

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAN FRAKSI TUNIKATA  
(*Polycarpa aurata*) YANG DIKOLEKSI DI SELAT LEMBEH, BITUNG  
TERHADAP *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* DAN *Candida  
albicans***

**Cinlye Juen Manoppo<sup>1)</sup>, Adithya Yudistira<sup>1)</sup>, Defny Silvia Wewengkang<sup>1)</sup>**  
<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT, MANADO

**ABSTRACT**

*Tunicate is an invertebrate that lives in a coral reef ecosystem and produces many compounds such as, antibacterial, antitumor and anticancer. This study aimed to determine the antimicrobial activity of extracts and fraction of tunicate (*Polycarpa aurata*) collected in the Lembeh Strait, Bitung against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Tunicate (*Polycarpa aurata*) was extracted by maceration method using 96% ethanol solvent, fractination using liquid-liquid partition method with n-hexane, chloroform and methanol solvent, and antimicrobial testing using Kirby Bauer's disk diffusion method. The results showed that ethanol extract of tunicate (*Polycarpa aurata*) had antimicrobial activity againts *Escherichia coli* with an inhibition of 15.12 mm, and againts *Candida albicans* with an inhibition of 15 mm. While the methanol fraction showed antimicrobial with a strong category and inhibition of 16.17 mm againts *Staphylococcus aureus*.*

**Keyword:** *Tunicate (Polycarpa aurata), Extraction, Fractination, Antimicrobials*

**ABSTRAK**

Tunikata merupakan invertebrata di ekosistem terumbu karang yang banyak menghasilkan senyawa seperti, antibakteri, antitumor dan antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi tunikata (*Polycarpa aurata*) yang dikoleksi di Selat lembeh, Bitung terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Tunikata (*Polycarpa aurata*) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, fraksinasi menggunakan metode partisi dengan pelarut n-heksan, kloroform dan metanol, dan pengujian antimikroba menggunakan metode difusi agar Kirby Bauer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol tunikata (*Polycarpa aurata*) memiliki aktivitas antimikroba kategori kuat pada fraksi metanol dengan daya hambat sebesar 16, 17 mm terhadap *Escherichia coli*, pada ekstrak etanol dengan daya hambat sebesar 15, 12 mm terhadap *Staphylococcus aureus* sedangkan pada *Candida albicans* aktivitas yang sangat baik terjadi pada ekstraksi etanol sebesar 15 mm.

**Kata Kunci:** *Tunikata (Polycarpa aurata), Ekstraksi dan Fraksinasi, Antimikroba*

## PENDAHULUAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa organisme laut memiliki potensi yang sangat besar, dalam menghasilkan senyawa-senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan. Beberapa organisme laut yang diketahui dapat menghasilkan senyawa aktif antara lain ialah spons, moluska, bryozoa, tunikata dan lain-lain (Radjasa *et al.*, 2011; Mans, 2016). Invertebrata laut menyediakan nutrient yang baik bagi berbagai mikroba (Erwin *et al.*, 2014).

Tunikata merupakan invertebrata di ekosistem terumbu karang yang banyak menghasilkan senyawa seperti, antibakteri, antitumor dan antikanker. Sekitar 1.000 bahan aktif telah diisolasi dari tunikata (Schmidt and Donia 2010). Salah satu komponen terumbu karang yang hidupnya sesil di terumbu, substrat dan batu adalah tunikata (*Polycarpa aurata*) (Lambert, 2010).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Pham *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa hasil ekstraksi tunikata (*Polycarpa aurata*) mengandung senyawa kimia berupa peptida dan golongan alkaloid yang bersifat sitotoksik dan memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen. Penelitian yang dilakukan oleh Christine (2015) dan Litaay *dkk.*, (2015) menunjukkan bahwa isolat bakteri yang berasal dari tunikata (*Polycarpa aurata*) berpotensi menghasilkan senyawa antibakteri berifat bakteriosidal maupun bersifat bakteriostatik.

## METODOLOGI PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *scuba diving* (Peralatan Selam),

ziplok, gunting, sarung tangan, botol air kemasan 600 mL, pisau, telenan, corong pisah, corong gelas, wadah kaca, erlenmeyer, gelas ukur (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), tabung reaksi, rak tabung reaksi, *micro tubes*, cawan petri, timbangan analitik, *vortex* (Benchmark), spatula, oven, pinset, batang pengaduk, pembakar spiritus, pipet tetes, jarum ose, vial, lemari pendingin, *incubator incubell* (N-Biotek), *laminary air flow* (Clean Bench), autoklaf (autoklaf KT-30s), mikropipet, jangka sorong, *digital caliper*, jas laboratorium dan kamera. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Tunikata *Polycarpa aurata*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, aquades, etanol, n-heksan, kloroform, metanol, pepton, ekstrak daging (*meat extract*), natrium klorida, *nutrient agar*, kloramfenikol (*paper disc*), kertas label, spidol permanen, kertas saring, kapas, *aluminium foil* dan *tissue*.

### Prosedur Penelitian Pembuatan Ekstrak

Ekstrak tunikata (*Polycarpa aurata*) 530 g dibuat dengan cara maserasi sebanyak 3 kali. Sampel yang sudah dipotong kecil-kecil dimasukkan kedalam botol lalu direndam dengan larutan etanol 96% selama 1x24 jam. Kemudian sampel disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 kemudian ditambah dengan larutan etanol lalu ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 1x24 jam, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Debris 2 kemudian ditambah dengan larutan etanol lalu ditutup dengan *aluminium foil* selama 1x24 jam, sampel tersebut di lalu disaring menggunakan

kertas saring menghasilkan filtrat 3 dan debris 3. Filtrat 1, 2, dan 3 dicampur menjadi satu kemudian disaring, lalu diuapkan menggunakan oven hingga diperoleh ekstrak kental etanol.

### Pembuatan Fraksi

Ekstrak kental etanol tunikata (*Polycarpa aurata*) sebanyak 1,00 g dimasukkan dalam Erlenmeyer, dilarutkan dengan campuran metanol : air (MeOH : H<sub>2</sub>O) (80:20) sebanyak 100 mL. Setelah sampel larut, dimasukkan kedalam corong pisah lalu ditambahkan pelarut n-heksan dengan jumlah yang sama, setelah itu dikocok berulang kali sampai homogen. Dibiarkan sampel sampai terbentuk lapisan metanol : air (MeOH : H<sub>2</sub>O) dan n-heksan. Masing – masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan n- heksan dievaporasi menggunakan *Oven* hingga kering, lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksi n-heksan 0,1 g.

Lapisan MeOH : H<sub>2</sub>O ditambahkan akuades sebanyak 100 mL dipartisi dengan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1 v/v dalam corong pisah, lalu dikocok berulang kali sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan MeOH dan kloroform. Masing – masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform dievaporasi menggunakan *Oven* hingga kering lalu ditimbang dan diperoleh fraksi kloroform 0,28 g. Lapisan MeOH yang ditampung pada wadah yang lain dievaporasi menggunakan *Oven* hingga kering lalu ditimbang berat sampel, dan diperoleh fraksi MeOH 0,51 g. Rendemen-rendemen fraksi dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat hasil ekstrak}}{\text{Berat ekstraksi awal}} \times 100\%$$

### Pembuatan Media Cair B1

Ditimbang Pepton 0,5 g, ekstrak daging 0,3 g (*meat extract*) , Natrium klorida 0,3 g dilarutkan dalam akuades sebanyak 100 mL menggunakan Erlenmeyer, dikocok sampai homogen. Media yang telah homogen kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Dipipet 1 mL media cair B1, kemudian masukkan dalam tabung reaksi dan tutup dengan *aluminium foil*. Media cair B1 siap digunakan sebagai media kultur mikroba (Ortez, 2005).

### Kultur Mikroba

Mikroba yang sudah dikultur (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*) ditambahkan media cair B1 yang disiapkan sebelumnya sebanyak 100 µL kedalam tabung reaksi yang berbeda – beda. Masing – masing tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan kedalam incubator selama 1x24 jam dengan suhu 37 °C.

### Pembuatan Media Agar B1

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, agar 1,5 g dan dilarutkan dalam akuades sebanyak 100 mL menggunakan Erlenmeyer, dikocok sampai homogen. Media yang telah homogen kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media agar B1 siap digunakan untuk uji aktivitas antimikroba.

### Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif dalam pengujian antimikroba ini menggunakan *kloramfenikol paper disc*. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu

menggunakan pelarut methanol, dengan cara membuat larutan stok metanol dengan mengambil sebanyak 200 µL metanol kemudian ditotolkan pada kertas cakram.

### **Pembuatan Larutan Uji**

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan ekstrak etanol tunikata (*Polycarpa aurata*) sebanyak 1 mg kedalam 200 µL metanol sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebanyak 250 µg/50 µL. Perlakuan yang sama dilakukan untuk fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol (Ortez,2005).

### **Pengujian Aktivitas Antimikroba**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Aktivitas ini diuji pada mikroorganisme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Pada pengujian aktivitas antibakteri ini, kertas cakram (*paper disc*) yang digunakan berukuran 6 mm dengan daya serap 50µL tiap cakram. Konsentrasi yang digunakan pada pengujian ini hanya satu konsentrasi yaitu 250µg/50µL pada setiap sampel yang terdiri dari ekstrak kental, fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi metanol-air, kontrol positif dan kontrol negatif. Sampel yang telah ditentukan konsentrasinya 250µg/50µL ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet.

Untuk media agar B1 yang sudah diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian dinginkan sampai suhu 40 °C. Tuangkan media agar ke cawan petri, Ambil sebanyak 100µL mikroba yang telah di kultur dalam tabung reaksi, dipipet dan diinokulasi pada media agar dan tunggu sampai media agar mengeras.

Masing-masing cawan petri diberi label dan nomor sampel yang sesuai. Letakkan kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji tunikata (*Polycarpa aurata*). Cawan petri lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37 °C (Ortez, 2005).

### **Pengamatan dan Pengukuran Zona Bening**

Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terjadi pada media dengan menggunakan jangka sorong beralaskan kertas berwarna gelap. Diameter zona hambat yang diukur yaitu daerah jernih yang terbentuk disekitar disk/cakram (tidak ada pertumbuhan bakteri) diukur dari ujung yang satu ke ujung yang lain melalui tengah-tengah disk/cakram atau diukur diameter vertikal dan horizontalnya (Soemarno,2000). Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan mistar berskala (Davis and Stoud, 1971) dengan sedikit modifikasi.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Ekstrak tunikata (*Polycarpa aurata*)**

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi terdiri dari beberapa metode di antaranya yaitu metode maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang sering digunakan (Mukhriani, 2014). Proses maserasi ini dilakukan dengan cara merendam sampel tunikata (*Polycarpa aurata*) sebanyak 3x24 jam dengan menggunakan larutan etanol 96%. Sebelum maserasi dilakukan, sampel di bersihkan dari kotoran dan dipotong kecil-kecil. Pematangan sampel dilakukan untuk memperluas permukaan sentuh sampel, karena luas permukaan berpengaruh terhadap hasil yang optimal dari proses

maserasi. Semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya sehingga memudahkan senyawa aktif yang ada pada tunikata (*Polycarpa aurata*) dapat larut ke dalam pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut etanol 96%. Menurut Trifani (2012), etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar, universal, dan mudah didapat.

#### **Fraksi tunikata (*Polycarpa aurata*)**

Fraksinasi adalah proses penarikan suatu senyawa dengan menggunakan beberapa pelarut yang tidak saling

bercampur. Senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang nonpolar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar (Sari, 2012). Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi yaitu n-heksan, kloroform, dan metanol. Pelarut n-heksan digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat non polar, pelarut kloroform digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat semi polar sedangkan pelarut metanol digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar.

Tabel 2. Rendemen ekstrak dan fraksi tunikata (*Polycarpa aurata*)

No	Sampel	Rendemen (%)	Warna Sampel
1	Ekstrak Etanol	0,47	Coklat kemerahan
2	Fraksi n-Heksan	10	Bening
3	Fraksi Kloroform	2,8	Coklat Pekat
4	Fraksi Metanol	5,1	Kuning Kecoklatan

Menurut Nuhayati *et al.*, (2009) bahwa nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung didalamnya. Nilai rendemen yang paling tinggi adalah rendemen yang menggunakan pelarut metanol, sehingga memungkinkan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung dalam tunikata (*Polycarpa aurata*) lebih bersifat polar. Jenis pelarut menghasilkan rendemen yang berbeda karena Semakin tinggi rendemen yang dihasilkan maka semakin tinggi pula komponen bioaktif yang terkandung dalam tunikata (*Polycarpa aurata*).

#### **Aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi tunikata (*Polycarpa aurata*)**

Uji aktivitas antimikroba ekstrak dan Fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol tunikata (*Polycarpa aurata*) terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dengan metode difusi agar (Difusi Kirby-Bauer) yang telah dimodifikasi. Berikut adalah hasil pengukuran aktivitas antimikroba ekstrak dan Fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol tunikata (*Polycarpa aurata*) terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak dan fraksi tunikata (*Polycarpa aurata*) terhadap *Escherichia coli*.

Ulangan	Diameter zona hambat (mm) terhadap <i>Escherichia coli</i>					
	Ekstrak EtOH	Fraksi n-Heksan	Fraksi CHCl <sub>3</sub>	Fraksi MeOH	Kontrol (+)	Kontrol (-)
I	13,53	-	9,54	16,94		
II	13,10	-	10,10	15,78		
III	12,39	-	7,44	15,78	29,77	-
<b>Total</b>	39,02	-	27,08	48,50		
$\bar{X}$	13,70	-	9,03	16,17		

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak dan fraksi tunikata (*Polycarpa aurata*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

Ulangan	Diameter zona hambat (mm) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>					
	Ekstrak EtOH	Fraksi n-Heksan	Fraksi CHCl <sub>3</sub>	Fraksi MeOH	Kontrol (+)	Kontrol (-)
I	14,06	-	11,17	10,53		
II	15,06	-	11,76	14,28		
III	16,25	-	11,27	10,70	18,06	-
<b>Total</b>	45,37	-	34,20	35,51		
$\bar{X}$	15,12	-	11,40	11,83		

Tabel 5. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak dan fraksi tunikata (*Polycarpa aurata*) terhadap *Candida albicans*.

Ulangan	Diameter zona hambat (mm) terhadap <i>Candida albicans</i>					
	Ekstrak EtOH	Fraksi n-Heksan	Fraksi CHCl <sub>3</sub>	Fraksi MeOH	Kontrol (+)	Kontrol (-)
I	15	-	8	12		
II	15	-	8	12		
III	15	-	8	12	19	-
<b>Total</b>	45	-	24	36		
$\bar{X}$	15	-	8	12		

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan terhadap mikroba *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* masing-masing sebanyak tiga kali pengulangan

memperlihatkan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar disk/cakram kecuali pada fraksi n-heksan. Pada fraksi n-heksan tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikroba yang terbentuk, ini berarti

tidak ada kandungan senyawa antimikroba yang bersifat non polar pada sampel uji tunikata (*Polycarpa aurata*), sedangkan pada ekstrak etanol memperlihatkan adanya aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar cakram sebesar 13,70 mm pada *Escherichia coli* tergolong kuat, 15,12 mm pada *Staphylococcus aureus* tergolong kuat dan 15 mm pada *Candida albicans* tergolong kuat. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi metanol memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Pada fraksi metanol memperlihatkan aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* yang tergolong kuat. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar cakram sebesar 16,17 mm pada *Escherichia coli*, 11,83 mm pada *Staphylococcus aureus* dan 12 mm pada *Candida albicans*. Jika dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi metanol, fraksi kloroform memperlihatkan daya hambat yang lebih rendah. Hal ini ditunjukkan dengan aktivitas antimikroba sebesar 9,03 mm pada *Escherichia coli* tergolong sedang, 11,40 mm pada *Staphylococcus aureus* tergolong kuat dan 8 mm pada *Candida albicans* tergolong sedang.

Hasil pengukuran diameter zona hambat digolongkan berdasarkan klasifikasi zona hambat menurut Davis and Stout (Tabel 1). Ekstrak etanol dan fraksi metanol merupakan ekstrak dan fraksi yang efektif terhadap mikroba *Escherichia coli* dan *Candida albicans* karena memiliki daya hambat mikroba yang kuat, hal ini dikarenakan gram negatif cenderung peka terhadap

antimikroba yang bersifat polar. sedangkan pada ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi metanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan menghambat mikroba dengan kategori kuat. Hal ini menerangkan bahwa bakteri gram positif lebih peka dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Penelitian mengenai aktivitas antibakteri dan karakteristik gugus fungsi dari tunikata (*Polycarpa aurata*) yang dilakukan oleh Kumayas dkk., (2015) menyatakan bahwa gram positif lebih sensitif terhadap antibakteri karena struktur dinding sel yang sederhana sehingga mempermudah senyawa antibakteri masuk kedalam sel sedangkan struktur dinding sel gram negatif lebih kompleks.

Kontrol positif memperlihatkan aktivitas antimikroba yang paling besar terhadap mikroba *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Kontrol positif yang digunakan yaitu Kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki spektrum luas terhadap bakteri (Katzung, 2004). Kontrol negatif tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat. Hal tersebut menandakan bahwa tidak ada pengaruh kontrol negatif terhadap antimikroba yang diuji. Kontrol negatif yang digunakan yaitu metanol.

Aktivitas antikiroba yang terbentuk disekitar disk/cakram ini disebabkan oleh aktivitas senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi Tunikata (*Polycarpa aurata*). Semakin besar zona hambat yang terbentuk maka semakin kuat senyawa yang terkandung dalam tunikata (*Polycarpa aurata*) untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

## DAFTAR PUSTAKA

- Christine, G. 2015. Potensi Tunikata *Polycarpa aurata* Sebagai Sumber Inokulum Bakteri *Endosymbion* Penghasil Antibakteri. [Skripsi]. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Davis, W.W and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. **22(4)**: 659-665.
- Erwin, P. M., M. C. Pineda, N.Webster, X.Truson, S. López-Legentil. 2014. Down under the tunic: bacterial biodiversity hotspots and widespread ammoniaoxidizing archaea in coral reef ascidians. *ISME J*. **8**: 575-588.
- Katzung, B. G.,. 2004. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi XIII. Buku 3. *Translation of Basic and Clinical Pharmacology Eight Edition*. Alih Bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika, Jakarta.
- Kumayas, A.R., D. S. Wewengkang., dan S. Sudewi. 2015. Aktifitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata *Polycarpa Aurata*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. **4(1)**.
- Lambert, G., Shenkar, N., & Swalla, B.,J. 2010. First Pacific record of the north Atlantic ascidian *Molgula citrina*–bioinvasion or circumpolar distribution. *Aquatic Invasions*. **5(4)**: 369-378.
- Litaay, M, G. Christine, R.G. B, Z.Dwyana. 2015. Bioaktivitas simbion tunikata *Polycarpa aurata* sebagai antimikroba. Prosiding Semnas PBI ke 23. Jayapura, September 2015.
- Mans, D.R.A. 2016. Exploring the global animal biodiversity in the search for new drugs - marine invertebrates. *J Transl Sci*. **2(3)**: 170-179. doi: 10.15761/ JTS. 1000136.
- Muhkriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Makassar: *Jurnal Kesehatan*. **7 (2)** : 361-7
- Nurhayati, T, D. Aryanti, dan Nurjanah. 2009. Kajian Awal Potensi Ekstrak Spons Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional*. **2(2)**:43-51.
- Ortez, J.H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology.
- Pham, C. D., H., Weber, R., Hartmann, V., Wray, W., Lin, D., Lai, and P. Proksch. 2013. New Cytotoxic 1,2,4-Thiadiazole Alkaloids from the Tunikata *P. aurata*. *Org. Lett*. **15 (9)**:2230-2233. <http://www.pubfacts.com>.
- Radjasa, O.K., Y.M. Vaske, G. Navarro, H.C. Vervoort, K.Tenney, R.G. Linington, P. Crews. 2011. Highlights of marine invertebrate-derived biosynthetic products: Their biomedical potential and possible production by microbial

- associants. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **19**: 6658–6674.
- Sari, Cahyo IP. 2012. Kualitas Minuman Serbuk Kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan Variasi Konsentrasi Maltodekstrin dan Ekstraksi Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*). *SKRIPSI*. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta.
- Schmidt, E. W and M. S. Donia. 2010. Life in cellulose houses: Symbiotic bacterial biosynthesis of ascidian drugs and drug leads. *Curr. Opin. Biotechnol.* **21**: 827-833.
- Soemarno. 2000. Depertemen Kesehatan Republik Indonesia Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Klinik. Akademi Analisis Kesehatan Yogyakarta.. Yogyakarta.
- Trifani. 2012. Ekstraksi Pelarut Cair-Cair. <http://awjee>. Diakses pada tanggal 10 Oktober 2018.