

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA NON-POLAR DAN POLAR DARI EKSTRAK MAKROALGA *Acanthophora muscoides* DARI PANTAI KRAKAL YOGYAKARTA

Oleh

Wilis Ari Setyati¹, Muhammad Zainuddin², Rini Pramesti¹

¹Departemen Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang

²Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Islam Nahdlatul Ulama, Jepara

Email : wilisarisetyati@yahoo.co.id

Received February 2017 Accepted March 2017

ABSTRAK

Pantai Krakal Yogyakarta memiliki keanekaragaman rumput laut tinggi. Memiliki tipe ekologi berbatu karang yang cocok untuk habitat rumput laut jenis *Acanthophora muscoides*. Pemanfaatan rumput laut Pantai Krakal dalam bidang kesehatan belum optimal. Rumput laut mengandung senyawa bioaktif (polifenol) dan biopigmen (klorofil dan karotenoid) yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Acanthophora muscoides*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen laboratoris di Laboratorium Prodi Budidaya Perairan UNISNU - Jepara. Hasil ekstraksi pelarut n-hexana memiliki berat 0,471^a gram dan rendemen 0,373^a %, sedangkan berat ekstrak metanol 0,667^b gram dan rendemen 0,529^b % ($p < 0,05$). Nilai IC₅₀ perlakuan ekstrak n-heksan, metanol dan vitamin c berbeda signifikan ($p < 0,05$) yaitu sebesar 312 ppm, 415 ppm dan 13 ppm, ketiganya tergolong antioksidan sangat kuat. Ekstrak n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dari pada ekstrak metanol, hal ini dikarenakan ekstrak n-heksan memiliki nilai total fenol = 45,284 mg GAE/g, klorofil a = 23,299 mg/g, karotenoid = 64,065 µg/g, yang lebih tinggi dari pada ekstrak metanol yaitu total fenol = 22,235 mg GAE/g, klorofil a = 7,215 mg/g, karotenoid = 26,654 µg/g.

Kata kunci : makroalga, ekstrak, pigmen, klorofil, karotenoid, antioksidan.

ABSTRACT

Krakal Beach Yogyakarta has a high diversity of seaweed. It has a rocky ecological type suitable for seaweed habitat type *Acanthophora muscoides*. Utilization of seaweed Krakal Beach in the field of health has not been optimal. Seaweed contains bioactive compounds (polyphenols) and biopigments (chlorophyll and carotenoids) that act as antioxidants. This study tested the antioxidant activity of seaweed extract *Acanthophora muscoides*. This research was conducted by using laboratory experimental method in Laboratory of Cultivation Study Program of UNISNU - Jepara. The result of solvent extraction of n-hexane had weight 0,471^a gram and yield 0,373^a %, meanwhile weight of methanol extract 0,667^b gram and rendemen 0,529^b % ($p < 0,05$). The value of IC₅₀ treatment of n-hexane extract, methanol and vitamin c was significantly different ($p < 0.05$) ie 312 ppm, 415 ppm and 13 ppm, all of which were considered very powerful antioxidants. N-hexane extract has better antioxidant activity than methanol extract, this is because n-hexane extract has total value of phenol = 45,284 mg GAE / g, chlorophyll a = 23,299 mg / g, carotenoid =

64,065 µg / g, more Higher than the methanol extract of total phenol = 22.235 mg GAE / g, chlorophyll a = 7,215 mg / g, carotenoid = 26,654 µg / g.

Keywords: *macroalgae, extract, pigment, chlorophyll, carotenoids, antioxidants.*

PENDAHULUAN

Gunung Kidul Yogyakarta terdapat Pantai Krakal yang secara geologis terkena pengaruh ombak secara langsung dari samudra Hindia. Pantai Krakal banyak ditemukan terumbu karang yang secara ekologis sebagai pemecah gelombang. Menurut Atmadja (1996) kondisi perairan tersebut cocok untuk habitat rumput laut khususnya jenis *Acanthophora muscoides*. Rumput laut *Acanthophora muscoides* belum dimanfaatkan secara maksimal (Williams, 2007). Rumput laut sangat bermanfaat misalnya di bidang kesehatan, enzimologi, dan mikrobiologi (La Barre *et al.*, 2010). Selain itu, rumput laut juga berpotensi sebagai antitumor (Fajarningsih *et al.*, 2008), antibakteri (Kantida *et al.*, 2012), antifungi (Kumar *et al.*, 2010), antivirus (Kumar *et al.*, 2009), antifouling (Kantida *et al.*, 2012) dan antioksidan Vijayabakar and Shiyamala (2012).

Senyawa metabolit sekunder rumput laut secara alami berpotensi sebagai antioksidan dan mempercepat reaksi oksidasi. Hal ini karena rumput laut secara ekologis mempunyai pertahanan terhadap radiasi sinar ultraviolet (Winarsi, 2007). Selain itu, rumput laut juga memiliki klorofil yang berperan dalam fotosintesis di perairan. Menurut Gill *et al.* (2002) adanya beberapa mikronutrien pada tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid (terikat dengan klorofil), antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan pengganti antioksidan sintetis komersil. Antioksidan sintetis merupakan senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Antioksidan ini tidak didapat secara alami sehingga penggunaannya harus hati-hati. Jika pemakaiannya berlebih maka fungsi antioksidan tersebut akan berubah menjadi toksik. Oleh karena itu, senyawa metabolit sekunder rumput laut tersebut perlu dikembangkan sebab penggunaan antioksidan alami tidak menimbulkan efek samping walaupun digunakan secara berlebihan (Winarno, 2004). Penelitian ini melakukan uji aktivitas antioksidan rumput laut *Acanthophora muscoides* pada pelarut organik non-polar dan polar.

MATERI DAN METODE

Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah rumput laut *Acanthophora muscoides* yang diambil dari lokasi sampling perairan Pantai Krakal, Gunung Kidul Yogyakarta. Sampel rumput laut *Acanthophora muscoides* diambil pada substrat batu karang yang terlihat saat kondisi pantai surut.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen laboratoris. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Prodi Budidaya Perairan, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara. Penelitian terdiri dari 5 tahap yaitu : (1). Preparasi rumput laut (2). Ekstraksi rumput laut dengan metode maserasi dan evaporasi, (3). uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut terhadap radikal DPPH, (4). Uji kandungan

fenol ekstrak dengan metode spektrofotometri, (5). Uji kandungan pigmen klorofil a dan karotenoid dengan metode spektrofotometri.

Preparasi Sampel

Rumput laut *Acanthophora muscoides* yang didapat dibersihkan dengan air tawar untuk menghilangkan kotoran, pasir, lumpur dan organisme yang menempel. *Acanthophora muscoides* dibersihkan dengan air mengalir, menggunakan air tawar dengan beberapa kali pembilasan (3-4 kali) untuk menghilangkan kadar garam permukaan. *Acanthophora muscoides* yang sudah bersih ditiriskan lalu ditimbang berat basah nya. *Acanthophora muscoides* yang sudah bersih dilakukan pemotongan ± 5 cm hal ini dimaksudkan agar dalam penyimpanan dan penanganan sampel lebih praktis, selain itu juga memperluas bagian kontak saat proses maserasi (Manivannan *et al.*, 2011).

Ekstraksi Sampel Rumput Laut *Sargassum*

Ekstraksi metabolit sekunder dilakukan dengan teknik maserasi. Sampel sebanyak 200 gram irendam menggunakan pelarut organik polar metanol 500 mL selama 24 jam pada suhu ruang ± 28 °C. Selanjutnya dilakukan filtrasi menggunakan kertas saring *whatman* dengan corong kaca, filtrat hasil rendaman diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40 °C dengan tekanan 500 mbHg sampai bervolume 100 mL. Sisa hasil penguapan dilakukan partisi dengan pelarut organik non-polar n-heksan menggunakan *separatory funnel* sehingga didapat fraksi polar dan non-polar. Kedua filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak. Ekstrak kemudian dihembus dengan gas N₂ sebelum disimpan. Ekstrak yang diperoleh disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C (Kanjana *et al.*, 2011). Berat ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus menurut Widiarto, (2011) : $We = Wv_2 - Wv_1$, Dimana : We = berat ekstrak (gram), Wv_1 = berat vial kosong (gram), Wv_2 = berat vial setelah diisi ekstrak (gram).

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan mengacu pada metode Miliauskas *et al.* (2004). Yaitu didasarkan pada kemampuan ekstrak dalam meredam radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Sebanyak 3 ml larutan DPPH 0,15 mM ditambahkan ke masing-masing 1,5 ml larutan ekstrak dengan konsentrasi 50, 150, 250, 350 dan 450 ppm sampai volume akhir 4,5 ml. Campuran reaksi dari larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

Keterangan :
- A = absorbansi kontrol negative larutan DPPH
- B = absorbansi ekstrak dan DPPH

Nilai % inhibisi digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dengan menggunakan analisis regresi linier sederhana.

Uji Kadar Total Fenol

Uji kadar total fenol dilakukan menurut Yangthong *et al.* (2009) yaitu menggunakan standar asam galat. Larutan standar asam galat pada konsentrasi 0,

10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 mg/l. Masing-masing ekstrak 5 mg dilarutkan dalam 2 ml etanol. Larutan ditambahkan 5 ml aquadest dan 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu 50% (v/v). Campuran didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan 1 ml Na₂CO₃ 5% (b/v). Campuran dihomogenkan lalu diinkubasi dalam kondisi gelap selama satu jam. Absorbansi yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 725 nm. Nilai total fenol rumput laut *Acanthophora muscoides* dinyatakan dalam "mg *Galic Acid Equivalent* (GAE)/ g ekstrak".

$$\text{Total Fenol} = \frac{(a \times V) / 1000 \text{ ml}}{G}$$

Keterangan : a = konsentrasi asam galat dalam sampel uji (mg/l)
V = volume total larutan uji (ml)
G = jumlah ekstrak yang ditimbang (g)
1000 ml = faktor konversi terhadap volume total larutan (ml)

Uji Kadar Klorofil a dan Karotenoid

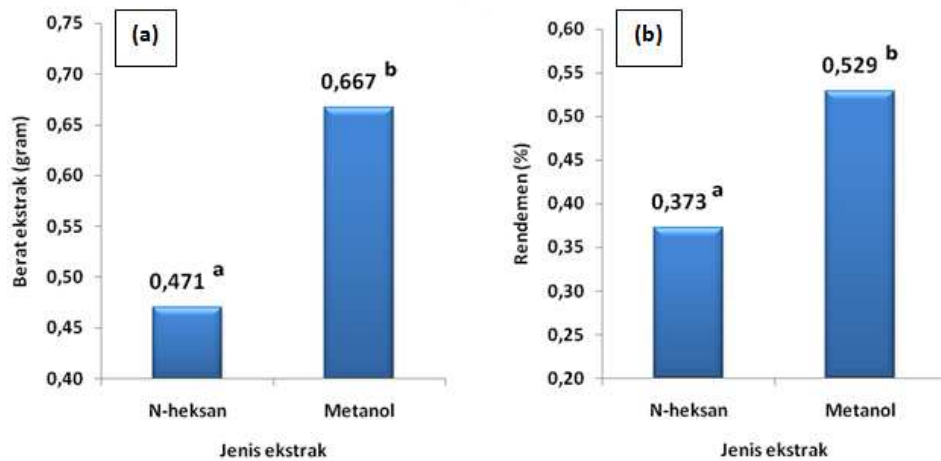
Pengukuran klorofil a dan karotenoid berdasarkan Lichtenthaler (1987). Ekstrak rumput laut *Acanthophora muscoides* dari tiap pelarut ditimbang sebanyak 5 mg, kemudian dilarutkan dengan aseton 80% dengan konsentrasi 5 mg ekstrak/5 ml aseton 80%. Masing-masing konsentrasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 646 nm, 663 nm, dan 470 nm. Kadar klorofil dan karotenoid dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{i. Klorofil a} &= 12,21 \times A_{663} - 2,81 \times A_{646} \\ \text{ii. Karotenoid} &= \frac{(A_{470} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{646}) \times V \times 1000}{112,5 \times 0,1 \times 10} \end{aligned}$$

Keterangan : A₄₇₀, A₆₆₃, A₆₄₆, A₆₃₈ : Nilai absorbansi pada 470,663,646,638 nm
V : Volume ekstrak (ml).

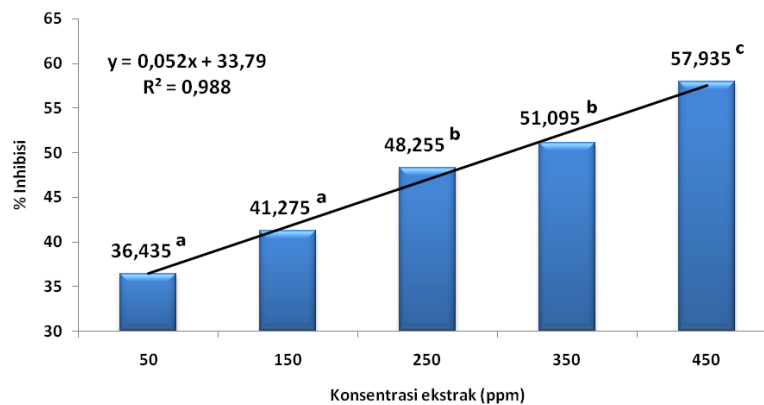
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampling rumput laut telah dilakukan di Pantai Krakal Gunung Kidul Yogyakarta. Sampel rumput laut dilakukan preparasi (pembersihan dan pemotongan) dan selanjutnya ekstraksi dengan teknik maserasi. Ekstraksi menggunakan dua jenis pelarut yaitu pelarut organik non-polar n heksana dan polar metanol. Berdasarkan gambar 1 (a) menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan pelarut mempengaruhi nilai berat ekstrak secara signifikan ($p < 0,05$). Ekstrak pelarut n- heksana memiliki nilai berat 0,471^a gram sedangkan berat ekstrak pelarut metanol lebih tinggi 41,67 % yaitu dengan nilai 0,667^b gram. Berdasarkan gambar 1 (b) menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan pelarut mempengaruhi nilai rendemen secara signifikan ($p < 0,05$). Ekstrak pelarut n- heksana memiliki nilai rendemen 0,373^a % sedangkan rendemen ekstrak metanol lebih tinggi 42,11 % yaitu dengan nilai 0,529^b %. Perbedaan hasil ekstraksi diduga karena perbedaan polaritas pelarut yang digunakan. Sarastani *et al.* (2002), ekstraksi menggunakan pelarut dengan polaritas berbeda dapat menghasilkan ekstrak dengan polaritas yang berbeda pula sesuai dengan sifat kepolaran masing-masing ekstrak.

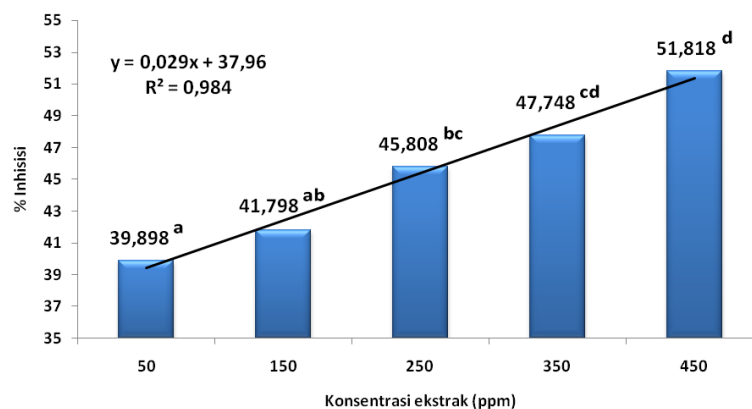


Gambar 1. Data preparasi sampel (a) Berat ekstrak dan (b) Rendemen (%).

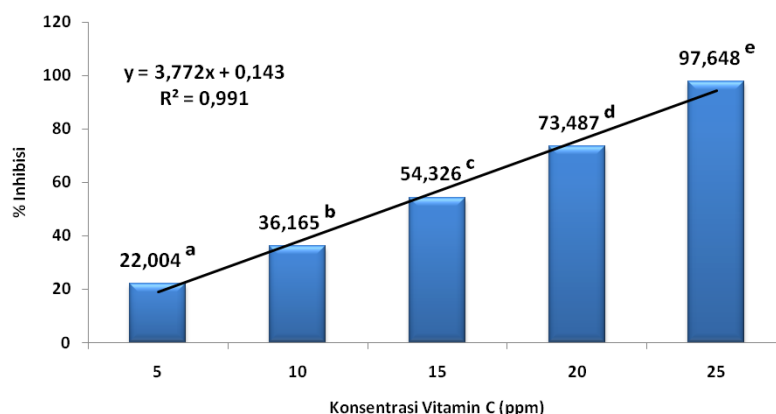
Ekstrak masing – masing pelarut selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH. Berdasarkan gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi ekstrak rumput laut *Acanthophora muscoides* pelarut n-heksan memberikan nilai inhibisi yang berbeda signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 2. Regresi linier perbedaan konsentrasi ekstrak n-heksan terhadap % inhibisi.



Gambar 3. Regresi linier perbedaan konsentrasi ekstrak metanol terhadap % inhibisi.

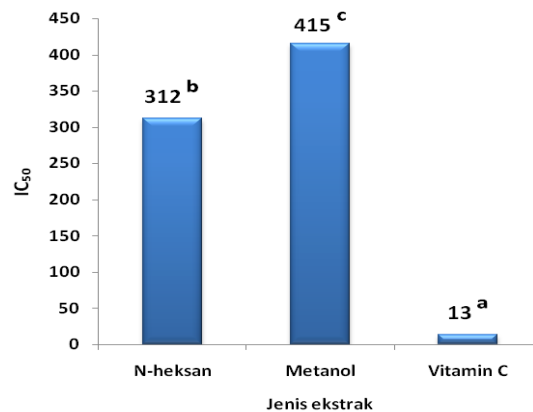


Gambar 4. Regresi linier perbedaan konsentrasi vitamin c terhadap % inhibisi.

Data % inhibisi menunjukkan berpola linier yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak 50, 150, 250, 350 dan 450 ppm maka nilai persen inhibisi semakin tinggi yaitu sebesar 36,435^a; 41,275^a; 48,255^b; 51,095^b dan 57,935^c dengan persamaan linier $y = 0,052x + 33,79$ dan koefisien determinan sebesar 0,988. Semakin besar konsentrasi ekstrak warna ungu pada DPPH semakin pudar menjadi kuning. Hasil penelitian Andayani *et al.* (2008) menyatakan bahwa pada konsentrasi yang lebih tinggi akan menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Menurut Kim (2005), ketika radikal DPPH bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan maka DPPH akan tereduksi menjadi DPPH-H. Kapasitas penangkapan radikal bebas ditunjukkan dengan persentase berkurangnya warna ungu dari DPPH.

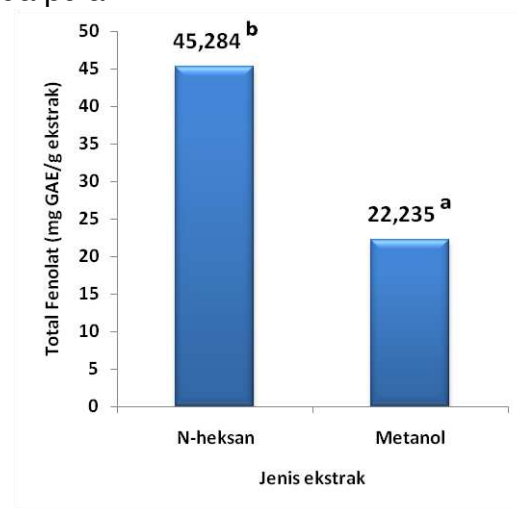
Perlakuan perbedaan konsentrasi ekstrak rumput laut *Acanthophora muscoides* pelarut metanol (gambar 3) memberikan nilai inhibisi yang berbeda signifikan ($p < 0,05$). Distribusi data % inhibisi menunjukkan berpola linier yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak 50, 150, 250, 350 dan 450 ppm maka nilai persen inhibisi semakin tinggi yaitu sebesar 39,898^a; 41,798^{ab}; 45,808^{bc}; 47,748^{cd} dan 51,818^d dengan persamaan linier $y = 0,029x + 37,96$ dan koefisien determinan sebesar 0,984. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak mengandung senyawa antioksidan dan senyawa ini menyumbang atom H kepada radikal bebas DPPH sehingga radikal DPPH menjadi lebih stabil yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Sesuai dengan pendapat Molyneux (2004), perubahan warna terjadi karena adanya reaksi antara molekul DPPH dengan molekul atom H yang dilepaskan oleh molekul komponen bahan uji (senyawa antioksidan), sehingga terbentuk senyawa DPPH yang berwarna kuning.

Penelitian ini melakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan kontrol positif vitamin c. Perlakuan perbedaan konsentrasi vitamin c (gambar 4) memberikan nilai inhibisi yang berbeda signifikan ($p < 0,05$). Terdapat hubungan antara konsentrasi dan % inhibisi yaitu hubungan linier semakin tinggi konsentrasi vitamin c 50, 150, 250, 350 dan 450 ppm maka nilai persen inhibisi semakin tinggi yaitu sebesar 22,004^a; 36,165^b; 54,326^c; 73,487^d dan 97,648^e dengan persamaan linier $y = 3,772x + 0,143$ dan koefisien determinan sebesar 0,991.

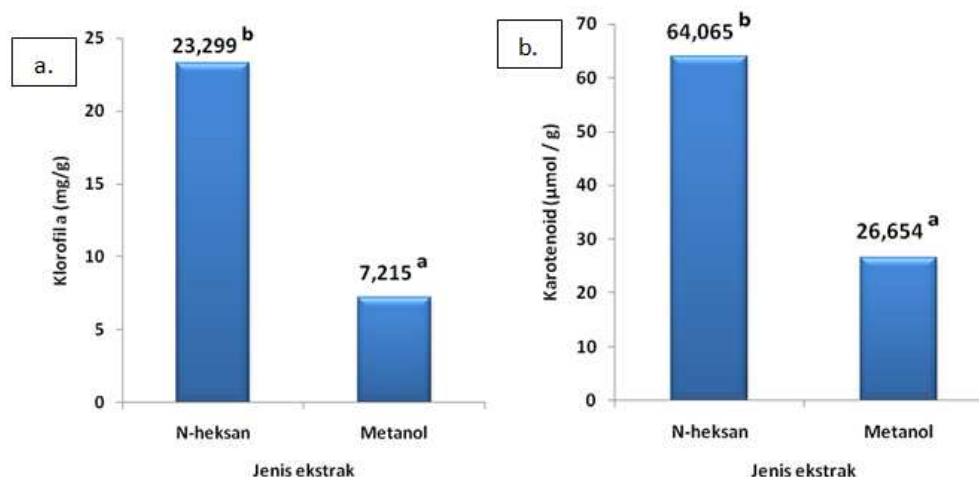


Gambar 5. Nilai IC₅₀ pada ekstrak n-heksan, metanol dan vitamin c.

Berdasarkan persamaan linier dari tiap perlakuan maka selanjutnya dilakukan penentuan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ ketiga perlakuan (ekstrak n-heksan, ekstrak metanol dan vitamin c) disajikan pada gambar 5. Hasil uji one way anova perlakuan memiliki nilai IC₅₀ berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dimana ekstrak n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dari pada ekstrak metanol. Berdasarkan gambar 5 menunjukkan bahwa Nilai IC₅₀ perlakuan ekstrak n-heksan sebesar 312 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan sangat kuat. Perlakuan ekstrak metanol memiliki IC₅₀ sebesar 415 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan sangat kuat. Perlakuan vitamin c memiliki nilai IC₅₀ yang paling rendah yaitu sebesar 13 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan sangat kuat. Perbedaan nilai IC₅₀ pada ekstrak diduga karena perbedaan polaritas pelarut. Menurut Ismail *et al.* (2002), aktivitas antioksidan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan karena senyawa dengan polaritas yang berbeda menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang berbeda pula.



Gambar 6. Nilai total fenolat pada ekstrak n-heksan dan metanol.



Gambar 7. Kadar pigmen klorofil a dan karotenoid pada ekstrak n-heksan dan metanol.

Aktivitas antioksidan ekstrak *Acanthophora muscoides* diduga terjadi karena terdapat komponen senyawa fenol, klorofil a dan karotenoid. Oleh sebab itu, dilakukan uji kadar total fenolik, klorofil a dan total karotenoid untuk mengetahui potensinya sebagai antioksidan. Data total fenol (gambar 6) menunjukkan bahwa kandungan senyawa fenol pada kedua ekstrak adalah berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Ekstrak rumput laut pelarut n-heksan memiliki nilai total fenol sebesar 45,284 mg GAE/g yang lebih tinggi signifikan 103,66 % dari pada total fenol ekstrak rumput laut pelarut metanol 22,235 mg GAE/g. Sheikh *et al.* (2009) senyawa fenolik terbanyak tidak selalu terdapat dalam ekstrak polar, namun tergantung dari struktur senyawa fenolik yang terkandung. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan kadar total fenol ekstrak heksana dari *Sargassum baccularia* lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanolnya.

Selain total fenol juga dilakukan analisis kadar pigmen klorofil a dan karotenoid yang disajikan pada gambar 7. Data kadar klorofil a pada gambar 7 (a) menunjukkan bahwa kandungan klorofil a pada kedua ekstrak adalah berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Ekstrak *Acanthophora muscoides* pelarut n-heksan memiliki nilai klorofil a sebesar 23,299 mg/g yang lebih tinggi signifikan 222,93 % dari pada klorofil a ekstrak *Acanthophora muscoides* pelarut metanol 7,215 mg/g. Selanjutnya data kadar karotenoid pada gambar 7 (b) menunjukkan bahwa kandungan karotenoid pada kedua ekstrak adalah berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Ekstrak *Acanthophora muscoides* pelarut n-heksan memiliki nilai karotenoid sebesar 64,065 µg/g yang lebih tinggi signifikan 140,36 % dari pada karotenoid ekstrak *Acanthophora muscoides* pelarut metanol 26,654 µg/g. Masojidek *et al.* (2004) menyatakan klorofil termasuk pigmen *non*-polar dan harus diekstrak dengan pelarut organik. Reaksi karotenoid terhadap radikal bebas ditunjukkan oleh β-karoten yang bereaksi dengan radikal peroksil dapat mengakibatkan terbentuknya radikal ROO-Carotene (radikal ROO-CAR) dan terjadi delokasi elektron, sehingga elektron tersebar di seluruh struktur β-karoten. Radikal ROO-CAR yang bereaksi dengan radikal ROOR-CAR dapat membentuk β-karoten netral.

KESIMPULAN

Berdasarkan data IC₅₀, kadar klorofil a dan karotenoid maka dapat diketahui bahwa ekstrak rumput laut *Acanthophora muscoides* pelarut n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Pelarut n-heksan lebih baik dari pada metanol dalam fungsi ekstraksi senyawa antioksidan pada rumput laut *Acanthophora muscoides*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM UNISNU Jepara yang telah mensuport dalam penelitian kerjasama dengan UNDIP Semarang. Selain itu juga, mengucapkan terimakasih kepada Ka Prodi Budidaya Perairan UNISNU Jepara atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk dapat mengerjakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Lisawati, Y., dan Maimunah. 2008. *Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (Solanum lycopersicum L). Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1): 1-9.
- Atmadja W.S; Kadi,A; Sulistijo; Rachmaniar. 1996. *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi-LIPI. Jakarta
- Fajarningsih, N. D., M. Nursid, T. Wikanta dan E. Marraskuranto. 2008. *Bioaktivitas Ekstrak Turbinaria decurrens sebagai Antitumor (HeLadan T47D) serta Efeknya terhadap Proliferasi Limfosit*. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan 3 (1) : 21-27.
- Gill, A. M., R.A. Bradstock, J.E. Williams. 2002. *Fire Regimes And Biodiversity: Legacy And Vision*. In: *Flammable Australia: The Fire Regimes and Biodiversity of a Continent* (eds. R. Bradstock, J.E. Williams, A. Malcolm Gill): 429-446.
- Ismail, J., Runtuwene M. R. J., & Fatimah, F. 2002. *Penentuan Total Fenolik Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Biji Dan Kulit Buah Pinang Yaki (Areca Vestitaria Giseke)*. Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- K Manivannan, G devi Karthikai, P Anantharaman, T Balasubramanin, 2011. *Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar*. Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine, 114-120.
- Kanjana Kulwadee, Radtanatip Tawut, Asuvapongpatana Somluk, Withyachumnarnkul Boonsirm, Kanokpan Wongprasert. 2011. *Solvent extracts of the red seaweed Gracilaria fisheri prevent Vibrio Harveyi infections the black tiger shrimp Panaeus monodon*. Fish & Shellfish Immunology 30 (2011) 389-396.
- Kantida, S. R., K. R. T. Asha and S. Sujatha. 2012. *Influence of Bioactive Compounds of Seaweeds and Its Biocidal and Corrothion Inhibitory Effect of Mild Steel*. Research Journal of Environmental Toxicology, 6 (3) : 101-109.
- Kim, O.S. 2005. *Radical scavenging capacity and antioksidant activity of the E vitamer fraction in rice bran*. Journal of Food Science. 70(3): 208-213.

- Kumar, R. R., J. K. Patterson, dan M. Jaikumar. 2010. Macro Benthic Community Structure on Tuticorin Coastal Waters Gulf of Mannar, South East Coast of India. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2(1). 70-77.
- Kumar, S. S., Y. Kumar, M. S. Y. Khan, J. Anbu and E. De Clercq. 2009. *Antihistaminic, Anticholinergic and Antiviral Activities of Fucosterol from Turbinaria conoides (J. Agardh) Kutzing*. Pharmacologyonline, 1 : 1104-1112.
- La Barre, S., P. Potin, C. Leblanc and L. Delage. 2010. *The Halogenated Metabolism of Brown Algae (Phaeophyta), Its Biological Importance and Its Environmental Significance*. Marine Drugs, 8 : 988-1010.
- Lichtenthaler. H. K. 1987. *Clorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes Methods in Enzymology*. Weinheim : Verlag Chemie.
- Masojidek, J., M. Koblizek, & G. Torzillo. 2004. Photosynthesis in microalgae in: A. Richmond(Ed). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blakwell Science Ltd., Iowa. p.20-39.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). *Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts*. *Food Chemistry* : 85, 231–237.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 26(2):211-219.
- Sarastani, D, Soekarto S, Muchtadi T, Fardiaz D, Apriyantono A. 2002. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung (Parinarium glaberrimum Hassk)*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Volume XIII Nomor 2.
- Sheikh TZB, Yong CL, and Lian MS. 2009. *In vitro antioxidant activity of the hexane and methanolic extracts of Sargassum baccularia and Cladophora patentiramea*. *Journal of Applied Sciences*. 13(9): 2490-2493.
- Vijayabaskar, P. Vaseela. N. Thirumaran G. 2012. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. *Chinese Journal of Natural Medicines* 2012, 10(6): 0421–0428
- Widiarto E., 2011. Aplikasi Bakteri Simbion Gastropoda sebagai Antibakteri dalam Bentuk Sediaan Gel Antiseptik Tangan. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNDIP Semarang.
- Williams, A. M. 2007. *Analysis of Benefits of Sargassum on Galveston Island and Indications for Beach Management Policy*. [Thesis]. Graduate Studies of Texas A & M University. Texas. USA.
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.
- Yangthong M, Nongporn HT, Phromkunthong W. 2009. *Antioxidant Activities Of Four Edible Seaweeds From The Southern Coast Of Thailand*. *Plant Foods Human Nutrition*. 64 : 218-223.