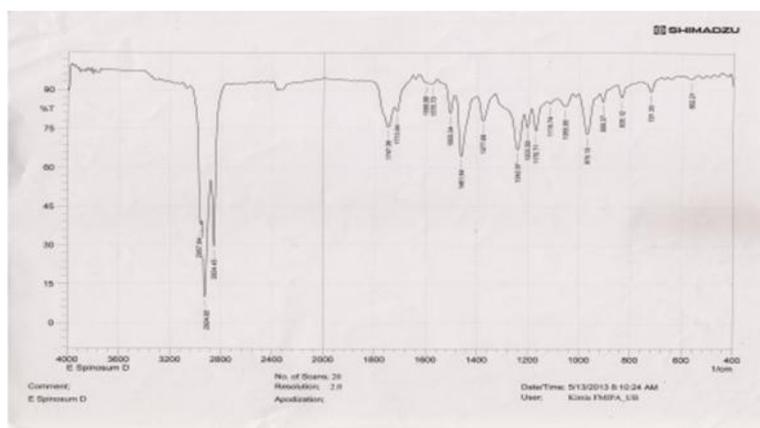
Hasil kromatografi kolom dengan pelarut n-heksan dan etil asetat menghasilkan 41 fraksi. Fraksi-fraksi yang terbentuk adalah warna kuning pada perbandingan 7:3 (heksan:etil asetat). Diduga ekstrak yang keluar adalah senyawa dari golongan flavonoid dengan adanya warna kuning dimana didapatkan fraksi ke-8 lapis bawah berwarna kuning bening, tabung ke-9 sampai 10 lapis tengah berwarna kuning. Menurut Kusriani *et. al* (2013), ekstrak hasil kromatografi kolom dengan silikagel GF254 dan pengembangan n-heksan:etil asetat positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan adanya warna kuning.

Hasil kromatografi kolom warna kuning dilakukan analisis lanjutan dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet (Uv-Vis) dengan panjang gelombang 200 nm - 600 nm.



Gambar 2. Hasil Identifikasi Spektrometer Ultraviolet Senyawa Ekstrak *E.spinusum*

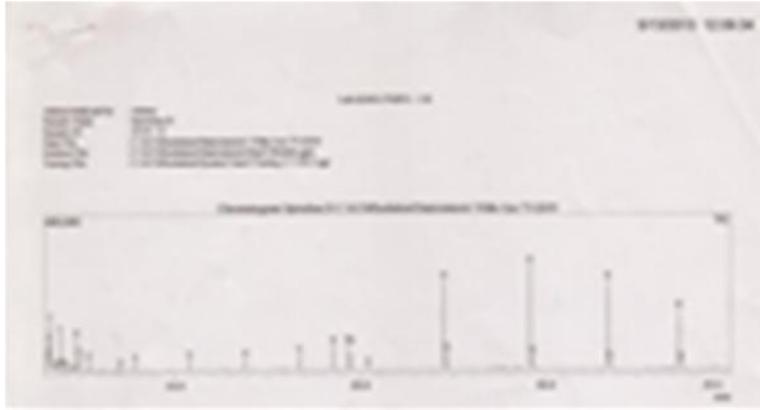
Dari hasil Uv-Vis tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak *E.spinusum* mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Didalam flavonoid terdapat senyawa fenol yang diduga bersifat sebagai antibakteri dengan mekanisme mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Hasil ekstrak dari uji kromatografi kolom yang berwarna kuning kemudian dilanjutkan dengan uji Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR).



Gambar 3. Pola Spektra Inframerah Ekstrak *Euchemum spinosum*

To Cite this Paper : Rarassari, M.A., Darius, dan Kartika, H.N. 2016. Daya Hambat Ekstrak *Euchemum spinosum* dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap *Bacillus cereus*. Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, 7(1): 06-12.
Journal Homepage: <http://samakia.aperiki.ac.id>

Dari data FT-IR diatas dapat diketahui bahwa isolat senyawa *E.spinosum* mengandung gugus C=O, C=C, C-H dan C-O, menurut Rosyidah *et. al.* (2012) senyawa dengan karakteristik gugus –OH, C=O, -CH alifatik dan diindikasikan sebagai senyawa flavonoid golongan flavon. Analisa sementara dari hasil spektra inframerah diduga bahwa senyawa yang terkandung adalah senyawa flavonoid dari golongan flavon. Hasil uji GC-MS terhadap ekstrak *Eucheuma spinosum* menghasilkan 29 tampilan puncak dengan 50 jenis senyawa antibakteri berhasil diidentifikasi.



Gambar 4. Hasil Analisis Uji GC-MS Ekstrak *E. spinosum*

Senyawa antibakteri yang berhasil diidentifikasi antara lain dari senyawa *3-octadecane*, *9-eicosene*, *3-eicosene*, *1-hexadecane*, *1-nonadecane* dan *1-octadecane*. Selain itu senyawa yang diduga juga bersifat antibakteri terdapat pada puncak 15, 17, 18, 20, 23, 25 dan 29 antara lain *Pentadecane*, *Phenol*, *Eugenol*, *Heptadecane* dan *Dokosane*.

Didukung oleh Mishra and Shree (2007), bahwa senyawa seperti 1- *Octadecene* dan *Heptadecene* ditemukan pada tanaman dan algae yang bersifat sebagai antikanker, antioksidan dan antibakteri. Ditambahkan juga oleh Srivastava dan Kumar (2011), senyawa aktif yang bersifat antibakteri yaitu *Pentadecane*, *Heptadecane*, 3- *Eicosene*, 9- *Eicosene*, 1- *Hexadecane*, *Docosane* dan 1- *Octadecene*. Sedangkan menurut penelitian dari Chakraborty (2007), bahwa kedua senyawa *Eicosene* dan *Heptadecane* mempunyai aktivitas antimikroba yang kuat. *Eicosene* merupakan senyawa yang bersifat antibakteri karena merupakan asam lemak. Menurut Lampe *et. al* (1998), aktivitas lemak pada antibakteri dan asam lemak mempunyai konsentrasi paling tinggi pada algae. Asam lemak dalam antibakteri dapat membunuh mikroba dengan menyebabkan gangguan membran sel karena mereka dapat menembus peptidoglikan pada dinding sel tanpa perubahan yang tampak dan terjadi kerusakan pada membran sel bakteri.

Terdapat senyawa fenol serta turunannya yaitu *eugenol* yang teridentifikasi dalam ekstrak *E. spinosum* yang diduga juga bersifat sebagai antibakteri. Menurut Siswandono (1995), *Eugenol* yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel. Mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi. Hal ini mengakibatkan hilangnya kation dan makromolekul dari sel sehingga pertumbuhan sel akan terganggu dan mati.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian konsentrasi yang digunakan yaitu 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm, yang menghasilkan daya antibakteri terbaik pada ekstrak *E.spinosum* dengan konsentrasi 800 ppm, sedangkan pada kontrol ampisilin dengan konsentrasi 1600 ppm. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter zona hambat terhadap *Bacillus cereus* pada ekstrak *E. spinosum* dengan konsentrasi 800 ppm adalah 1,73 mm, sedangkan pada kontrol ampisilin dengan konsentrasi 1600 ppm adalah 6,99 mm. Sedangkan hasil analisa dengan metode GC-MS, diduga terdapat 9 senyawa antibakteri yang terekstrak dari *E.spinosum*, antara lain *Phenol*, *Eugenol*, *Pentadecane*, *Heptadecane*, 3- *Eicosene*, 9- *Eicosene*, 1- *Hexadecane*, *Docosane* dan 1- *Octadecene*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ballantine, D. L., W. H. Gerwick and S. M. Velez. 1987. Antibiotic Activity of Lipid Soluble Extract From Caribbean Marine Algae. *Hydrobiologia* 151/ 152; 463-469.
- Davis, S. 2000. Antibacterial Activity Of Extracts Of Six Macroalgae From The Northeastern Brazilian Coast. Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciencias Biologicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte; Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, CE, Brasil. *Brazilian Journal Of Microbiology*. 33:311-313.
- Harborne, J. B. 1987. Fitokimia. *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bnadung.
- Johannes S.P. 2013. Uji Daya Inhibisi ekstrak kasar Flavonoid Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Temu Putih (*Curcuma zedoaria Roscoe*) Terhadap Aktivitas Tirosin Kinase Secara In Vitro. Institut Pertanian Bogor.
- Kusini., Melki., Wike, A. 2013. Uji Antibakteri Ekstrak *Gracillia* sp (Rumput Laut) terhadap bakteri *Escherchia coli* dan *staphylococcus aureus*. Universitas Sriwijaya.
- Kusumaningtyas, E., Lusi S., Estie A. 2008. Penentuan Golongan Bercak Senyawa Aktif Ekstrak n-heksan Alpinia galanga terhadap *Candida albicans* dengan Bioautografi dan Kromatografi Lapis Tipis. *JITV* Vol. 13 No. 4 Th. 2008
- Lampe MF, Ballweber LM, Isaacs CE, Patton DL, Stamm WE. 1998. Killing of Chlamydia trachomatis by novel antimicrobial lipids adapted from compounds in human breast milk. *Antimicro. Agents Chemo.*, 45: 1239-1244.
- Munawaroh S. dan Handayani P.A. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C) dengan Pelarut Etanol dan N-heksana. *Jurnal Kompetisi Teknik* yol. 2, No. 1. 73-79.
- Prayitno, A. 2006. *Pengendalian Penyakit Vibrio harveyi dengan Ekstrak Rumput Laut pada Udang Windu (Penenus monodon Fab)*. PL-13. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.
- Pranowo, A.B. 2009. *Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid Dari Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola Linn L)*. Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. Bali.
- Riniatsih, I dan Wilis A, R. 2009. Bioaktivitas Ekstrak dan Serbuk Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* pada *vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyii*. Vol. 14 (3): 138 – 141.
- Suptijah, 2003. *Rumput Laut: Prospek dan Tantangannya*. Falsafah Sains - Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Srivastava, J.N., Kumar V. 2011. Antibacterial Activity of Crude Extracts of *Spirulina Platensis* and its Structural Elucidation of Bioactive Compound. *Departement of Botany*. Dayalbagh. India.
- Wattimenna, J. R., Nelly, C., Sugiarto, Widanto, M. A., Sukandar, E. Y., Soemardji, A. A dan Setiad, A. R. 1991. *Farmakodinamika dan Terapi Antibiotik*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 168 hlm.
- Wikipedia. 2012. *Bacillus cereus*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Bacillus-cereus>.
- Wiyanto, D. B. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Kappaphycus alvarezii dan Eucheuma denticullatum Terhadap Bakteri Aeromonas hydrophila dan Vibrio harveyi*. [Disertasi] Program Pascasarjana Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Brawijaya. Malang.