

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI DARI JAMUR SIMBION DARI TERIPANG (*Holothuroidea* sp.) YANG DIAMBIL DI PERAIRAN KELURAHAN MOLAS KECAMATAN BUNAKEN PROVINSI SULAWESI UTARA

(Isolation and Antibacterial Activity Test of Fungal Symbionts Extracts Derived from Sea Cucumber (*Holothuria* sp.) from Molas Waters Bunaken District North Sulawesi)

Epsan J. Mamangkey^{1*}, Fitje Losung¹, Robert. A. Bara¹, Ping Astony Angmalisang¹, Natalie D.C. Rumampuk¹, Reiny Tumbol²

1. Program studi Ilmu Kelautan, FPIK UNSRAT manado
 2. Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan FPIK UNSRAT manado
- *Penulis korespondensi: Epsan Mamangkey; epsanjr01@gmail.com

ABSTRACT

Sea cucumbers are one of the marine biotas which consist of high nutritional and protein content. One bioactive compound in sea cucumbers is triterpenoid with antifungal and anti-bacterial properties. This study aimed to obtain fungal symbionts derived from marine cucumbers from Molas Waters, North Sulawesi continued by extraction and testing their antibacterial property towards bacterial strains *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The antibacterial activity test was carried out by using the Kirby-Bauer disc diffusion method. In the results, we found 3 species of sea cucumbers from Molas Waters, e. g. *Holothuria atra*, *Bohadschia argus* and *Holothuria scabra*. From these species, three isolates of fungal symbionts were isolated and tested for their antibacterial property. These three extracts array antibacterial activity against *E. coli* and *S.aureus*. The most potent antibacterial activity was found in the extract of fungal symbiont from *H. atra* with an average of 29.3 mm against *E.coli* and 28.0 mm against *S.aureus*.

Keywords: Sea cucumber, antibacterial activity test, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, fungal symbiont.

ABSTRAK

Teripang adalah salah satu biota yang memiliki kandungan gizi dan protein yang juga cukup tinggi dalam tubuh teripang. Salah satu senyawa yang terkandung dalam teripang yaitu senyawa triterpenoid yang memiliki aktivitas sebagai anti jamur dan anti bakteri. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan isolat jamur dan ekstrak jamur yang bersimbiosis dengan teripang dan menguji aktivitas antibakteri terhadap strain *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar (*disc diffusion Kirby-Bauer*). Hasil penelitian didapatkan dari 3 jenis teripang dari Pantai Molas yaitu *Holothuria atra*, *Bohadschia argus* dan *Holothuria scabra*. Dari ketiga spesies teripang ini telah diisolasi tiga isolat jamur simbiosis untuk diuji aktivitas antibakterinya. Ketiga ekstrak jamur simbiosis asal teripang ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap strain bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri yang paling kuat dari terdapat pada ekstrak jamur simbiosis asal *Holothuria atra* dengan rata-rata 29,3 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 28,0 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Teripang laut, Uji aktivitas antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Jamur simbiosis

PENDAHULUAN

Lautan merupakan bagian terluas sekitar 70% seluruh permukaan bumi ditutupi oleh air. Laut merupakan bagian penting bagi kehidupan kebutuhan biota laut. Biota yang ada di laut menghuni hampir semua bagian laut, mulai dari pantai, permukaan laut sampai dasar laut sekalipun. Biota laut merupakan kekayaan alam yang tak ternilai harganya dan menarik perhatian manusia (Rasyid, 2008). Laut memberikan manfaat yang besar bagi kehidupan manusia kedepannya (Romimohtarto, 2005).

Salah satu biota laut yang menjadi kekayaan alam adalah teripang, Teripang (Holothuroidea) atau timun laut adalah kelompok hewan avertebrata laut dari kelas Holothuroidea, filum Echinodermata. Bentuk tubuh teripang secara umum menyerupai timun (Husain dkk., 2017). Masing-masing jenis memiliki habitat yang spesifik misalnya, Teripang Putih (*Holothuria scabra*) banyak terdapat di perairan yang ditumbuhi lamun (*seagrass*), sedangkan Teripang Koro (*Muelleria lecanora*) dan Teripang Pasir banyak ditemukan di perairan yang lebih dalam (Martoyo dkk., 2007).

Teripang juga memiliki kandungan gizi dan protein yang juga cukup tinggi dalam tubuh teripang sehingga memiliki potensi ekonomi yang cukup tinggi (Martoyo dkk., 2006) Pemanfaatan biota laut saat ini bukan hanya sekadar untuk konsumtif saja, tetapi sudah mengarah kepada penelitian yang lebih maju, seperti penemuan obat-obatan yang berbahan dasar dari biota laut (Rasyid, 2008). Indonesia sebagai negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi memiliki peluang yang cukup besar untuk penemuan bahan kandidat obat (Bara, dkk. 2015) Seiring berkembangnya antibiotik ternyata menimbulkan resistensi terhadap organisme target seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Aeromonas hydrophila* (Serrano, 2005).

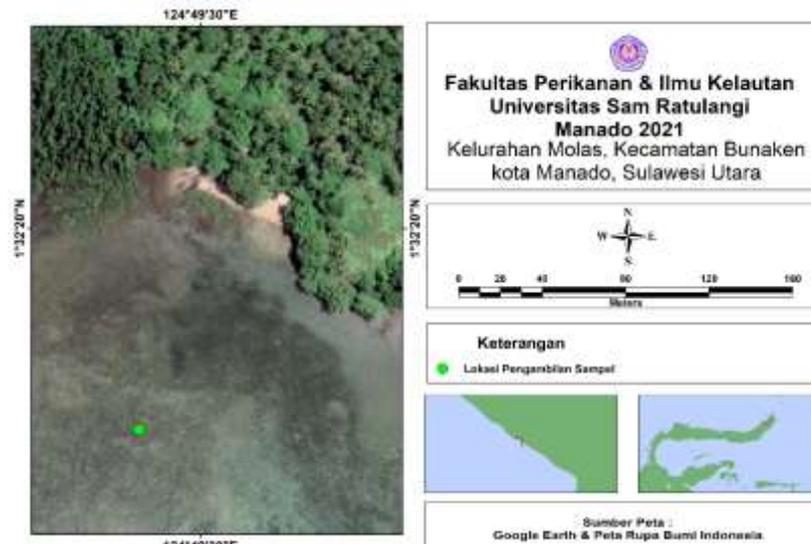
Resistensi bakteri terhadap antibiotik bukan merupakan sesuatu yang baru Penggunaan antibiotik yang berlebihan merupakan penyebab utama dari besarnya jumlah bakteri patogen dan komensal yang resisten terhadap antibiotik. Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan ancaman serius terhadap bidang kesehatan, karena itu diperlukan penemuan dan pengembangan jenis antibiotik baru yang dapat melawan mekanisme resistensi. Kebutuhan antibiotik baru masih sangat diperlukan, terutama yang efektif melawan bakteri resisten. (Levy and Marshal, 2004).

Bordbar dkk. (2011) dalam Nimah dkk. (2012) melaporkan bahwa ekstrak dari teripang pasir (*Holothuria scabra*) merupakan salah satu bahan alam yang kaya akan metabolit sekunder, diantaranya steroid, sapogenin, saponin, triterpenoid, glikosaminoglikan, lektin, alkaloid, fenol dan flavonoid. Salah satu senyawa yang terkandung dalam teripang pasir adalah senyawa triterpenoid yang memiliki aktivitas sebagai anti jamur (Pranoto dkk., 2012). Senyawa triterpenoid merupakan biosintesis dari senyawa terpenoid (Lenny, 2006), senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Gunawan dkk., 2008). Di beberapa negara maju, jenis-jenis teripang tertentu telah dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam industri obat-obatan (Mangindaan dan Losung, 2013).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai sejak bulan Maret hingga bulan Juli 2022. Pengambilan sampel dilakukan di Perairan Molas, Manado, Sulawesi Utara. Selanjutnya proses ekstraksi, maserasi, kultur jamur, pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan Sampel Teripang

Pengambilan sampel dilakukan di sekitar Pantai Batu Hitam, Kelurahan Molas, Kecamatan Bunaken, Provinsi Sulawesi Utara. Sampel akan di ambil di sekitaran titik yang ditunjukkan dalam peta. Koleksi teripang dilakukan secara langsung dari substratnya lalu dimasukkan ke dalam plastik sampel, Sampel selanjutnya dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT untuk penelitian lebih lanjut.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain autoklaf, *rotary vacuum evaporator*, *laminar air flow*, *freeze dryer*, oven, kertas saring, mikropipet, kertas cakram, timbangan analitik, erlenmeyer, cawan petri, *aluminium foil* dan penggaris.

Bahan yang digunakan adalah nutrient agar, nutrient broth, kloramfenikol, etil asetat, air kentang dan sampel Teripang.

Identifikasi Biota

Sampel yang diperoleh diidentifikasi untuk mengetahui spesies apa yang diperoleh. Identifikasi Teripang laut dilakukan dengan cara melihat morfologi sampel mulai dari bentuk, warna, dan tekstur sampel. Pengamatan morfologi Teripang laut holothuroidea dipandu dengan Buku "*Teripang Indonesia: Jenis, Sebaran dan Status Nilai Ekonomi*" (Setyastuti dkk., 2019).

Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian disterilasi lebih dulu untuk menghindari kontaminasi mikroba yang tidak diinginkan. Peralatan yang di sterilisasi seperti cawan petri, gelas Erlenmeyer, tabung reaksi dan pisau sebelum disterilisasi terlebih dahulu dicuci. Sterilisasi dilakukan menggunakan oven, pemanasan kering atau sterilisasi kering (oven) memerlukan suhu yang sangat tinggi, sehingga bahan yang disterilkan hanya tertentu saja karena dapat melelehkan bahan lainnya, suhu yang diperlukan adalah 170° C selama 1 jam (Kemenkes, 2017).

Pembuatan Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Media dibuat dengan melarutkan air kentang 25 ml, gula 3 gram dan agar 1,5 gram kemudian masukan air laut saring 25 ml lalu tuang ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya erlenmeyer ditutup menggunakan *aluminium foil* dan disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15-20 menit. Setelah itu, media dituang pada cawan petri steril proses penuangan dilakukan di dalam *laminar air flow*.

Kontrol Positif dan negatif

Kloramfenikol dengan konsentrasi 1 mg/ml digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif menggunakan pelarut etil asetat.

Isolasi dan Kultur Jamur dari Teripang *Holothuroidea*

Proses isolasi, kultur, dan pemurnian jamur dilakukan mengikuti metode dari Kjer dkk. (2010) sebagai berikut: sampel telah direndam dengan larutan antibiotik (kloramfenikol) dipindahkan menggunakan Pinset ke cawan petri yang sudah berisi media PDA yang telah disiapkan sebelumnya, kemudian Bagian pinggiran dari cawan petri dibungkus menggunakan plastik untuk mencegah terjadinya kontaminasi selanjutnya sampel disimpan selama 1x24 jam di dalam lemari sampel dengan suhu ruangan 20-25°C. Kegiatan isolasi hingga kultur jamur pada penelitian ini dilakukan di ruangan yang sudah disterilisasi.

Selanjutnya dilakukan pengamatan pertumbuhan jamur, setelah 1x24 jam terlihat bahwa jamur tumbuh di sekitar sampel teripang. ditemukan berbagai *strain* jamur yang tumbuh dari satu sampel, maka dari itu perlu dilakukan pemurnian untuk mendapatkan isolat murni jamur. Kegiatan pemurnian dilakukan dalam keadaan steril di *laminar air flow* dengan cara dipotong menggunakan pisau bedah berbentuk kotak sekitar 0,5 cm² lalu dipindahkan ke media PDA baru yang telah disiapkan sebelumnya. Kegiatan ini dilakukan berulang hingga mendapatkan isolat murni.

Pembuatan Media Nasi

Media nasi dibuat dengan beras. Beras sebanyak 50 gram dimasukkan kedalam labu erlenmeyer, dan tambahkan air laut saring sebanyak 70 ml., ditutup dan dibungkus dengan *aluminium foil* kemudian dimasak dengan autoklaf pada suhu 121° C selama ± 20 menit. Setelah itu media nasi diinkubasi pada suhu ruangan selama 1x24 jam

Kultur Isolat Murni Jamur di Media Nasi

Saat miselia jamur yang dikultur pada media PDA sudah memadat, Miselia dan media agar dipotong dan dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi media nasi kemudian ditutup dengan kapas lalu dibungkus dengan Aluminium foil. Media ini

diinkubasi pada suhu ruangan selama 2 minggu.

Kultur Bakteri

Bakteri Gram negatif *E. coli* dan Gram positif *S. aureus* yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado. Bakteri yang digunakan sudah dikultur yang disimpan dalam lemari pendingin untuk menghindari kematian bakteri. Menurut Yuan dan Salminen (2009) penggunaan suhu melebihi 45-50°C akan merusak kelangsungan hidup bakteri sedangkan pada suhu rendah (4-7°C) kelangsungan hidup bakteri dapat dipertahankan.

Pengujian Antibakteri

Pada pengujian antibakteri mengikuti metode difusi agar (Kirby and Bauer) yang ada pada buku panduan "*Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*" (Hudzicki, 2009). Kultur bakteri yang telah diremajakan dalam media *Nutrient Broth* diambil sebanyak 200µL dimasukkan ke dalam media nutrient agar (NA) yang belum mengeras. Media NA berisi bakteri ini diaduk dan dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras. Ekstrak, kontrol positif dan negatif sebanyak 30 µL diteteskan pada kertas cakram dikering anginkan selama 15 menit sebelum diletakkan menggunakan pinset pada permukaan media uji dalam cawan petri. Cawan petri diinkubasi selama 1x24 jam dalam inkubator bersuhu 37° C sebelum diukur zona hambat yang terbentuk.

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi dengan mengamati adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cawan petri. Jika pada daerah sekitar cawan petri menunjukkan kepekaan terhadap bakteri uji maka dapat dinyatakan sebagai diameter zona hambat. Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan penggaris dengan cara membalik cawan petri media kombinasi dan mengukur diameter daerah jernih. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (Menggelea dkk., 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Organisme Holothuroidea

Terdapat 3 spesies teripang laut yang dikoleksi dari Pantai Molas dan diidentifikasi sebagai *Holothuria atra* (Gambar 2), dengan ciri-ciri fisik tubuh memanjang berdaging sedang dan relatif keras, warna seluruh

tubuhnya hitam. *Bohadschia argus* (Gambar 3), memiliki ciri-ciri bertubuh gemuk, berdaging tebal dan lunak dan dihiasi pola-pola bulat di bagian tubuhnya. *Holothuria Scabra* (Gambar 4) dengan ciri-ciri tubuh yang gemuk berdaging tebal, berlipat dan keras. Warna tubuh coklat abu seperti pasir dengan garis-garis hitam terputus dan tersusun melintang di permukaan dorsal.



Gambar 2. Teripang *Holothuria atra*



Gambar 4. Teripang *Holothuria scabra*



Gambar 3. Teripang *Bohadschia argus*

Hasil Isolasi dan Kultur Jamur Simbion

Bagian tubuh dari teripang dipotong secara aseptik dan diletakkan pada media PDA diinkubasi selama 3x24 jam dan terlihat tumbuhnya miselia jamur di sekitar potongan sampel teripang. Miselia ini dikultur sebanyak dua kali sehingga didapatkan isolat yang murni dari setiap sampel teripang (Gambar 5). Isolat jamur yang telah murni ini kemudian diinkubasi statis pada media nasi dalam labu Erlenmeyer selama 2 minggu (Gambar 6).



Gambar 5. Isolat jamur simbion A) isolat jamur asal teripang *B. argus*; B) *H. atra* dan C) *H. scabra*.



Gambar 6. Sampel jamur yang dikultur pada media nasi

Hasil Ekstraksi Jamur Simbion Teripang

Ekstraksi jamur simbion dari Teripang dilakukan berdasarkan metode ekstraksi pada metode (Kjer dkk., 2010) dengan beberapa modifikasi. Jamur yang sudah bertumbuh di media nasi dihancurkan dengan menggunakan pengaduk kaca, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 100 ml. Dengan 3 kali ulangan dan

disaring menggunakan kertas saring *Whatman* (Catalogue No. 1093 126). Filtrat selanjutnya diuapkan menggunakan *evaporator* dengan suhu 40° C hingga diperoleh ekstrak etil asetat. (Gambar 7). Ekstrak-ekstrak ini selanjutnya diuji aktivitasnya melawan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.



Gambar 7. Hasil Ekstrak Jamur

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil aktivitas antibakteri dapat dilihat dengan adanya zona hambat terhadap bakteri *E. coli* terlihat pada Gambar 8. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Tabel 3 memperlihatkan hasil pengamatan diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli*. Ekstrak

jamur simbion *H. atra* (H.A) memiliki rata-rata zona hambat 29,3 mm, sedangkan untuk ekstrak jamur simbion *B. argus* (B.A) memiliki rata-rata zona hambat 21,3 mm. Pada ekstrak jamur simbion *H. scbara* (H.S) memiliki rata-rata zona hambat sebesar 14,0 mm. Kontrol negatif tidak memperlihatkan adanya zona hambat



Gambar 8. Hasil pengamatan antibakteri pada media *E.coli* selama 24 jam

Tabel 1. Hasil Pengamatan antibakteri pada media *E.coli* selama 24 jam

Pengamatan 24 jam	Bakteri <i>E. coli</i>			
	Zona Hambat (mm)			rata rata
Kode Isolat	1	2	3	
H.A	22	36	30	29,3 ± 7,02
B.A	16	32	16	21,3 ± 9,23
H.S	8	18	16	14,0 ± 5,29
Kontrol positif	32	22	32	28,6 ± 5,77
Kontrol negatif	-	-	-	

Hasil Pengamatan aktivitas antibakteri pada media bakteri *S. aureus* selama 24 jam terlihat pada Gambar 9. Tabel 4 menyajikan hasil pengukuran diameter zona hambat ketiga ekstrak jamur simbion terhadap bakteri *S. aureus*. Ekstrak jamur simbion *H. atra* (H.A) memiliki rata-rata zona hambat 28,0 mm,

sedangkan untuk ekstrak jamur simbion *B.argus* (B.A) memiliki rata-rata zona hambat 20,6 mm. Pada ekstrak jamur simbion *H. scabra* (H.S) memiliki rata-rata zona hambat sebesar 14,0 mm. Kontrol negatif tidak memperlihatkan adanya zona hambat.



Gambar 9. Hasil pengamatan antibakteri pada media *S. aureus* selama 24 jam

Tabel. 2 Hasil pengamatan rata-rata antibakteri pada media *S. aureus* selama 24 jam

Pengamatan 24 jam Kode Isolat	Bakteri <i>S. Aureus</i> Zona Hambat (mm)			
	1	2	3	rata rata
H.A	32	26	26	28,0 ± 3,46
B.A	26	16	20	20,6 ± 5,03
H.S	14	14	14	14,0 ± 0,00
Kontrol positif	26	14	28	22,6 ± 7,57
Kontrol negatif	-	-	-	-

Dari hasil uji antibakteri, ekstrak jamur simbion *H. atra* terbukti memiliki daya hambat paling besar dibandingkan dengan kedua ekstrak jamur simbion lainnya bahkan lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini menjelaskan bahwa terdapat senyawa antibakteri potensial yang dimiliki jamur simbion asal teripang *H. atra*. Ekstrak jamur tersebut di atas bahkan menghambat pertumbuhan strain bakteri Gram negatif *E. coli*.

Sejauh ini pengendalian infeksi Gram negatif seringkali menjadi kendala dalam dunia kedokteran modern, hal ini diakibatkan oleh karakteristik dari bakteri strain Gram negatif memiliki dinding peptidoglikan yang cukup padat dan kompak sehingga menghambat proses internalisasi senyawa obat untuk mampu mempengaruhi mekanisme seluler dari bakteri. Struktur dinding sel dari bakteri Gram negatif lebih kompak dan padat dan

terdiri atas 3 lapisan salah satunya yaitu peptidoglikan (Posangi dan Bara, 2014; Bara et al., 2015). Menurut Schlegel dan Schmidt (1994) bahwa banyak faktor yang dapat mempengaruhi ukuran daerah penghambatan yaitu sensitivitas organisme, medium kultur, kondisi inkubasi (suhu, waktu dan pH), kecepatan zat berdifusi dalam agar, konsentrasi mikroorganisme, dan komposisi media. Hal ini sesuai dengan pendapat Prescott (2005) bahwa ukuran dari zona hambat dipengaruhi oleh tingkat sensitivitas dari organisme uji, medium kultur dan kondisi inkubasi, kecepatan difusi dari senyawa antibakteri dan konsentrasi senyawa antibakteri. Zona hambat yang kecil menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang lebih rendah, sedangkan zona hambat yang besar menunjukkan semakin besar aktivitas antibakterinya (Pelczar dan Chan, 2005).

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan disimpulkan sebagai berikut :

1. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri jamur simbion teripang *H. atra*, *B. argus* dan *H. scabra*, memperlihatkan aktivitas hambat bakteri terhadap kedua strain bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Ekstrak jamur simbion *H. atra* memiliki daya hambat paling besar dibandingkan dengan kedua ekstrak jamur simbion lainnya dan melebihi kontrol positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Bara R., A. G. D. Kandou Ola., J. Posangi, 2015. Analisis Senyawa Antibiotik dari Jamur Simbion yang Terdapat Dalam Ascidiens *Didemnum molle* di Sekitar Perairan Bunaken Sulawesi Utara. Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi, 2(2):7-8.

- Gunawan I. W. G., I. G. A. G. Bawa dan N. L. Sutrisnayanti, 2008, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.), Jurnal Kimia, 2(1) : 31-39.
- Hudzicki J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. American Society For Microbiology. 23 hal.
- Husain G., J. F. W. S. Tamanampo, & Manu G. D, 2017. Struktur Komunitas Teripang (Holothuroidea) Di Kawasan Pantai Pulau Nyaregilaguramangofa Kec. Jailolo Selatan Kab. Halmahera Barat Maluku Utara. Jurnal Ilmiah Platax, 5(2): 5–32.
- Lenny S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. Karya Ilmiah. Universitas Sumatera Utara. 25 hal.
- Levy S. B., B Marshall. 2004, Antibiotic Resistance Worldwide: Causes, Challenges and Responses, Nature Medicine Supplement, 8 hal.
- Kemenkes 2017. Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Infeksi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan. 172 hal.
- Kjer J., A Debbab., A. H. Aly., dan P Proksch. 2010. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. Nature Protocol, 5(3): 479–490.
- Mangindaan R. E. P., & F Losung. 2013. Aktivitas Hemolitik Teripang (*Bohadschia graeffei*) Dari Pantai Malalayang, Sulawesi Utara Pada Beberapa Suhu dan pH. Urnal Ilmiah Sains, 3 (1):27-32.
- Martoyo J., Aji N. dan T Winanto. 2007. Budidaya Teripang. Penebar Swadaya. Jakarta. 76 hal.
- Menggelea F. P., J Posangi., M. P Wowor., dan R. Bara. 2015. Uji Efek Antibakteri Jamur Endosimbion Spons Laut *Callyspongia* sp. Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Jurnal E-Biomedik, 3(1). 376-380.
- Nimah S., W., dan A. Trianto. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Dan *Bacillus Cereus*. Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 1(1): 9–17 hal.
- Posangi J dan R. A. Bara 2014. Analisis Aktivitas Dari Jamur Endofit Yang Terdapat Dalam Tumbuhan Bakau *Avicennia marina* di Tasik Ria Minahasa. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis, 1(1):6-7
- Pranoto E. N., U Diponegoro., Pringgenies D., dan Diponegoro U. 2012. Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Jamur *Candida albicans*. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 1(1):1-8.
- Rasyid A. 2008. Biota laut sebagai sumber obat-obatan, Oseana, 33(1): 11-18.
- Romimohtarto K dan Juwana S. 2005. Biologi Laut. Ilmu Pengetahuan Tentang Bioata Laut. Djambatan. Jakarta. 473-483 hal
- Schlegel H. G., dan K. Schmidt. 1994. Mikrobiologi Umum. Terjemahan : R.M. Tedjo dan Baskoro. Penerbit UGM Press, Yogyakarta. 615-627 hal
- Serrano P. H. 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 110 hal.
- Setyastuti A., Wirawati I., S Permadi dan I. B. Vimono 2019. Teripang Indonesia: Jenis, Sebaran dan Status Nilai Ekonomi. PT. Media Sains Nasional, i-viii. 76pp.
- Yuan K. L., dan S. Salminen. 2009. Handbook of Probiotics and Prebiotics

Second Edition A John Wiley & Sons
Inc All rights reserved Published by
John Wiley & sons, Inc., Hoboken,

New Jersey Published
Simultaneously in Canada, 616 hal.