



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ascidian *Lissoclinum patella* Yang Diperoleh Dari Perairan Pantai Desa Parentek, Kecamatan Lembean Timur, Kabupaten Minahasa

Hilda Nona Stefani Kiwol^{1*}, Defny S. Wewengkang², Erladys Rumondor³

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi

*Corresponding author email: christianasigarlaki@gmail.com

INFORMASI ARTIKEL

Diterima pada 6 Juni 2024
Disetujui pada 15 September 2024
Dipublikasikan pada 31 Oktober 2024
Hal. 752 - 760

ABSTRACT

*Ascidians are a class of marine tunicates that are included in marine invertebrate organisms. Tunicates (Ascidian) are animals included in the subphylum Urochordata, which have a small bag-like body shape and generally live in marine waters. The body of this animal is covered by a coat (tunic) formed from protein and polysaccharide compounds. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of ascidian *Lissoclinum patella* against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Extraction uses maceration method to extract active compounds from ascidian *Lissoclinum patella*. The results of the extract were tested whether there was antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria, the test used the Kirby-Bauer agar diffusion method. The results of the test showed antibacterial activity with a marked inhibition zone around the disc paper of the extract test solution on *Staphylococcus aureus* bacteria with a medium inhibition zone diameter of 7.6 mm and *Escherichia coli* bacteria with a medium inhibition zone diameter of 6.3 mm.*

Keywords: Antibacterial, Extraction, *Lissoclinum patella*, *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRAK

Ascidian adalah golongan tunikata laut yang termasuk dalam organisme invertebrata laut. Tunikata (Ascidian) merupakan hewan yang termasuk dalam subfilum Urochordata, yang memiliki bentuk tubuh seperti kantong berukuran kecil dan umumnya hidup di perairan laut. Tubuh hewan ini ditutupi oleh mantel (tunic) yang terbentuk dari senyawa protein dan polisakarida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol ascidian *Lissoclinum patella* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstraksi menggunakan metode maserasi untuk mengekstrak senyawa aktif dari ascidian *Lissoclinum patella*. Hasil ekstrak diuji apakah terdapat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, pengujian tersebut menggunakan metode difusi agar Kirby-Bauer. Hasil dari pengujian terdapat aktivitas antibakteri dengan ditandai zona hambat disekitar kertas cakram larutan uji ekstrak pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sedang sebesar 7,6 mm dan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sedang sebesar 6,3 mm.

Kata Kunci: Antibakteri, Ekstraksi, *Lissoclinum patella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

DOI: 10.35799/pha.13.2024.55990

PENDAHULUAN

Laut Indonesia memiliki banyak sumber daya alam termasuk banyaknya keanekaragaman jenis biota laut (Nofiani, 2008). Keanekaragaman ini memberi peluang untuk memanfaatkan biota laut sebagai sumber pengobatan. Menurut Rasyid (2008) pemanfaatan potensi ini dalam hal pengobatan belum optimal, padahal, potensi yang sangat besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa aktif berasal dari organisme laut. Organisme yang dijumpai di dalam lautan memiliki bentuk yang sangat bervariasi. Selain bentuk yang bervariasi, didapati juga adanya interaksi atau hubungan yang terjadi diantara organisme dengan spesies yang berbeda di dalam lautan. Hubungan antar organisme tersebut nampaknya tidak saling merugikan satu dengan yang lain, bahkan berguna untuk satu atau keduanya (Nybakken, 1992).

Lissoclinum patella adalah salah satu spesies ascidian yang mempunyai mikroba di dalam tubuhnya. Penelitian Lewin and Cheng (1989) memberikan informasi awal terhadap keberadaan mikroba di dalam ascidian *L. patella* yakni prokariot fotosintetik yang dinamakan *Prochloron*. Keadaan lingkungan dalam tubuh ascidian yang unik (Behrendt et al., 2012) memungkinkan tidak hanya satu mikroba saja yang dapat hidup dan tinggal di dalamnya. Ascidian *L. patella* sebagai tempat tinggal dan berlindung (Hirose & Maruyama, 2004) memberikan kontribusi bagi mikroba untuk dapat hidup dan memproduksi senyawa-senyawa bermanfaat khususnya untuk keberlangsungan hidup dari ascidian *L. patella* sendiri. Penelitian Donia et al (2006) menunjukkan bahwa mikroba yang diisolasi dari dalam ascidian *L. patella* dapat menghasilkan suatu senyawa yang dinamakan *patellamide*. Menurut Schmidt et al. (2005), *patellamide* adalah produk yang dapat digunakan dalam bidang kesehatan.

Bakteri patogen merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Penggunaan antibiotik yang salah dan dosis yang berlebihan dapat menyebabkan resistensi bakteri. Resistensi pada bakteri membuat bakteri lebih sulit dihambat, sehingga diperlukan senyawa antibakteri alternatif dari karang lunak yang berasal dari alam (Gunawan, 2007). Antibakteri merupakan zat yang memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri patogen dan menghentikan perkembangan bakteri (Paju et al., 2013). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang menyebabkan infeksi seperti abses atau bisul nanah dan malaria (Salim, 2016). Bakteri gram negatif *Escherichia coli* umumnya menyebabkan masalah pada saluran pencernaan, biasanya diare, tetapi infeksi yang parah dapat menyebabkan pendarahan usus (Sitepu et al., 2020).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu snorkel, fins, masker, tabung oksigen, sarung tangan, kamera, gunting, pisau, zipper bag, cool box, botol, talenan, spidol permanen, kertas label, timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, gelas kimia pyrex. erlenmeyer pyrex, gelas ukur, batang pengaduk, corong, corong pisah, mikropipet, cawan petri, mistar berskala, pinset, micro tubes, pembakar spiritus, kertas cakram (paper disc), vortex mixer, laminar air flow, autoklaf, inkubator, lemari pendingin, digital caliper, rotary evaporator.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu antara lain ekstrak *Lissoclinum patella*, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, akuades, etanol, metanol, kloramfenikol paper disc, tissue, kertas saring, aluminiumfoil, pepton, natrium klorida, ekstrak daging (beef extract), agar.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel ascidian *Lissoclinum patella* yang telah diambil tadi, dikeluarkan dari dalam cool box lalu dicuci dan dipotong sampai menjadi bagian-bagian kecil. Sampel yang telah dipotong, dimasukkan ke dalam botol berukuran 600 ml lalu ditimbang berat keseluruhan dan berat botol. Setelah itu dilakukan maserasi dengan etanol 95% sebanyak 200 ml.

Ekstraksi

Sampel *Lissoclinum patella* diekstraksi menggunakan cara dingin yaitu maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara sampel yang berada dalam botol dituangkan pelarut etanol 95% sebanyak 200 mL, lalu dikocok dan direndam selama 1 × 24 jam. Perendaman dilakukan berulang selama tiga hari. Setelah perendaman pertama sampel disaring dan menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 kemudian di rendam kembali menggunakan perlaru etanol 95% yang baru sampai sampel terendam semuanya, kemudian dikocok-kocok dan kembali di remaserasi selama 1 × 24 jam. Dilakukan pengulangan sampai mendapatkan filtrat 3 dan debris 3. Kemudian dicampur filtrat 1, 2, dan 3 ke dalam satu wadah untuk selanjutnya akan dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga memperoleh ekstrak kasar *Lissoclinum patella*. Ekstrak kasar yang didapat ditimbang menggunakan timbangan analitik. Setelah penimbangan ekstrak kasar siap digunakan untuk pengujian antibakteri.

Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Cakram yang digunakan berukuran 6 mm dengan daya serap 50 µL tiap cakram. Bakteri yang telah dikultur masing-masing dipipet sebanyak 3 ml dan diinokulasi pada media agar lalu media agar yang telah diinokulasikan bakteri dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 35 ml kemudian ditunggu sampai media mengeras. Setelah media agar telah mengeras, kertas cakram yang telah ditotolkan larutan uji ekstrak *Lissoclinum patella*, kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan ke dalam cawan petri yang berisi media agar tadi dengan menggunakan pinset steril. Setelah itu, cawan petri diberi label nama kedua bakteri dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1×24 Jam (Ortez, 2005).

Pengamatan Zona Hambat

Pengamatan dan pengukuran pada media uji dapat dilakukan setelah melewati masa inkubasi selama 1×24 jam. Daerah atau zona bening yang terbentuk pada sekitaran cakram uji menunjukkan sensitivitas atau kepekaan bakteri terhadap kontrol positif atau larutan uji ekstrak *Lissoclinum patella* yang dinyatakan dengan diameter zona bening. Setelah melakukan pengamatan dilakukan pengukuran pada setiap zona bening yang terbentuk. pengukuran diameter ini menggunakan mistar berskala. Hasil yang diameter yang di dapatkan kemudian dibandingkan dengan landasan kategori yang telah dipilih untuk digunakan yaitu kategori Davis and Stout yaitu daya hambat lemah dengan diameter < 5 mm, daya hambat sedang dengan diameter 6-10 mm. daya hambat kuat dengan diameter 11-20 mm dan daya hambat sangat kuat dengan diameter >21 mm (Davis dan Stout 1971; Susanto et al., 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi *Lissoclinum patella*

Berikut adalah hasil perhitungan ekstraksi sampel *Lissoclinum patella* menggunakan etanol 95% :

Tabel 1. Hasil Ekstraksi *Lissoclinum patella*

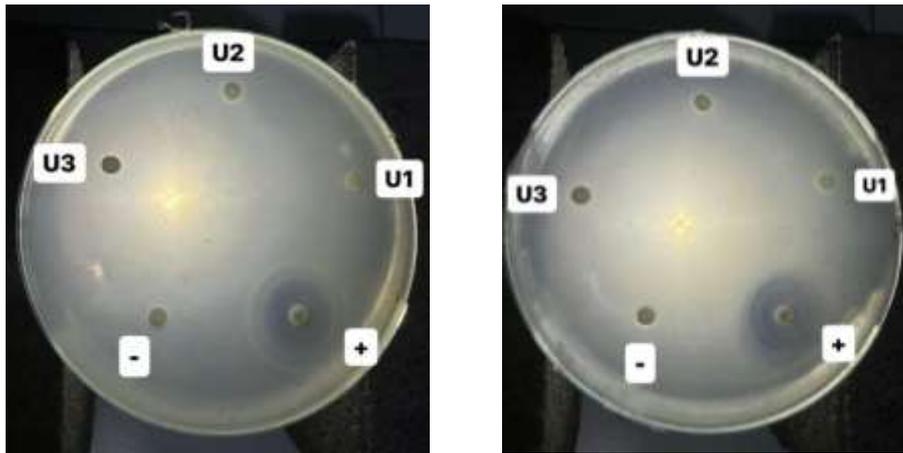
Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Warna
200	3,26	1,63	Coklat Kehitaman

Ekstraksi adalah proses untuk mendapatkan ekstrak dari sampel tujuan dilakukan ekstraksi adalah untuk mengeluarkan zat aktif yang ada didalam sampel dengan menggunakan pelarut. Terdapat dua cara dalam proses ekstraksi yaitu cara panas dan cara dingin. Pada penelitian ini digunakan cara dingin yaitu maserasi, cara dingin lebih menguntungkan karena senyawa-senyawa kimia dalam sampel dapat lebih terlindungi dibandingkan cara panas yang berkemungkinan akan merusak senyawa-senyawa kimia dalam sampel (Sembiring, 2007). Maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Pada proses ekstraksi *Lissoclinum patella* dari perairan pantai Desa Parentek, Kabupaten Minahasa dipotong menjadi bagian-bagian kecil, pemotongan sampel ini berfungsi untuk memperluas permukaan sehingga kecepatan pelarut menarik senyawa di dalam sel lebih cepat atau terjadinya pelarutan senyawa yaitu pemecahan dinding sel sehingga senyawa yang di dalamnya terlarut dengan pelarut (Suryanto, 2012). Sel yang masih dalam konsentrasi air (air laut H₂O + NaCl + Pelarut berkonsentrasi tinggi (etanol) sehingga terjadi perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel, konsentrasi di luar lebih tinggi dibandingkan di dalam sel menyebabkan tekanan yang membuat dinding sel rusak atau hancur. Hal tersebut dilihat dari indikatornya yaitu perubahan warna pada pelarut karena senyawa-senyawa di dalam sel keluar menyatu dengan pelarut. Digunakan pelarut etanol 95% dikarenakan pelarut ini mampu menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar dan non polar serta tidak bersifat toksik dan ekonomis. Maserasi dilakukan selama 3×24 jam Tiap 24 jam ekstrak disaring dan di maserasi kembali atau remaserasi hingga larutan sampel terlihat agak bening.

Hasil ekstrak setelah proses maserasi dilanjutkan dengan proses evaporasi. Evaporasi dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Tujuan dilakukan evaporasi untuk menguapkan sisa air dan pelarut agar didapatkan ekstrak yang kental atau pekat dengan konsentrasi lebih tinggi. Terjadinya pemekatan larutan karena adanya perbedaan titik didih yang sangat besar antara zat terlarut dan zat pelarut di mana zat terlarut memiliki titik didih yang lebih tinggi dibandingkan zat pelarut. Prinsip kerja *rotary evaporator* dengan mengubah energi listrik menjadi energi gesek dan energi panas. Energi panas disalurkan melalui chamber waterbath sebesar 40°C untuk memanaskan labu erlenmeyer, energi gerak untuk merotasi labu erlenmeyer agar berputar kemudian vakum akan menurunkan titik didih (Hamdani, 2009). Proses ini akan membuat larutan menguap karena panas lalu keluar ke kondensor kemudian didinginkan dan uap pelarut yang dingin akan ditampung ke labu penampung. Digunakan suhu 40°C karena merupakan suhu optimal untuk menjaga senyawa aktif di dalam ekstrak agar tidak rusak. Proses ini dilakukan hingga larutan ekstrak pada labu erlenmeyer mengental atau memekat.

Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil aktivitas antibakteri ekstrak *Lissoclinum patella* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak *Lissoclinum patella* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (kiri) dan *Escherichia coli* (kanan)

- Keterangan :
- A : *Staphylococcus aureus*
 - B : *Escherichia coli*
 - : Kontrol negatif (Metanol)
 - + : Kontrol positif (Kloramfenikol)
 - U1 : Ulangan 1 larutan uji ekstrak
 - U2 : Ulangan 2 larutan uji ekstrak
 - U3 : Ulangan 3 larutan uji ekstrak

Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode difusi agar Kirby-Bauer. Pengujian ini dilakukan terhadap bakteri gram positif dan negatif. *Staphylococcus aureus* sebagai perwakilan dari bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai perwakilan dari bakteri gram negatif. Metode ini dipilih karena diketahui memiliki fleksibilitas yang cukup besar untuk berbagai jenis bakteri dan konsentrasi tertentu juga metode yang cukup mudah serta peralatan yang relatif terjangkau.

Agen antibakteri meliputi larutan uji ekstrak dan digunakan juga kontrol positif yaitu kloramfenikol dan kontrol negatif yaitu larutan metanol. Tujuan digunakannya kontrol positif dan kontrol negatif yaitu agar dapat diketahui aktivitas antibakteri yang murni dari senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak. Kontrol positif adalah agen antibakteri yang memang sudah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri, kontrol positif ini digunakan sebagai pembandingan untuk larutan uji ekstrak untuk melihat perbandingan besarnya zona hambat yang dihasilkan. Sedangkan kontrol negatif digunakan untuk melihat ada atau tidaknya aktivitas pada pelarut yang digunakan dalam hal ini metanol agar dapat membuktikan bahwa pelarut yang digunakan pada larutan uji ekstrak tidak terdapat aktivitas antibakteri sehingga dapat dipastikan bahwa larutan uji aktivitasnya hanya berasal dari ekstrak *Lissoclinum patella* saja.

Kertas cakram digunakan sebagai sarana agen antibakteri untuk berdifusi atau biasa disebut dengan difusi cakram. Kertas cakram yang digunakan berdiameter 6 mm dengan konsentrasi yang digunakan 250 µl dengan daya serap masing-masing kertas cakram 50 µl. Kertas cakram yang telah berisi agen antibakteri yaitu larutan uji ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan pada kedua cawan petri yang masing-masing berisi media agar yang telah ditanami bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kemudian akan terjadi proses difusi, kertas cakram yang berisi larutan uji, kontrol positif dan negatif akan berdifusi pada media agar tersebut selama masa inkubasi (Pratiwi,

2008). Inkubasi ini dilakukan selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Suhu 37°C merupakan suhu optimum yang mendekati suhu tubuh manusia ketika terjadi infeksi bakteri, sehingga inkubasi dilakukan disuhu 37°C agar supaya agen antibakteri dapat dilihat efektivitasnya pada suhu tersebut. Dilakukan tiga kali pengulangan pada masing-masing bakteri. Area jernih di sekitaran cakram menandakan adanya aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri oleh agen antibakteri yang membuktikan bahwa ekstrak *Lissoclinum patella* menunjukkan aktivitas antibakteri.

Pengukuran Zona Hambat

Hasil pengukuran diameter zona hambat dari masing-masing ulangan larutan uji ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pengujian Aktivitas Antibakteri Dari *Lissoclinum patella*

Ulangan	Bakteri		Kontrol			
	<i>Staphylococcus</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Staphylococcus</i>		<i>Escherichia</i>	
	<i>Aureus</i>	<i>coli</i>	<i>Aureus</i>	<i>coli</i>	<i>Aureus</i>	<i>coli</i>
I	9	6	+	-	+	-
II	7	7				
III	7	6				
Σ	23	19				
\bar{X}	7,6	6,3				

Pengukuran diameter zona being diukur menggunakan mistar berskala, pengukuran in menggunakan landasan kategori Davis and Stout yaitu daya hambat lemah dengan diameter ≤ 5 mm, daya hambat sedang dengan diameter 6-10 mm, daya hambat kuat dengan diameter 11-20 mm dan daya hambat sangat kuat dengan diameter ≥ 21 mm.

Dari hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa kontrol positif yaitu kloramfenikol menunjukkan diameter hambat yang paling besar dibandingkan ekstrak *Lissoclinum patella* dikarenakan juga faktor Kloramfenikol yang merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang berarti dapat menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif (Waluyo, 2004). Kontrol negatif yang digunakan yaitu pelarut metanol setelah dilakukan pengamatan tidak terlihat zona hambat di sekitar cakram pada tiap bakteri. Sehingga membuktikan bahwa aktivitas antibakteri yang didapat dari cakram larutan uji ekstrak murni dari ekstrak *Lissoclinum patella*.

Hasil pengukuran zona hambat ekstrak *Lissoclinum patella* menunjukkan adanya aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram-positif dan bakteri *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram-negatif melalui terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram, sehingga diketahui bahwa ekstrak *Lissoclinum patella* memiliki spektrum yang luas. Ukuran zona hambat yang paling besar yaitu pada pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (mewakili Gram-positif) ekstrak etanol yaitu 7,6 mm dikategorikan daya hambat sedang, dan pada bakteri *Escherichia coli* (mewakili Gram-negatif) ekstrak etanol sebesar 6,3 mm juga dikategorikan daya hambat sedang. Menurut Davis and Stout (1971) menyatakan apabila zona hambat yang terbentuk pada hasil uji difusi berukuran ≤ 5 mm maka memiliki kekuatan penghambatan yang lemah,

6-10 mm memiliki kekuatan penghambatan yang sedang, 11-20 memiliki kekuatan penghambatan yang kuat dan ≥ 21 mm memiliki kekuatan penghambatan yang sangat kuat. Berdasarkan hasil tersebut diperoleh ekstrak etanol *Lissoclinum patella* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan kekuatan penghambatan pertumbuhan bakteri pada kategori sedang.

Diameter zona hambat yang ditunjukkan pada ekstrak etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar dari pada ekstrak etanol terhadap bakteri *Escherichia coli* hal ini mungkin dikarenakan perbedaan struktur dinding sel. Diketahui secara umum bahwa dinding sel dari bakteri Gram-positif tersusun atas peptidoglikan sehingga menyebabkan dinding selnya kaku. Pada bagian luar peptidoglikan terdapat senyawa yang disebut asam teichoat. Sedangkan pada bakteri Gram-negatif memiliki kandungan peptidoglikan yang jauh lebih sedikit, akan tetapi pada bagian luar peptidoglikan terdapat membran luar yang tersusun atas lipoprotein dan fosfolipid serta mengandung lipopolisakarida. Karena adanya perbedaan susunan dinding sel ini, bakteri Gram-positif dan Gram-negatif mempunyai ketahanan yang berbeda. Bakteri Gram-positif lebih sensitif terhadap antibiotik karena dapat merusak peptidoglikan (Rini dan Rochmah, 2020).

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu bahwa ekstrak *Lissoclinum patella* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sedang sebesar 7,6 mm dan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sedang sebesar 6,3 mm. Ekstrak *Lissoclinum patella* menunjukkan zona hambat yang lebih tinggi bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Behrendt, L., A. W. D. Larkum., E. Trampe., A. Norman., S. J. Sorensen, and M. Kuhl. 2012. *Microbial Diversity of Biofilm Communities in Microniches Associated with The Didemnid Ascidian Lissoclinum patella*. The ISME Journal, 6: 1222-1237.
- Brodie, J. E., Devlin, M., Haynes, D., & Waterhouse, J. (2011). *Assessment of the eutrophication status of the Great Barrier Reef lagoon (Australia)*. Biogeochemistry, 106(2), 281-302.
- Davis. W. W., Stout, T. R. 1971. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*. Applied Microbiology. 22(4): 659-665.
- Donia, M.S., B.J. Hathaway., S. Sudek., M.G. Haygood. M.J. Rosovitz., J. Ravel. and E.W. Schimdt. 2006. *Natural Combinatorial Peptide Libraries In Cyanobacterial Symbionts of Marine Ascidians*. Nature Publishing Group, 2 (12): 729-735.
- Gorwitz RJ, Jernigan DB, Powers JH, et al. 2006. *Strategies for clinical management of MRSA in the community: summary of an experts' meeting convened by the Centers for Disease Control and Prevention*.
- Gunawan, I. 2007. *Penapisan Awal Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antibakteri serta Uji Toksisitas dan Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dari Karang Lunak Asal Perairan Pulau Panggang, Kepulauan seribu [skripsi]*. Fakultas perikanan dan Ilmu kelautan, IPB, Bogor.
- Hirose, E. and T. Maruyama. 2004. *What Are The Benefits In The Ascidian-Prochloron Symbiosis*. Endocytobiosis Cell Res, 15: 51- 62.

- Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-4. Jakarta: EGC.
- Jawetz., et al. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23thEd*. Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC
- Kott. P. (2009). Taxonomic revision of Ascidiacea (Tunicata) from the upper continental slop off north-western Australia. *Journal of Natural History*, 43(31-32), 1947-1986).
- Kuswiyanto. 2015. *Bakteriologi : Buku Ajar Analisis Kesehatan*. Jakarta:Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lalamentik, G. 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak Klyxum sp. yang Diperoleh dari Teluk Manado. [skripsi]*. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado
- Lewin, R.A and L. Cheng. 1989. *Prochloron: A Microbial Enigma. Chapman and Hall*. New York. p 115.
- Nofiani, Risa. 2008. *Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut*. *Jurnal Natur Indonesia*. 10 (2): 120-125.
- Nybakken, J. W. 1992. *Biologi Laut. Suatu Pendekatan Ekologis*. PT. Gramedia. Jakarta.
- Ortez, J. 11. 2005 *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susce pribility restine Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology*. America
- Paju N., Yamlean P, V., Kojong N. 2013. *Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia Steenis.) pada Kelinci (Oryctolagus cuniculus) yang Terinfeksi Bakteri Staphylococcus aureus*. *Pharmacon* 2(1):51–61.
- Pelczar, M.J., E.S.CHAN. *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi ke-2*. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia.1988.
- Pratiwi. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga
- Rosenbach, A. J. F. 1884. *Mikro-organismen bel den Wund-infectionskrankhelten des Menschen*. JF Bergmann.
- Rasyid, A. 2008. *Biota Laut Sebagai Sumber Obat-obatan*. *Oseana*, 33(1): 11-18.
- Salim, H. H. U. 2016. *Pengaruh Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum) Terhadap Bakteri Gram Positif (Staphylococcus aureus) dan Gram Negatif (Escherichia coli) Secara In Vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas
- Sarker, S.D., Latif, Z., and Gray, A.L. 2006. *National Product Isolation*. New Jersey: Humana Press
- Schmidt, W.E., J.T. Nelson., D.A. Rasko., S. Sudek., J.A. Elson., M.G. Haygood. and J. Ravel. 2005. *Patellamide A and C Biosynthesis By A Microcin-like Pathway in Prochloron didemni, The Cyanobacterial Symbiont of Lissoclinum patella*. *The National Academy of Sciences of The USA*, 102 (20): 7315-7320.
- Sembiring B. 2007. *Teknologi Penyiapan Simplisa Terstandar Tanaman Obat*. *Warta Puslitbangbun*. 13(2): 4-8
- Sitepu, R., Ririn, N., Rollando, R. 2020. *Aplikasi Metode Bioautografi Dalam Penelusuran Daya Antibakteri Ekstrak Pegagan (Centella asiatica (L.))*. *Jurnal Katalisator*. Malang : Universitas Ma Chung.
- Susanto, D., Sudrajat dan R. Ruga. 2012. *Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (Shorea leprosula Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri*. *Jurnal Kesehatan*. 11(2): 1-15

- Suparno. 2005. *Kajian Bioaktif spons laut (forifera: Demospongiae) Suatu Peluang Alternative Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia Dalam Bidang Farmasi.[skripsi]*. Institute Pertanian Bogor
- Suryanto E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara: Surabaya Tanjung.
- Timotius, 1982, *Dasar Mikrobiologi*, 56, Universitas Ksatya Wacana, Salatiga.
- Waluyo, L., 2004, *Mikrobiologi Umum*, Malang, UMM press.