

UJI AKTIVITAS KLOROFIL BEBERAPA JENIS SAYURAN SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Munira Munira^{1*}, Novi Yanti¹, Muhammad Nasir²

¹ Jurusan Farmasi Poltekkes Kementerian Kesehatan Aceh, Banda Aceh

² Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Korespondensi Penulis: munira.ac@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang : Klorofil adalah pigmen pemberi warna hijau pada tumbuhan, alga dan bakteri fotosintetik. Klorofil yang dikandung daun memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan klorofil dari beberapa jenis sayuran dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan mengetahui perbedaan diameter zona hambat diantaranya.

Metode: Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi dalam 4 perlakuan yaitu aquadest (P0), klorofil daun singkong (P1), klorofil daun kangkung (P2), dan klorofil daun bayam (P3) dengan masing-masing 6 kali pengulangan. Uji mikrobiologi dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran.

Hasil: Uji Anova menunjukkan bahwa ekstrak klorofil daun singkong, kangkung dan bayam sangat berpengaruh ($P=0,000$) dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat terbesar terhadap *Escherichia coli* dibentuk oleh klorofil daun singkong (17,66 mm) dan berbeda nyata dengan klorofil daun kangkung (7 mm) dan daun bayam (6,16 mm). Sama halnya terhadap *Staphylococcus aureus* rata-rata diameter zona hambat terbesar juga dibentuk oleh klorofil daun singkong yaitu 18,16 mm dan berbeda nyata dengan klorofil daun kangkung (6,75 mm) dan daun bayam (6,08 mm).

Kesimpulan: Ekstrak klorofil daun singkong, kangkung dan bayam dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat terbesar dibentuk oleh ekstrak klorofil daun singkong.

Kata Kunci : klorofil; antibakteri; singkong; kangkung; bayam

CHLOROPHYLL ACTIVITY TEST OF SOME TYPES OF VEGETABLES AS AN ANTIBACTERY FOR *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Background: Chlorophyll is a green color pigment in plants, algae and photosynthetic bacteria. The chlorophyll contained in the leaves has a function as an antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial. This study aims to determine the ability of chlorophyll from several types of vegetables to inhibit *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and determine the differences in the diameter of the inhibition zone between them.

Methods: This study was a laboratory experimental study using a completely randomized design (CRD) divided into 4 treatments, namely aquadest (P0), cassava leaf chlorophyll (P1), kale leaf chlorophyll (P2), and spinach leaf chlorophyll (P3). 6 repetitions each. Microbiological tests were carried out using the well diffusion method.

Results: Anova test showed that the chlorophyll extracts of cassava, kale and spinach were very influential ($P = 0.000$) in inhibiting the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Duncan's further test showed that the largest average inhibition zone diameter for *Escherichia coli* was formed by cassava leaf chlorophyll (17.66 mm) and was significantly different from kale leaf chlorophyll (7 mm) and spinach leaves (6.16 mm). Similar to *Staphylococcus aureus*, the largest average inhibition zone diameter was also formed by cassava leaf chlorophyll, which was 18.16 mm and significantly different from kale leaf chlorophyll (6.75 mm) and spinach leaves (6.08 mm).

Conclusion: The chlorophyll extract of cassava leaves, kale and spinach can inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with the largest inhibition zone diameter formed by the chlorophyll extract of cassava leaves.

Keywords: chlorophyll; antibacterial; cassava; water spinach; spinach

PENDAHULUAN

Klorofil merupakan pigmen yang berperan penting dalam proses fotosintesis.¹ Klorofil terdapat pada kloroplas dan memberikan pigmen yang berwarna hijau pada tumbuhan. Pada tumbuhan tingkat tinggi, kloroplas terutama terdapat pada jaringan parenkim palisade, dan parenkim spons daun.² Klorofil yang terkandung dalam daun memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antiinflamasi dan zat yang bersifat menyembuhkan luka.³ Selain itu klorofil juga dapat berfungsi sebagai pembantu terjadinya detoksifikasi, antioksidan, antipenuaan dan antikanker.^{4,5}

Klorofil dan turunannya memiliki fungsi sebagai antimutagenik, antikarsinogenik, menurunkan serum kolesterol, menurunkan trigliserida, menurunkan sembelit dan juga dapat digunakan sebagai desinfektan, food suplemen dan anti bakteri.⁶⁻¹⁰ Umur tanaman merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan klorofil. Semakin tua umur suatu tanaman maka kandungan klorofil yang dihasilkan akan semakin tinggi.¹¹ Beberapa tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber klorofil berasal dari kelompok sayur-sayuran seperti daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz), kangkung (*Ipomoea aquatic* Forssk) dan bayam (*Amaranthus tricolor* L.).¹²⁻¹⁴

Daun singkong digunakan sebagai sayuran dan juga bermanfaat sebagai obat dikalangan masyarakat. Daun ini mengandung klorofil yang tinggi yaitu sebesar 27,4467 mg/g. Kangkung merupakan tanaman yang termasuk ke dalam jenis sayur-sayuran yang sangat populer dan juga telah dimanfaatkan sebagai obat-obatan dikalangan masyarakat dan kangkung mengandung klorofil sebesar 16.7667 mg/g. Adapun bayam juga merupakan sayuran yang memiliki khasiat sebagai obat alami antara lain untuk mencegah osteoporosis, meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah dan mengobati luka bakar. Bayam memiliki kandungan klorofil yaitu sebesar 23.0222 mg/g.¹⁵

Beberapa penelitian telah mengemukakan bahwa klorofil dapat berfungsi sebagai antibakteri diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Dimara dan Tien (2011) yang menyatakan bahwa pigmen klorofil dari *Caulerpa racemosa* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.¹⁶ *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit. Hal ini dikarenakan kulit terus menerus berhubungan dan kontak langsung

dengan lingkungan sekitarnya. Selain itu *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi yang sering pada manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi pada luka bedah, lesi-lesi kulit pada bayi, abses payudara pada ibu-ibu dan mata lengket.¹⁷ Sementara itu *Escherichia coli* juga merupakan flora normal yang biasanya terdapat pada saluran pencernaan hewan dan manusia, dan dapat menyebabkan penyakit di saluran pencernaan dan saluran kemih. Penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* antara lain diare, sepsis dan meningitis.¹⁸

Mengingat daun singkong, kangkung dan bayam mempunyai kandungan klorofil yang tinggi dapat berfungsi sebagai antibakteri maka perlu dilakukan penelitian uji aktivitas klorofil beberapa jenis sayuran sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan klorofil dari beberapa jenis sayuran dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian diharapkan dapat menambah pengetahuan bagi peneliti lain mengenai pengaruh aktivitas klorofil beberapa sayuran sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi menjadi 4 perlakuan dengan masing-masing 6 pengulangan. Uji mikrobiologi dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat. Data yang telah diperoleh yaitu berupa rata-rata diameter zona hambat akan dianalisis dengan menggunakan uji Anova dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, mortal, timbangan analitik, gelas ukur, hot plate, erlenmeyer, beakerglass, pipet ukur, tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, corong kaca, batang pengaduk, autoklaf, cawan petri, bunse, ose bulat, cotton buds, spidol, penggaris, spektrofotometer, vacum rotary evaporator, inkubator.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun singkong, daun kangkung dan daun bayam yang di peroleh dari pasar Lambaro Aceh Besar. Aseton 85%, aquades, NaCl 0,9%, asam sulfat 1% (v/v),

barium klorida 1% (b/v) bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari FKH Universitas Syiah Kuala Banda Aceh, media Nutrien Agar (NA), kertas saring, kertas label, kapas, kertas buram.

Preparasi Sampel¹⁹

Daun singkong, daun kangkung dan daun bayam yang dibeli di pasar Lambaro Aceh Besar dipisahkan dari kotoran atau benda asing lainnya, diambil helaian daun urutan 2, 3 atau 4 dari pucuk, dicuci bersih dengan air kemudian ditiriskan. Daun diiris dengan ukuran 0,5 -1 cm dan ditimbang masing-masing daun sebanyak 80 gram kemudian dihaluskan dengan menggunakan mortar.

Pembuatan Ekstrak Klorofil¹⁹

Masing-masing sampel daun singkong, daun kangkung dan daun bayam yang sudah dihaluskan diekstrak dengan larutan aseton 85% sebanyak 200 mL. Ekstrak yang diperoleh disaring melalui corong kaca yang dilapisi kertas saring.

Penetapan Kadar Klorofil

Larutan klorofil dimasukkan kedalam kuvet kemudian dimasukkan ke dalam spektrofotometer UV Vis, dinyalakan sumber cahaya dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm. Kandungan klorofil dihitung dengan menggunakan rumus menurut Harbone sebagai berikut:⁵

$$\begin{aligned} \text{Klorofil a} &= 13,7 \times \text{OD } 665 - 5,76 \text{ OD } 649 \text{ mg/L} \\ \text{Klorofil b} &= 25,8 \times \text{OD } 649 - 7,7 \text{ OD } 665 \text{ mg/L} \\ \text{Total klorofil} &= 20,0 \times \text{OD } 649 - 6,1 \text{ OD } 665 \text{ mg/L.} \end{aligned}$$

Kemudian masing-masing ekstrak diuapkan dengan vacuum rotary evaporator pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Mikrobiologi

Disiapkan 12 cawan petri (6 cawan untuk uji bakteri *Staphylococcus aureus* dan 6 cawan untuk uji bakteri *Escherichia coli*). Masing-masing dituangkan media NA sebanyak 15-20 mL dan didiamkan hingga mengeras. Dibuat sumuran pada media agar yang telah padat dengan menggunakan *cork borer* atau percabangan pada masing-masing daerah dan ditandai kemudian dimasukkan klorofil daun singkong, klorofil daun kangkung dan klorofil daun bayam serta aquadest sebagai kontrol kedalam lubang sumur yang sesuai. Cawan agar diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C.

Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan penggaris.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji kadar klorofil menunjukkan kadar klorofil dari sampel tanaman yang diuji, di mana daun singkong memiliki total klorofil yang tertinggi yaitu 48.831mg/g, daun bayam sebanyak 45.982 mg/g dan total klorofil terendah adalah daun kangkung 6.886 mg/g. Hasil uji kadar klorofil dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar klorofil daun singkong, daun bayam dan daun kangkung (mg/g)

Jenis tanaman	Total klorofil	Klorofil a	Klorofil b
Singkong	48.831	27.502	66.818
Bayam	45.982	26.420	59.878
Kangkung	6.886	11.788	9.078

Berdasarkan hasil uji mikrobiologi dapat dibuktikan bahwa ekstrak klorofil daun singkong, daun bayam dan daun kangkung dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Pada Bakteri *Escherichia coli*, rata-rata diameter zona hambat dari ekstrak klorofil daun singkong (P1) adalah sebesar 17,66 mm, ekstrak klorofil daun kangkung (P2) sebesar 7,00 mm dan ekstrak klorofil daun bayam (P3) sebesar 6,16 mm sedangkan pada perlakuan kontrol (P0) yang diberi aquadest tidak terlihat adanya zona hambat. Setelah dilakukan uji statistik menggunakan Anova maka diperoleh hasil bahwa ekstrak klorofil daun singkong, daun kangkung dan daun bayam sangat berpengaruh (P=0,000) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji anova rata-rata diameter zona hambat (mm) ekstrak klorofil beberapa sayuran terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	P	Rata-rata	SD	Nilai p
Aquadest	6	0,00	0,000	0,000
Klorofil daun singkong	6	17,66	2,5820	
Klorofil daun kangkung	6	7,00	1,8974	
Klorofil daun bayam	6	6,16	1,9408	

Analisis selanjutnya dilakukan dengan uji lanjut Duncan. Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *E. coli*

dibentuk oleh perlakuan yang diberi klorofil daun singkong yaitu sebesar 17,66 mm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang diberi klorofil daun kangkung (7 mm) dan daun bayam (6,16 mm). Hasil uji lanjut Duncan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji lanjut Duncan rata-rata diameter zona hambat (mm) ekstrak klorofil beberapa sayuran terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter zona hambat Rata-rata (mm) ± SD	Kategori Daya Hambat
Aquadest	0,00 ^a ± 0,000	Tidak ada daya hambat
Klorofil daun singkong	17,66 ^c ± 2,5820	Kuat
Klorofil daun kangkung	7,00 ^b ± 1,8974	Sedang
Klorofil daun bayam	6,16 ^b ± 1,9408	Sedang

Pada uji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh ekstrak klorofil daun singkong (P1) adalah sebesar 18,16 mm, ekstrak klorofil daun kangkung (P2) sebesar 6,75 mm dan ekstrak klorofil daun bayam (P3) sebesar 6,08 mm sedangkan pada perlakuan kontrol (P0) yang diberi aquadest tidak terlihat adanya zona hambat. Selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan Anova (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil uji anova rata-rata diameter zona hambat (mm) ekstrak klorofil beberapa sayuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	N	Rata-rata	SD	Nilai p
Aquadest	6	0,00	0,000	
Klorofil daun singkong	6	18,16	3,1411	0,000
Klorofil daun kangkung	6	6,75	1,4053	
Klorofil daun bayam	6	6,08	1,1143	

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa ekstrak klorofil daun singkong, daun kangkung dan daun bayam sangat berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (P=0,000). Kemudian dilakukan uji lanjut Duncan dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji lanjut Duncan rata-rata diameter zona hambat (mm) ekstrak klorofil beberapa sayuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Diameter zona hambat Rata-rata (mm) ± SD	Kategori Daya Hambat
Aquadest	0,00 ^a ± 0,000	Tidak ada daya hambat
Klorofil daun singkong	18,16 ^c ± 3,14	Kuat
Klorofil daun kangkung	6,75 ^b ± 1,40	Sedang
Klorofil daun bayam	6,08 ^b ± 1,11	Sedang

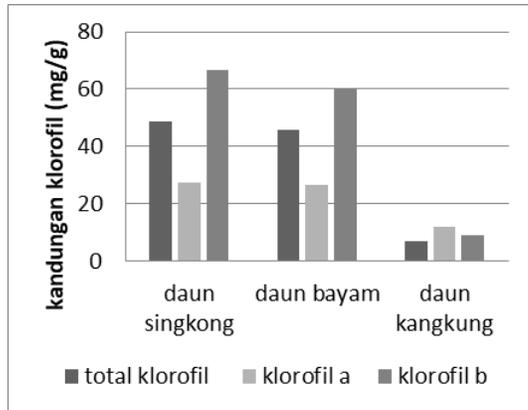
Dari uji lanjut Duncan didapatkan bahwa rata-rata diameter zona hambat terbesar juga terdapat pada perlakuan yang diberi klorofil daun singkong yaitu sebesar 18,16 mm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang diberi klorofil daun kangkung (6,75 mm) dan daun bayam (6,08 mm). Rata-rata diameter zona hambat klorofil daun kangkung tidak berbeda nyata dengan klorofil daun bayam.

Dari hasil uji mikrobiologi terhadap kedua bakteri di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak klorofil daun singkong membentuk rata-rata diameter zona hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, yang kemudian diikuti oleh ekstrak klorofil daun kangkung dan daun bayam. Perbedaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri ini dapat disebabkan oleh perbedaan kandungan total klorofil yang terdapat pada masing-masing daun sayuran tersebut.

Berdasarkan hasil ekstraksi klorofil yang telah dilakukan pada ketiga sayuran, maka dapat dibuktikan bahwa daun singkong mengandung total klorofil yang paling tinggi yaitu 48.83 mg/g dan selanjutnya daun bayam sebanyak 45.98 mg/g. Sementara daun kangkung mengandung klorofil yang paling rendah yaitu 6.89 mg/g (Gambar. 1). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Setiari dan Nurchayati (2009) yang melakukan eksplorasi kandungan klorofil pada beberapa sayuran yang sama dan diperoleh total klorofil daun singkong juga lebih tinggi (27.4467 mg/g) bila dibandingkan dengan daun bayam (23.0222 mg/g) dan daun kangkung (16.7667 mg).¹⁵

Daun singkong dan bayam memiliki klorofil yang lebih tinggi karena singkong dan bayam merupakan tanaman yang berumur lebih tua dibandingkan kangkung. Sementara daun kangkung memiliki kandungan klorofil yang relatif rendah, hal ini disebabkan klorofil pada tanaman kangkung tersebar tidak hanya pada organ daun saja namun juga dijumpai pada bagian batang dan kangkung termasuk tanaman yang memiliki umur yang lebih muda dibandingkan dengan singkong dan bayam.

Total klorofil dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain umur tanaman, umur daun, morfologi daun serta faktor genetik.¹⁵ Biber mengatakan bahwa umur daun dan tahapan fisiologis suatu tanaman merupakan faktor yang menentukan kandungan klorofil.²⁰ Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pengujian umur sayuran saat pengambilan sampel.



Gambar 1. Grafik kadar total klorofil, klorofil a dan klorofil b pada beberapa jenis sayuran

Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat bahwa kandungan klorofil a dan klorofil b pada daun singkong dan daun bayam lebih tinggi daripada daun kangkung. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan daun singkong dan daun bayam dalam menangkap energi radiasi cahaya lebih efisien dibandingkan daun kangkung. Sehingga laju fotosintesis kedua tanaman tersebut lebih efisien daripada daun kangkung. Klorofil a dan b berperan dalam proses fotosintesis tanaman. Klorofil b berfungsi sebagai antena fotosintetik yang mengumpulkan cahaya kemudian ditransfer ke pusat reaksi. Pusat reaksi tersusun dari klorofil a. energi cahaya akan di ubah menjadi energi kimia dipusat reaksi yang kemudian dapat digunakan untuk proses reduksi dalam fotosintesis

Jika ditinjau dari jenis bakteri yang dihambat maka rata-rata diameter zona hambat lebih besar terdapat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua bakteri. Struktur dinding sel bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) berlapis tunggal dan tersusun atas peptidoglikan serta lipid dengan kadar sedang sehingga lebih mudah untuk terbentuknya hambatan. Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) lebih sulit ditembus, karena struktur dinding sel bakteri ini berlapis tiga yang tersusun atas peptidoglikan dan lipid dengan

kadar yang tinggi, sehingga sulit untuk dihambat.²¹

Menurut Morales (2003) aktivitas antibakteri dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (<10-20 mm) dan sangat kuat (>20-30mm). jika ditinjau dari kategori zona hambat, maka ekstrak klorofil daun singkong termasuk dalam kategori kuat dan ekstrak klorofil daun kangkung dan ekstrak klorofil daun bayam termasuk dalam kategori sedang.²²

KESIMPULAN

Ekstrak klorofil daun singkong, daun kangkung dan daun bayam sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Rata-rata diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *E coli* terdapat pada perlakuan yang diberi klorofil daun singkong yaitu sebesar 17,66 mm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang diberi klorofil daun kangkung (7 mm) dan daun bayam (6,16 mm).

Rata-rata diameter zona hambat terbesar terhadap *S. aureus* juga terdapat pada perlakuan yang diberi klorofil daun singkong yaitu sebesar 18,16 mm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang diberi klorofil daun kangkung (6,75 mm) dan daun bayam (6,08 mm). Untuk penelitian selanjutnya diharapkan dapat mengukur umur sayuran pada saat pengambilan sampel.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, serta kepada Ketua Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh dan Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah yang telah memberikan izin kontribusi terhadap pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga kami sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Krause, G. H. & Weis, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Biol.* 1991;42, 313-349
2. Sumenda, L. Analisis kandungan klorofil daun mangga (*Mangifera indica L.*) pada tingkat perkembangan daun yang berbeda. *J. Bios*

- Logos 1.(2011).
3. Endo, Y., Usuki, R. & Kaneda, T. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1985;62, 1387–1390.
 4. El-Sayed, W. M., Hussin, W. A., Mahmoud, A. A. & AlFredan, M. A. The Conyza triloba extracts with high chlorophyll content and free radical scavenging activity had anticancer activity in cell lines. *Biomed Res. Int.* 2013.
 5. Iriyani, D. & Nugrahani, P. Kandungan klorofil, karotenoid, dan vitamin c beberapa jenis sayuran daun pada pertanian periurban di Kota Surabaya. *J. Mat. Sains dan Teknol.* 2014;15:84–90.
 6. Angkasa, D. & Sulaeman, A. Pengembangan minuman fungsional sumber serat dan antioksidan dari daun hantap (*Sterculia oblongata* R. Brown.). *Dep. Gizi Masy. Inst. Pertan. Bogor.* 2012.
 7. Liber JA, Bryson AE, Bonito G, Du ZY. Harvesting microalgae for food and energy products. *Small Methods.* 2020;4(10):2000349.
 8. Ferruzzi, M. G., Böhm, V., Courtney, P. D. & Schwartz, S. J. Antioxidant and antimutagenic activity of dietary chlorophyll derivatives determined by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. *J. Food Sci.* 2002;67, 2589–2595
 9. Mowbray, S. The antibacterial activity of chlorophyll. *Br. Med. J.* 1957;1: 268.
 10. Olatunde, O. O., Della Tan, S. L., Shiekh, K. A., Benjakul, S. & Nirmal, N. P. Ethanolic guava leaf extracts with different chlorophyll removal processes: Anti-melanosis, antibacterial properties and the impact on qualities of Pacific white shrimp during refrigerated storage. *Food Chem.* 2020;341:128251
 11. Setiawati, T., Saragih, I. A., Nurzaman, M. & Mutaqin, A. Z. Analisis Kadar Klorofil dan Luas Daun Lampeni (*Ardisia humilis* Thunberg) pada Tingkat Perkembangan yang Berbeda di Cagar Alam Pangandaran. in *Prosiding Seminar Nasional MIPA.* 2016: 27–28.
 12. Solikhah, R., Purwantoyo, E. & Rudyatmi, E. Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Klorofil Kultivar Singkong Di Daerah Wonosobo. *Life Sci.* 2019;8:86–95.
 13. Kurniawan, M., Izzati, M. & Nurchayati, Y. Kandungan klorofil, karotenoid, dan vitamin C pada beberapa spesies tumbuhan akuatik. *Anat. Fisiol.* 2010;18:28–40.
 14. Fatimah, S. Studi Kadar klorofil dan Zat besi (Fe) pada beberapa jenis bayam terhadap jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia. 2009.
 15. Setiari, N. & Nurchayati, Y. Eksplorasi kandungan klorofil pada beberapa sayuran hijau sebagai alternatif bahan dasar food supplement. *Bioma.* 2009;11:6–10.
 16. Dimara, L. & Yenusi, T. Y. B. Uji aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak pigmen klorofil rumput laut *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh. *J. Biol. Papua.* 2011;3:53–58.
 17. Jawetz, E. et al. *Mikrobiologi kedokteran.* Jakarta EGC. 2005.
 18. Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A. Jawetz, Melnick, & Adelberg's *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 1 Buku 2. Jakarta Salemba Med. 2008.
 19. Putri, W. D. R., Zubaidah, E. & Sholahudin, N. Ekstraksi pewarna alami daun suji, kajian pengaruh blanching dan jenis bahan pengekstrak. *J. Teknol. Pertan.* 2012;4.
 20. Biber, P. D. Evaluating a chlorophyll content meter on three coastal wetland plant species. *J. Agric. Food Environ. Sci.* 2007;1:1–11.
 21. Roni, A., Maesaroh, M. & Marlioni, L. Aktivitas antibakteri biji, kulit dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika J. Ilm. Farm.* 2019; 6:29–33.
 22. Morales, G. et al. Secondary metabolites from four medicinal plants from northern Chile: antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *J. Chil. Chem. Soc.* 2003;48:13–18.