

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria sp.* terhadap *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram

Ammanda Sadiva Ajeng Pawesti^{1*}, Kusuma Handayani², Endah Setyaningrum³, Hendri Busman⁴.

^{1,2,3,4} Universitas Lampung & Jalan Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No. 1, Kota Bandar Lampung, Lampung, 35141

Received 30 Maret 2025

Revised 24 Desember 2025

Accepted 29 Desember 2025

Published 30 Desember 2025

Corresponding Author

Endah Setyaningrum

endah.setyaningrum@fmipa.unila.ac.id

Distributed under



CC BY-SA 4.0

ABSTRACT

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

Keywords:

Gracilaria sp.; antibacterial; *Escherichia coli*; disk diffusion; methanol extract.

1 PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara maritim memiliki sumber daya hayati laut yang melimpah, salah satunya adalah rumput laut yang bernilai tinggi. Alga laut, termasuk *Gracilaria sp.*, diketahui mengandung senyawa bioaktif dengan berbagai manfaat kesehatan, seperti antioksidan (Sanger et al., 2013), antibakteri (Renhoran et al., 2016; Basir et al., 2017; Dotulong et al., 2013), serta antiperadangan, antidiabetes, dan antikanker (Kim et al., 2008; Chew et al., 2008; Ganesan et al., 2008). Sebagai bagian dari alga merah dalam keluarga *Gracilariaceae*, *Gracilaria sp.* memiliki kandungan metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, fenol, dan steroid, yang berpotensi sebagai antibakteri, antivirus, serta senyawa bioaktif lainnya (Putri et al., 2023). Salah satu metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif ini adalah uji fitokimia, yang memberikan gambaran mengenai kandungan metabolit dalam ekstrak rumput laut (Setyowati et al., 2014).

225 | How to cite this article (APA): Pawesti, A.S.A., Handayani, K., Setyaningrum, E., & Busman, H. (2025). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria sp.* terhadap *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram. *BIO-EDU: Jurnal Pendidikan Biologi*, 10(3); 225-236. doi: <https://doi.org/10.32938/jbe.v10i3.9389>

Saat ini, meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik sintetis menjadi tantangan dalam dunia kesehatan. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan ekologi serta akumulasi residu beracun yang membahayakan lingkungan. Oleh karena itu, pencarian alternatif antibakteri alami menjadi semakin penting. Senyawa bioaktif dalam rumput laut, seperti fenolik dan terpen, telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba yang berpotensi menggantikan antibiotik sintetis (Delattre et al., 2005). Beberapa senyawa ini dihasilkan melalui jalur metabolisme sekunder yang melibatkan asam amino, asetil-KoA, dan senyawa lainnya, yang berperan dalam pertahanan terhadap mikroorganisme patogen (Nychas dan Tassou, 2000).

Escherichia coli merupakan bakteri yang umumnya tidak berbahaya, tetapi dapat menjadi patogen jika memperoleh gen virulensi melalui transfer gen, seperti konjugasi, transformasi, atau transduksi. Bakteri ini memiliki berbagai patotipe, seperti *Enterotoxigenic E. coli*, *Enteropathogenic E. coli*, dan *Enterohemorrhagic E. coli*, yang masing-masing memiliki faktor virulensi spesifik (Rahayu, 2018). Karena kemampuannya dalam beradaptasi dan menyebabkan berbagai infeksi, *E. coli* sering digunakan dalam penelitian antimikroba. Selain itu, bakteri ini juga berperan sebagai indikator kontaminasi feses dan resistensi antibiotik, sehingga penting dalam studi pengembangan senyawa antibakteri baru (Rahayu, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk Penelitian ini bertujuan untuk mengukur zona hambat ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram serta menilai efektivitasnya sebagai antibakteri berdasarkan ukuran zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan tujuan tersebut, hipotesis yang diajukan adalah bahwa ekstrak metanol *Gracilaria* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, di mana peningkatan konsentrasi ekstrak akan menghasilkan zona hambat yang lebih besar, menunjukkan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

2 METODE

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Melki dan Ayu, 2011).

Bahan-bahan penelitian

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

Pembuatan Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dalam perbandingan 1:10 selama tiga hari dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu maksimal 50°C dan dikentalkan dengan waterbath (Winata et al., 2023).

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol *Gracilaria* sp.

Skrining fitokimia ekstrak metanol *Gracilaria sp.* dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekundernya. Uji flavonoid menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna jingga setelah penambahan H_2SO_4 pekat (Tyagi, 2017). Uji terpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard menghasilkan warna hijau kebiruan untuk steroid dan cincin kecoklatan/violet untuk triterpenoid (Simaremare, 2014). Uji polifenol menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna hijau-biru setelah penambahan FeCl_3 pada ekstrak yang telah dipanaskan (Lanipi dkk., 2022). Uji tanin menghasilkan warna biru hitam setelah reaksi dengan FeCl_3 , menandakan keberadaan tanin (Lanipi dkk., 2022). Uji saponin menunjukkan terbentuknya busa stabil selama lebih dari 10 menit yang tidak hilang setelah penambahan asam klorida, mengindikasikan adanya saponin (Lanipi dkk., 2022). Uji alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff dan Mayer menunjukkan adanya endapan jingga dan putih hingga kekuningan, yang menandakan keberadaan alkaloid (Jones dan Kinghorn, 2006). Sementara itu, uji steroid menunjukkan perubahan warna merah yang kemudian berubah menjadi biru dan hijau setelah penambahan kloroform, asetat anhidrat, dan H_2SO_4 pekat (Rumagit, 2015).

Persiapan Kultur Bakteri

Media uji dibuat dengan melarutkan 10 g TSA dan 7,5 g TSB masing-masing dalam 250 ml aquades, dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk, lalu disterilisasi pada 121°C , 15 lbs selama 15 menit. Peremajaan *E. coli* dilakukan dengan menginokulasi satu ose ke agar miring TSA dan dua ose ke TSB, diinkubasi pada 37°C selama 24 jam (Melki dan Ayu, 2011).

Pembuatan Larutan Uji dan Kelompok Kontrol

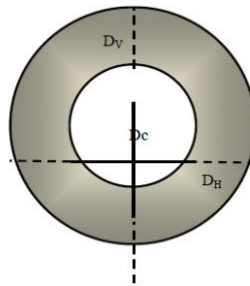
Larutan uji ekstrak metanol *Gracilaria sp.* dibuat dalam konsentrasi 10%, 5%, 1%, dan 0,05% dengan metode pengenceran bertahap menggunakan aquades steril. Kontrol positif menggunakan larutan ciprofloxacin $5\text{ }\mu\text{g}/50\text{ }\mu\text{L}$, sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades steril (Winata, 2023).

Pembuatan Standar Kekakuan Larutan McFarland

Standar kekakuan McFarland 0,5 dibuat dengan mencampurkan 0,05 mL larutan BaCl_2 1% dan 9,95 mL larutan H_2SO_4 1%, kemudian dikocok hingga homogen. Standar ini ekuivalen dengan konsentrasi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Toy dan Hutagalung, 2015).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menuangkan 1 mL suspensi bakteri yang sesuai standar McFarland ke media MHA, diratakan, dan didiamkan 10 menit. Kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah dicelup dalam ekstrak *Gracilaria sp.* selama 10–15 menit diletakkan di media. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam (Putri dkk, 2023). Pengamatan diameter zona hambat dilakukan setelah inkubasi dengan mengukur diameter zona bening secara vertikal dan horizontal menggunakan jangka sorong (Toy dkk, 2013).



Gambar 1. Pengukuran Diameter Zona Hambat (Toy dkk, 2013).

$$\frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$

Keterangan

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horisontal

DC : Diameter cakram

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan uji *One-Way* ANOVA untuk menentukan perbedaan signifikan antara konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. (0,05%, 1%, 5%, dan 10%) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* berdasarkan diameter zona hambat. Jika ANOVA menunjukkan hasil signifikan ($p < 0,05$), dilakukan uji lanjut Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*) untuk mengidentifikasi kelompok perlakuan yang berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Skrining Kandungan Fitokimia *Gracilaria* sp.

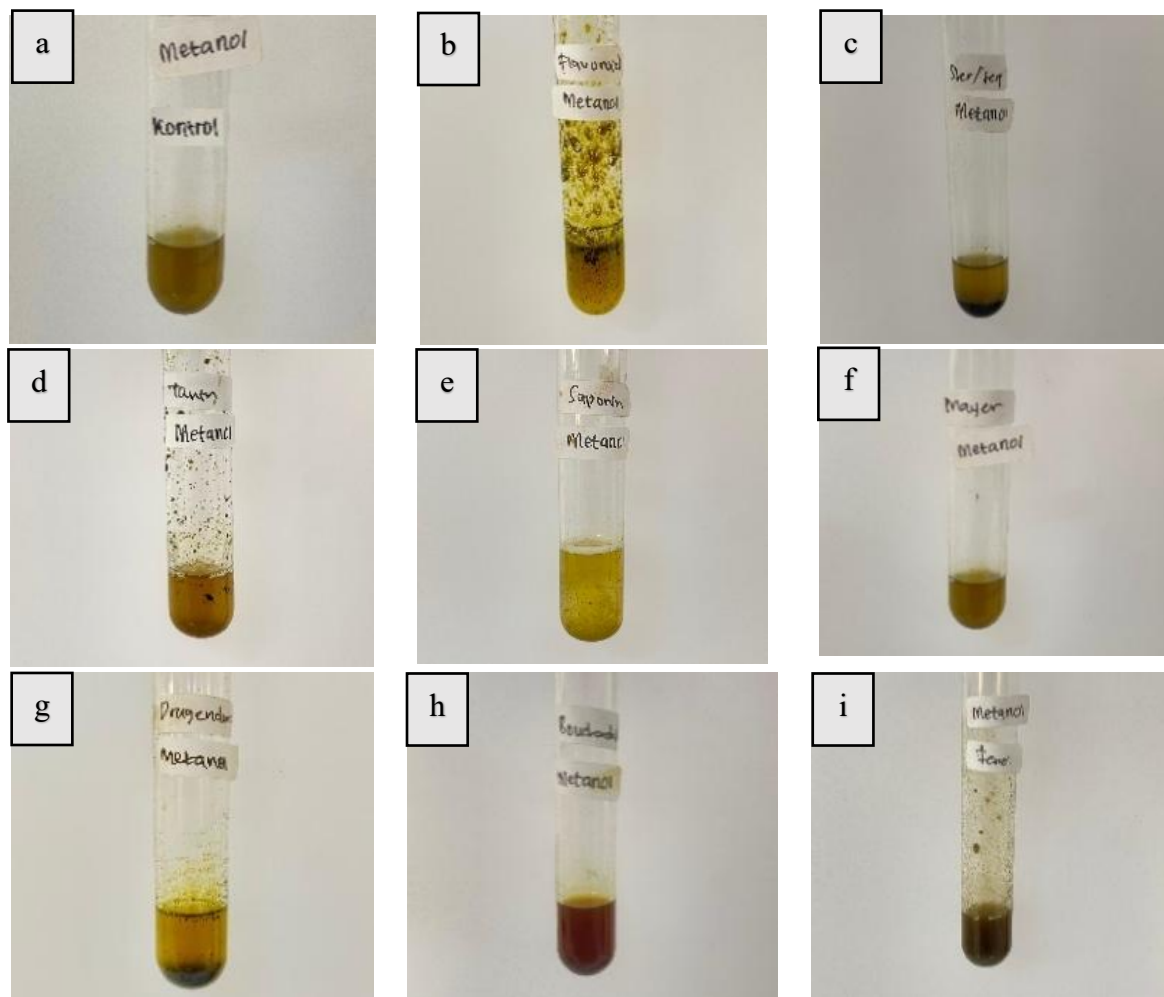
Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol *Gracilaria* sp. menunjukkan adanya senyawa flavonoid, polifenol, tanin, saponin, alkaloid (Dragendorff dan Bouchardat), serta steroid, namun negatif untuk terpenoid dan alkaloid (Mayer). Hasil lengkap disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp.

No.	Jenis Uji Kualitatif Fitokimia	Hasil Uji Fitokimia	Keterangan
1.	Flavonoid	+	Positif, berubah warna menjadi kuning kemerahan (Orange)
2.	Terpenoid	-	Negatif, tidak berubah menjadi merah keunguan
3.	Polifenol	+	Positif, berubah warna menjadi hijau kebiruan
4.	Tanin	+	Positif, berubah warna menjadi hijau kehitaman
5.	Saponin	+	Positif, terdapat busa dan stabil tidak hilang selama 30 detik
6.	Alkaloid (Mayer)	-	Negatif, tidak terdapat endapan berwarna putih

7.	Alkaloid (Dragendrof)	+	Positif, terdapat endapan bewarna jingga
8.	Alkaloid (Bouchardat)	+	Positif, terdapat endapan bewarna putih
9.	Steroid	+	Positif, berubah warna menjadi hijau

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak metanol *Gracilaria sp.* mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tanin, saponin, alkaloid (Dragendorff dan Bouchardat), serta steroid, yang ditandai dengan perubahan warna dan terbentuknya endapan spesifik. Hasil lengkap tercantum pada **Gambar 2**.



Gambar 2a-2i. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol *Gracilaria sp.*

Uji fitokimia terhadap ekstrak metanol *Gracilaria sp.* mengidentifikasi keberadaan berbagai senyawa metabolit sekunder. Flavonoid terdeteksi melalui perubahan warna menjadi kuning kemerahan (oranye), sejalan dengan penelitian Kurnianto, Rahman, dan Hairunnisa (2021), yang menyebutkan bahwa uji flavonoid dengan H_2SO_4 dapat menghasilkan warna kuning tua, merah kebiruan (khalkon, auron), atau jingga-merah (flavonon). Reaksi oksidasi dan reduksi antara flavonoid dan H_2SO_4 menyebabkan pembentukan senyawa kompleks yang menghasilkan warna merah tua hingga coklat kehitaman. Kandungan polifenol teridentifikasi melalui perubahan warna hijau kebiruan, yang terjadi akibat interaksi antara ion Fe^{3+} dalam larutan $FeCl_3$ 1% dengan gugus hidroksil pada polifenol, membentuk kompleks berwarna hijau

kebiruan atau biru kehitaman (Sangi, 2008). Sementara itu, tanin menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman akibat reaksi hidrolisis dengan pereaksi FeCl_3 , sebagaimana dijelaskan oleh Muthmainna (2017).

Pada pengujian saponin, ditemukan busa yang bertahan lebih dari 30 detik. Menurut Rachmawati (2019), saponin yang dilarutkan dalam air membentuk interaksi antara bagian hidrofilik dan air, serta bagian hidrofobik dengan udara, menghasilkan struktur berbusa yang stabil. Uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan endapan jingga, yang merupakan hasil kompleksasi ion logam dalam reagen dengan alkaloid, sesuai dengan teori Harborne (1987). Sementara itu, uji alkaloid menggunakan pereaksi Bouchardat menghasilkan endapan putih, yang terbentuk akibat interaksi ion K^+ dengan alkaloid, membentuk kompleks kalium-alkaloid yang tidak larut (Nafisah dkk., 2014).

Hasil uji steroid menunjukkan perubahan warna menjadi hijau, yang menurut Marlina dan Saleh (2011) disebabkan oleh reaksi antara senyawa triterpenoid dan steroid dengan H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Namun, uji terpenoid dan alkaloid menggunakan pereaksi Mayer memberikan hasil negatif, yang kemungkinan disebabkan oleh faktor lingkungan dan metode ekstraksi yang digunakan. Lantah dkk. (2017) melaporkan bahwa *Gracilaria sp.* mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk saponin, tanin, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, tetapi perbedaan dalam teknik ekstraksi dapat memengaruhi deteksi senyawa tertentu.

Studi lain oleh Soamole dkk. (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Gracilaria sp.* mengandung flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, alkaloid, dan tanin. Variasi hasil ini dapat disebabkan oleh perbedaan usia tanaman, durasi ekstraksi, serta kondisi lingkungan tempat *Gracilaria sp.* tumbuh. Komposisi fitokimia dalam suatu sampel dipengaruhi oleh berbagai faktor eksternal dan internal. Faktor lingkungan, seperti suhu, ketersediaan unsur hara, pH, kelembapan, ketinggian tempat, serta intensitas cahaya, berperan penting dalam menentukan kadar senyawa metabolit sekunder. Selain itu, faktor genetik juga berkontribusi terhadap kandungan bioaktif dalam tanaman. Dengan demikian, kondisi habitat serta faktor pertumbuhan sangat berpengaruh terhadap keberagaman dan konsentrasi senyawa fitokimia dalam *Gracilaria sp.* (Katuuk, Wanget, Tumewu, 2019).

Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Metanol *Gracilaria sp.* Terhadap Bakteri *E.coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Gracilaria sp.* terhadap *Escherichia coli*. Zona hambat terbesar diperoleh pada konsentrasi 5% dan 10% dengan rata-rata zona hambat 0,075 mm, sedangkan ekstrak dengan konsentrasi 0,05% dan 1% menunjukkan rata rata diameter zona hambat yang kecil yaitu 0 dan 0,05 mm. Data lengkap mengenai hasil uji aktivitas antibakteri ditampilkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Gracilaria sp.*

No.	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)	St. dev (mm)
		Ulangan				
		1	2	3		
1.	0.05 %	0	0	0	0	±0.00000

2.	1 %	0,05	0,05	0,05	0,05	±0,00000
3.	5 %	0,05	0,05	0	0,075	±0,02887
4.	10 %	0,05	0,05	0	0,075	±0,02887
5.	Kontrol (+)	1,2	3,4	0,75	1,7	±1,41804
6.	Kontrol (-)	0	0	0	0	±0,00000

Berdasarkan hasil tersebut dilakukan analisis ANOVA, yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria sp.*, dengan nilai F sebesar 4.621 dan signifikansi (p) sebesar 0.014 ($p < 0.05$). Nilai Sum of Squares (SS) antar kelompok sebesar 7.750 (df = 5) dan dalam kelompok sebesar 4.025 (df = 12). Mean Square untuk antar kelompok adalah 1.550, sedangkan dalam kelompok 0.335. Hasil lengkap disajikan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Analisis *One Way* ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7,750	5	1,550	4,621	,014
Within Groups	4,025	12	,335		
Total	11,775	17			

Hasil analisis menunjukkan bahwa uji ANOVA menghasilkan perbedaan yang signifikan terhadap diameter zona hambat ($F = 4,621$, $p = 0,014$). Nilai signifikansi yang lebih kecil dari 0,05 menandakan bahwa variasi konsentrasi ekstrak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak mempengaruhi kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu, diperlukan uji lanjut (post-hoc) untuk menentukan kelompok konsentrasi mana yang menunjukkan perbedaan signifikan dalam hasil pengujian. **Tabel 4** menunjukkan data hasil uji Tukey's *Honest Significant Difference* (HSD) secara lengkap.

Tabel 4. Hasil Uji Lanjut Tukey's *Honest Significant Difference* (HSD)

Perlakuan	N	Diameter Zona Hambat (mm) (Rerata ± st. dev)
Kontrol negatif	4	0,0000±0,00000 ^a
Konsentrasi 0,05%	4	0,0000±0,00000 ^a
Konsentrasi 1%	4	0,0500±0,00000 ^b
Konsentrasi 5%	4	0,0333±0,02887 ^c
Konsentrasi 10%	4	0,0333±0,02887 ^c
Kontrol positif	4	1,7833±1,41804 ^d

Keterangan: Huruf yang sama pada uji Tukey menunjukkan tidak berbeda nyata dan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata

Hasil uji Tukey menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan. Kontrol negatif dan konsentrasi 0,05% menghasilkan zona hambat yang sama, yaitu 0,0000±0,00000, dan diberi notasi huruf yang sama (a). Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi rendah (0,05%), ekstrak metanol *Gracilaria sp.* belum mampu memberikan efek antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Tidak terbentuknya zona hambat menandakan bahwa senyawa aktif

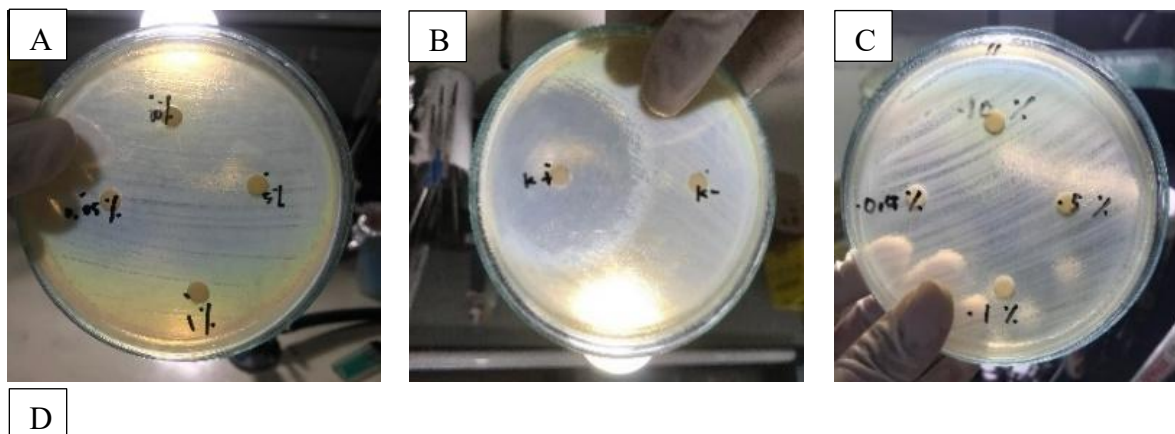
antibakteri dalam ekstrak belum mencapai konsentrasi minimum yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

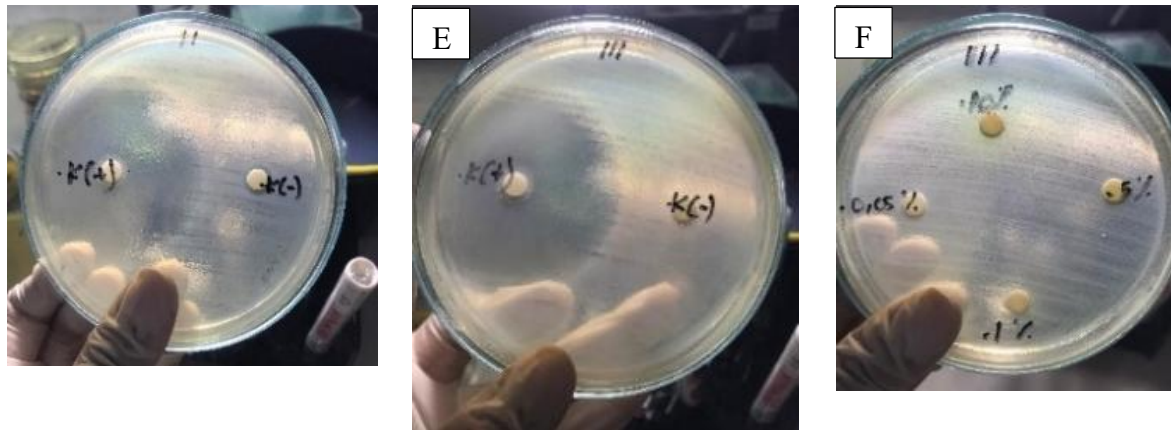
Pada konsentrasi 1%, mulai terbentuk zona hambat dengan diameter $0,0500 \pm 0,00000$ dan notasi huruf berbeda (b). Ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, senyawa aktif dalam ekstrak mulai menunjukkan aktivitas antibakteri. Meski demikian, ukuran zona hambat yang kecil menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri masih lemah dan belum optimal dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Pada konsentrasi 5% dan 10%, zona hambat yang terbentuk justru sedikit lebih kecil, yaitu $0,0333 \pm 0,02887$, dengan notasi huruf yang sama (c). Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi dari 5% ke 10% tidak memberikan peningkatan signifikan dalam efektivitas antibakteri. Bahkan, ukuran zona hambatnya sedikit lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi 1%. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengendapan atau interaksi senyawa dalam ekstrak yang mengurangi efektivitas antibakterinya, atau karena senyawa aktif dalam ekstrak tidak larut sempurna pada konsentrasi tinggi.

Sementara itu, kontrol positif menunjukkan zona hambat terbesar, yaitu $1,7833 \pm 1,41804$, dengan notasi huruf berbeda (d). Hal ini menegaskan efektivitas antibakteri yang kuat dari kontrol positif (ciprofloxacin). Perbedaan signifikan antara kontrol positif dan perlakuan ekstrak menunjukkan bahwa meskipun ekstrak metanol *Gracilaria* sp. menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi tertentu, efektivitasnya masih jauh di bawah kontrol positif.

Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak metanol *Gracilaria* sp. menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Variasi hasil dari setiap pengulangan dan kontrol pada berbagai konsentrasi disajikan secara lengkap pada **Gambar 3**.





Gambar 3. Hasil diameter zona hambat ekstrak metanol *gracilaria* sp. terhadap bakteri *Escherichia coli*. (a). Pengulangan I, (b) Kontrol pengulangan I, (c) Pengulangan II, (d) Kontrol pengulangan II, (e) Pengulangan III, (f) Kontrol Pengulangan III

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Gracilaria* sp. menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,05%, tidak terbentuk zona hambat (0 mm), sementara pada konsentrasi 1%, rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk adalah 0,05 mm. Peningkatan konsentrasi hingga 5% dan 10% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 0,075 mm. Berdasarkan klasifikasi daya hambat antibakteri menurut Davis dan Stout (1971), zona hambat dengan diameter kurang dari 5 mm tergolong dalam kategori daya hambat lemah, 5–10 mm termasuk kategori sedang, 10–20 mm dikategorikan sebagai kuat, dan lebih dari 20 mm dianggap sangat kuat. Oleh karena itu, aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap *Escherichia coli* dalam penelitian ini dikategorikan sebagai sangat lemah. Sebagai perbandingan, penelitian yang dilakukan oleh Melki et al. (2011) menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria* sp. dengan konsentrasi 100% mampu menghasilkan zona hambat sebesar $14,33 \pm 3,22$ mm terhadap *E. coli*, yang termasuk dalam kategori daya hambat kuat.

Kecilnya zona hambat yang terbentuk dalam pengujian antibakteri ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap *E. coli* dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satunya adalah rendahnya konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini (0,05–10%), yang kemungkinan belum mencapai kadar efektif untuk menghasilkan aktivitas antibakteri yang signifikan. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Melki et al. (2011), di mana penggunaan ekstrak pada konsentrasi 100% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 14,33 mm. Selain itu, usia panen *Gracilaria* sp. turut berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktifnya, di mana usia optimal 1,5–2 bulan diketahui menghasilkan kadar senyawa antibakteri yang lebih tinggi (Insani dkk., 2022). Namun, dalam penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan secara acak tanpa mempertimbangkan usia panen, sehingga kemungkinan berkontribusi terhadap rendahnya efektivitas antibakteri yang dihasilkan. Faktor lain yang dapat memengaruhi hasil antara lain metode ekstraksi, jumlah ekstrak yang digunakan, serta waktu inkubasi yang belum optimal. Selain itu, *E. coli* sebagai bakteri gram-negatif memiliki tingkat resistensi yang lebih tinggi terhadap senyawa antibakteri (Naufalin, 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Martsiningsih (2023) juga menunjukkan bahwa diameter zona hambat meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi hingga 18 jam, namun mulai mengalami

penurunan setelahnya. Secara khusus, ukuran zona hambat mencapai titik maksimal pada inkubasi 18 jam dan mengalami penyusutan pada inkubasi 24 jam dan seterusnya.

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria* sp. memiliki potensi antibakteri yang sangat lemah terhadap *E. coli*. Diperlukan optimasi lebih lanjut, baik dalam metode ekstraksi untuk meningkatkan kandungan senyawa aktif, atau dalam penggunaan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi untuk mendapatkan hasil yang lebih efektif.

4 KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria* sp. mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, polifenol, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid yang berpotensi berperan dalam aktivitas antibakteri. Namun, ekstrak metanol *Gracilaria* sp. hanya menghasilkan zona hambat pada konsentrasi tertinggi 10% dan 5% dengan rata-rata hanya (0,075 mm), yang jauh lebih kecil dibandingkan kontrol positif sebesar (1,7 mm). Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak *Gracilaria* sp. memiliki potensi antibakteri yang lemah terhadap *Escherichia coli*.

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan untuk menggunakan jenis pelarut lain agar senyawa antibakteri dalam *Gracilaria* sp. dapat diperoleh secara maksimal. Selain itu, peningkatan konsentrasi ekstrak dapat dilakukan untuk mengamati potensi antibakteri yang lebih kuat. Untuk memperdalam karakterisasi senyawa aktif, disarankan melakukan analisis menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa bioaktif dan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk menentukan profil senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak.

DAFTAR RUJUKAN

- Basir A, Tarman K, Desniar D. 2017. Aktifitas antioksidan dan antibakteri alga hijau *Halimeda gracilis* dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20 (2): 211-118.
- Chew, Y. L., Lim, Y. Y., Omar, M., & Khoo, K. S. (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6), 1067-1072.
- Davis, W.W., dan Stout, T.R., 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22 (1): 659-665.
- Dotulong, V., Widjanarko, S. B., & Mamahit, L. P. (2013). Antioxidant activity of three-marine algae methanol extract collected from North Sulawesi Waters, Indonesia. *International Journal of Science and Engineering Investigations*, 2(23), 26-30.
- Harborne, J. B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, Edisi kedua, 5, 69-76, ITB Press, Bandung.

- Insani, A. N., Hafiludin, H., dan Chandra, A. B. 2022. Pemanfaatan Ekstrak *Gracilaria* sp. dari Perairan Pamekasan sebagai Antioksidan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, 3(1), 16-25.
- Jones, W.P. dan Kinghorn, A.D., 2006. Extraction of plant secondary metabolites, In: Sarker, S.D., Latif, Z. dan Gray, A.I., eds. *Natural Products Isolation*. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press.
- Katuuk, R. H., Wanget, S. A., & Tumewu, P. 2019. Pengaruh perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan metabolit sekunder pada gulma babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). In *Cocos* (Vol. 1, No. 4).
- Kim, D. E., Kim, M. H., Cha, J. E., & Kim, S. O. (2008). Numerical investigation on thermal–hydraulic performance of new printed circuit heat exchanger model. *Nuclear Engineering and Design*, 238(12), 3269-3276.
- Lanipi, R. P., Astuti, R. A., Hardia, L., & Budianto, A. B. (2022). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus adrogynus* (L) Merr). *Jurnal Etnofarmasi*, 1(02), 1-6.
- Lantah, P. L. Montololu L. A. D. Y, dan Reo R. A. 2017. Kandungan Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii*. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, Vol. 5. No. 3.
- Marliana, E., dan Saleh, C. (2011). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2), 63–69.
- Martsiningsih, A., Suyana, S., Noviani, A., Rahmawati, U., Sujono, S., dan Astuti, F. D. 2023. Pengaruh waktu inkubasi terhadap diameter zona hambat antibiotik pada uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumonia*. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 11(1), 1-8.
- Melki, W. A. E., dan Ayu, W. 2011. Kurniati. Uji Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. Program Studi Ilmu kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya.
- Muthmainnah, B. 2017. “Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna”. *Media Farmasi*. Vol 13(2).
- Naufalin, R. 2005. Kajian Sifat Antimikroba Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Nychas G.J.E and Tassou C.C., 2000. Traditional presentative – oil and spices. Di dalam Robinson RK, Batt CA, Patel PD (Ed) *Encyclopedia of Food Microbiology*. Volume 2. Academy Press.London.
- Putri, L., Sasadara, M. M. V., Cahyaningsih, E., dan Santoso, P. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bulung Sangu (*Gracilaria* Sp.) Terhadap Bakteri Gram Negatif *Pseudomonas aeruginosa*. *Usadha*, 2(4), 20-26.
- Rahayu, W. P. 2018. *Escherichia coli*: Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko
- Rumagit, H. M. (2015). Uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea*. *Pharmakon*, 4(3), 183-192.

- Sanger, G. Rarung LK. Kaseger BE. dan Timbowo S. 2017. Composition of Pigments and Antioxidant Activity In Edible Seaweed *Halimena durvilae* Obtained From North Sulawesi. *International Journal of Chemical Tekhnology Research*. 10(15): 255-262.
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, Mulyani, B., Rahmawati, C.P. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio Zibethinus Murr. Varietas Petruk*). Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI.
- Soamole, H. H., Sanger, G., Harikedua, S. D., Dotulong, V., Mewengkang, H. dan Montolalu, R. 2018. Kandungan fitokimia ekstrak etanol rumput laut segar (*Turbinaria sp.*, *Gracilaria sp.*, dan *Halimeda macroloba*). *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3).
- T. Tyagi, "Phytochemical screening of active metabolites present in *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* (L.): Role in ethanomedicine," *Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, vol. 6, no. 4, pp. 40–56, 2017.
- Toy, T. S., Lampus, B. S., dan Hutagalung, B. S. 2015. Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria sp.* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *e-GiGi*, 3(1).
- Winata, H. S., Andry, M., Nasution, M. A., Rezaldi, F., Shindy, A., dan Sembiring, F. B. 2023. Anti-Inflammatory Activity of Stem Barks Ethanol Extracts of *Garcinia xanthochymus* On Male White Rats Hanafis. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences (AMS)*. 9(1), 47–53.