

Identifikasi Senyawa Bioaktif Dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging Teripang *Holothuria (Halodeima) atra* Jaeger 1833 Asal Perairan Pantai Kalasey, Minahasa

(Identification of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Sea Cucumber, *Holothuria (Halodeima) atra* Jaeger 1833 Flesh Extract from Kalasey Coastal Waters, Minahasa District)

Thresia T. Mewengkang¹, Rosita A. J. Lintang^{2*}, Fitje Losung², Deiske A. Sumilat², Lawrence J. L. Lumingas²

¹Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115 Sulawesi Utara, Indonesia

²Staf Pengajar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115 Sulawesi Utara, Indonesia

*Corresponding author: rositalintang@unsrat.ac.id

Abstract

Sea cucumbers are one of the marine biotas that contain bioactive compounds that have the potential as antibacterial ingredients. The purpose of this study was to perform antibacterial testing on fractions of the extract of the sea cucumber *H. atra* meat and to conduct a zoochemical analysis to determine the content of bioactive compounds that can inhibit bacterial growth. Antibacterial testing using disc diffusion method against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The results showed that the methanol extract of sea cucumber flesh could inhibit the growth of both types of test bacteria. In antibacterial testing for *S. aureus*, the ethyl acetate fraction was 11.8 mm, the n-hexane fraction was 7 mm, and the methanol fraction was 8.6 mm, while for *E. coli* the ethyl acetate fraction was 10.88 mm, the n-hexane fraction was 7 mm, and 8.6 mm methanol fraction. The compounds contained in the ethyl acetate fraction of sea cucumber *H. atra* flesh extract are alkaloids, flavonoids, steroids, and saponins which are compounds that can inhibit bacterial growth with their respective working mechanisms.

Keywords: Disc diffusion, Extraction, Fractionation, Sea cucumber (*H. atra*), Zoo-chemical,

Abstrak

Teripang merupakan salah satu biota laut yang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai bahan antibakteri. Tujuan penelitian ini melakukan pengujian antibakteri pada fraksi-fraksi dari ekstrak daging teripang *H. atra* dan melakukan analisis zookimia untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian antibakteri menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daging teripang memiliki dapat menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri uji. Pengujian antibakteri terhadap *S. aureus* fraksi etil asetat sebesar 11,8 mm, fraksi n-heksan 7 mm, dan fraksi metanol 8,6 mm sedangkan untuk bakteri *E. coli* fraksi etil asetat sebesar 10,88 mm, fraksi n heksana 7 mm, dan fraksi metanol 8,6 mm. Kandungan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak daging teripang *H. atra* yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin yang merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme kerja masing-masing.

Kata Kunci : Difusi cakram, Ekstraksi, Fraksinasi, Teripang (*H. atra*), Zoo-kimia,

PENDAHULUAN

Keanekaragaman biota laut yang dimiliki Indonesia sangatlah tinggi yang memiliki potensi sebagai bahan dasar untuk obat-obatan. Salah satu biota laut yang memiliki potensi sebagai bahan obat yaitu teripang. Teripang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang ada di

dalamnya memiliki potensi sebagai bahan antibakteri (Bordbar *et al*, 2011 ; Hossain *et al*, 2020). Teripang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang ada di dalamnya memiliki potensi sebagai bahan antibakteri (Mahmudah *et al*, 2019). Teripang termasuk dalam filum Echinodermata pada kelas Holothuroidea. Menurut Setyastuti *et al*. (2014), teripang jenis *Holothuria atra*

merupakan jenis teripang yang kelimpahannya paling banyak ditemukan pada perairan yang dangkal. Memiliki ciri-ciri morfologi dengan bentuk tubuh bulat memanjang, berwarna hitam, terstruktur tubuh yang kasar, dan saat diangkat keatas tidak mengeluarkan getah atau yang disebut *tubulus cuvierian* (Wildati, 2019).

Sistem metabolisme yang ada pada teripang digunakan untuk alat mempertahankan diri dari ancaman bahaya atau kondisi lingkungan yang kurang baik yang dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang memiliki manfaat dalam bidang farmasi contohnya bermafaat sebagai antibakteri (Mahmudah *et al.*, 2019). Antibakteri merupakan senyawa/zat yang dapat mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, kedua bakteri ini merupakan bakteri patogen yang paling sering menginfeksi manusia dan ditemukan telah resistensi terhadap beberapa antibiotik (Ritan *et al.*, 2021 ; Novard *et al.*, 2019). Resistensi terhadap antibiotik membuat bakteri tidak akan terganggu dengan adanya antibiotik tersebut sehingga perlu adanya penelitian untuk kandungan senyawa bioaktif pada teripang yang memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai agen penghambat pertumbuhan bakteri (Martiningsih, 2014).

Proses awal yang dilakukan untuk isolasi kandungan senyawa bioaktif dengan melakukan proses ekstraksi, yang bertujuan untuk menarik zat aktif yang terdapat dalam sampel dengan prinsip kerja didasarkan pada pelarut yang digunakan serta perbandingan antara sampel dan pelarut dalam proses ekstraksi (Susanty, 2016). Metode ekstraksi maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan kondisi dingin serta pengerjaan yang dilakukan mudah karena tidak perlu adanya proses pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alami akan rusak (Leba, 2017).

Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder merupakan langkah awal yang dilakukan dalam penelitian untuk

mencari bahan dasar yang berpotensi sebagai bahan obat baru (Rasyid, 2012). Mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder mengacu pada pengujian fitokimia kualitatif yaitu uji senyawa alkaloid, saponin, fenol, steroid/triterpenoid, flavonoid (Shaikh, 2020). Berdasarkan uraian di atas peneliti merasa harus melakukan penelitian untuk biota laut teripang dengan melakukan ekstraksi senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri serta melakukan pengujian zookimia untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang ada dalam teripang *Holothuria atra* yang memiliki potensi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selang bulan Maret – Juni 2022. Sampel teripang diambil di perairan pantai Kalasey, Kabupaten Minahasa. Pengambilan sampel dilakukan saat malam pada saat surut terendah. Proses ekstraksi, fraksinasi, dan pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, dan untuk pengujian zookimia kualitatif dilakukan di Divisi Mikrobiologi, Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Identifikasi Sampel

Identifikasi jenis teripang dilakukan dengan melihat ciri-ciri morfologi mulai dari bentuk, warna, serta ukuran tubuh. Pengamatan dipandu dengan buku “*Commercially Important Sea Cucumber of The World*” (Purcel *et al.*, 2012) dan World Register of Marine Species (WORMS).

Preparasi Sampel

Sampel yang diperoleh segera dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan pasir yang menempel. Selanjutnya teripang dibela untuk memisahkan bagian isi perutnya dengan daging.

Ekstraksi dan Partisi

Proses ekstraksi dilakukan pada bagian daging teripang *H. atra* menggunakan metode maserasi. Sampel dimasukkan ke dalam toples kaca lalu direndam dengan pelarut metanol dengan perbandingan 1:3 kemudian diletakkan di atas *orbital shaker* dengan kecepatan 150rpm selama 24 jam. Sampel selanjutnya diremaserasi sebanyak 3x. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi dengan suhu 40° C untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ekstrak kasar ditimbang beratnya untuk mengetahui nilai rendemennya.

Ekstrak kasar yang diperoleh dari proses maserasi sebanyak 15gr ekstrak dilarutkan kembali dengan 100 ml metanol, lalu dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan yang sama. Selanjutnya, corong pisah dikocok-kocok dan diamkan sampai terbentuk dua lapisan. Masing-masing lapisan ditampung ke dalam wadah dan lapisan n-heksan di evaporasi dan didapatkan fraksi n-heksan. Selanjutnya larutan metanol dimasukkan kembali dan ditambahkan dengan pelarut etil asetat dilakukan hal yang sama sampai terbentuknya dua lapisan kemudian setiap lapisan dievaporasi dan didapatkan fraksi etil asetat dan fraksi metanol.

Pengujian Antibakteri

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang berbahan kaca dicuci bersih kemudian dikeringkan setelah kering alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas dan disterilkan ke dalam oven selama 2 jam dengan suhu 150° C. Sedangkan, untuk bahan media cair dan media padat disterilkan ke dalam autoclave selama 20 menit pada suhu 120° C. Setelah disterilkan alat dan bahan siap digunakan dalam pengujian.

Pembuatan Media Cair

Media cair untuk kultur bakteri dibuat dengan melarutkan *Nutrient Broth (NB)* sebanyak 1,3gr ke dalam 100ml air. Sebelum disterilkan maka larutan media yang berada dalam erlenmeyer dipanaskan hingga homogen selanjutnya media

dituang ke dalam 10 tabung reaksi. Tabung reaksi yang telah berisi media cair disumbat dengan kapas lalu disterilkan dan setelah itu media siap digunakan sebagai media kultur bakteri.

Pembuatan Media Padat

Media padat dibuat dengan menambahkan agar sebanyak 1,5% ke dalam media cair. Semua bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu dipanaskan untuk melarutkan bahan-bahan dengan sempurna. Setelah terlarut sempurna media diangkat dan dipisahkan ke dalam dua erlenmeyer untuk masing-masing bakteri. Setiap erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil lalu disterilkan. Setelah steril media didiamkan hingga hangat siap digunakan dalam pengujian.

Kultur Bakteri

Penelitian ini menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sebanyak 200 µl dari masing-masing bakteri diambil dan dimasukkan ke dalam media cair lalu diinkubasi selama 24 jam untuk bakteri yang siap digunakan dalam pengujian.

Uji Antibakteri

Pengujian dilakukan dengan metode difusi agar cakram (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Sehingga kertas cakram yang digunakan berukuran 6 mm serta ekstrak yang ditotolkan sebanyak 30µl. Media padat yang telah dibuat ditambahkan sebanyak 1 ml bakteri untuk masing-masing bakteri uji, kemudian dihomogen dengan menggoyangkan secara perlahan. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam 3 cawan petri untuk masing-masing bakteri dibuat tiga replikasi, dan media didiamkan hingga mengeras. Selanjutnya kertas cakram yang telah ditotolkan diletakkan pada permukaan media padat lalu diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram kemudian diukur dengan mistar dalam satuan millimeter. Sebagai pembanding dalam pengujian antibakteri maka digunakan kontrol negatif yaitu pelarut metanol dan kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol.

Uji Zookimia Kualitatif

Uji senyawa alkaloid, sebanyak 1 ml ekstrak diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2N. Setelah dikocok akan terbentuk dua lapisan, kemudian lapisan bagian atas diambil dan dibagi kedalam 3 tabung reaksi. Lalu tiap tabung reaksi di tambahkan 3 tetes pereaksi mayer, dragendrof, dan wagner. Menunjukkan positif jika pada pereaksi mayer terdapat endapan putih/kuning, pereaksi dragendrof endapan merah/jingga, dan pereaksi wagner endapan coklat.

Uji senyawa saponin, sebanyak 1 ml ekstrak diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan aquades. Kemudian larutan dididihkan dan dikocok kuat-kuat jika terdapat buih yang stabil selama 3 menit dan tidak hilang setelah ditambahkan HCL maka dinyatakan positif mengandung saponin. Uji senyawa fenol, 1 ml ekstrak diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3 tetes FeCl 5% jika terjadi perubahan warna coklat, jingga, biru, atau ungu dinyatakan positif mengandung fenol.

Uji senyawa steroid/triterpenoid, sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 3 tetes asam sulfat jika terjadi perubahan warna merah/jingga menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dan jika terjadi warna biru/hijau adanya kandungan steroid. Uji senyawa flavonoid, 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3 tetes HCL pekat dan 0,2gr Mg dinyatakan positif jika terjadinya perubahan warna merah, jingga, dan kuning dalam waktu 3 menit. Uji senyawa tanin, ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3 tetes FeCl 1% akan dinyatakan positif jika terjadi perubahan warna hijau, biru, atau ungu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi



Gambar 1. Sampel Teripang

Sampel teripang yang diambil memiliki ciri-ciri, seluruh bagian tubuh berwarna hitam pekat (Gambar 1), memiliki 20 tentakel berwarna hitam pada bagian mulut, bentuk papilla seperti *table* dan *button*, panjang tubuh 20 cm, dan tidak memiliki *tubulus cuvierian*. Berdasarkan uraian dan dari panduan yang digunakan sampel yang diambil merupakan jenis teripang *Holothuria atra*.

Hasil Ekstraksi

Proses ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut metanol terhadap daging teripang. Filtrat yang dihasilkan dari maserasi setelah proses evaporasi pada ekstrak kasar daging teripang memiliki berat ekstrak 25 gr dengan nilai rendemen sebesar 6,76 % dan memiliki warna merah bata.

Hasil Partisi

Proses partisi dilakukan pada ekstrak kasar daging teripang. Dari hasil partisi diperoleh tiga fraksi dengan sifat kepolarannya yang berbeda yaitu semi polar (fraksi etil asetat), polar (fraksi metanol), dan non polar (fraksi n -heksan). Warna fraksi yang didapatkan setelah evaporasi di mana fraksi n-heksan berwarna jingga dengan berat 1,190 gr , fraksi etil asetat berwarna merah dengan berat 6,625 gr, dan fraksi metanol berwarna merah muda dengan berat 6,987 gr. Selanjutnya masing-masing fraksi dilakukan pengujian antibakteri.

Pengujian Antibakteri Fraksi

Pengujian antibakteri dilakukan terhadap ketiga fraksi yang didapatkan. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi untuk melihat zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram (Gambar 2) serta kekuatan daya antibakteri yang ada dan melihat spektrum antibakterinya.

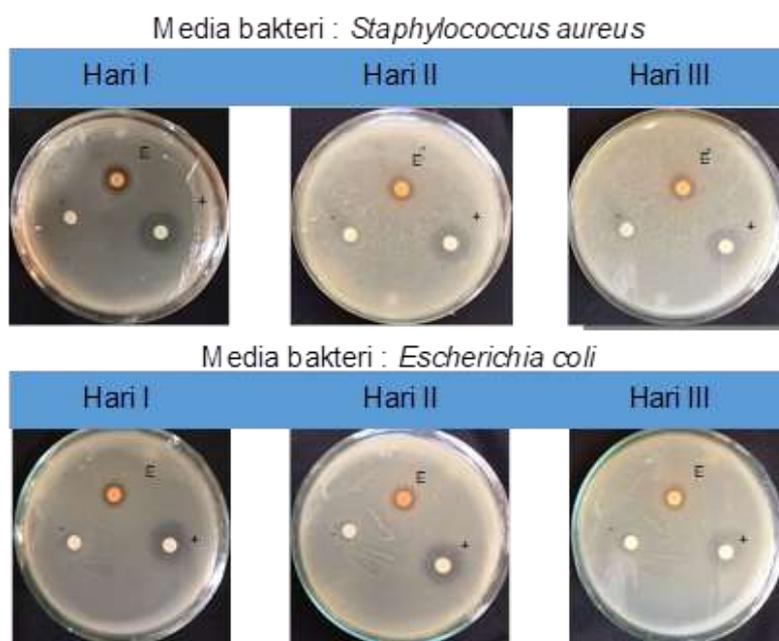
Berdasarkan data yang ditampilkan pada Tabel 1, menunjukkan bahwa fraksi-fraksi memiliki daya antibakteri spektrum luas. Namun berdasarkan pernyataan dari David dan Stout (1971) penggolongan kriteria kekuatan sesuatu bahan antibakteri yaitu ada 3 kategori yakni diameter zona hambat <5 mm dikategorikan lemah,

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi-fraksi

Fraksi	Bakteri Uji							
	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>			
	I (mm)	II (mm)	III (mm)	Rata-rata (mm)	I (mm)	II (mm)	III (mm)	Rata-rata (mm)
Etil asetat	13,5	12,5	9,5	11,8	11	10,5	10,5	10,8
N-heksan	7	7	6,5	7	6,5	7	7	7
Metanol	8,5	8	8	8,6	8,5	8	8	8,6
Kontrol Positif (+)	16,5	15	17	16,6	16,5	17	14,5	16
Kontrol Negatif (-)	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Etil Asetat

Fraksi	Bakteri Uji							
	<i>Escherichia coli</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>			
	I (mm)	II (mm)	III (mm)	Rata-rata (mm)	I (mm)	II (mm)	III (mm)	Rata-rata (mm)
Etil asetat	11	10,5	10	10,5	15	12	12	13
Kontrol Positif (+)	17	17	17	17	16	16	16	16
Kontrol Negatif (-)	0	0	0	0	0	0	0	0



Gambar 3. Pengujian Antibakteri Fraksi Etil Asetat

Keterangan : E : Fraksi Etil Asetat - : Kontrol Negatif + : Kontrol Positif

Diameter zona hambat atau zona bening yang terbentuk pada bakteri *E. coli* lebih kecil dibandingkan dengan diameter

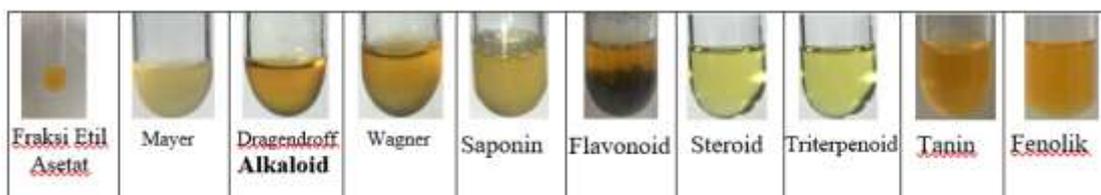
zona hambat pada bakteri *S. aureus* (Gambar 3). Bakteri gram positif memiliki kepekaan lebih baik pada antibakteri

dibandingkan gram negatif dikarenakan struktur dinding selnya. Menurut Umbah (2018), bakteri gram negatif memiliki struktur sel yang berbeda dengan bakteri gram positif, struktur dinding sel gram negatif lebih kompleks memiliki tiga lapisan yaitu lipoprotein, lipopolisakarida, dan peptidoglikan. Sedangkan struktur dinding sel bakteri gram positif memiliki dinding sel lebih sederhana yang sebagian terusun oleh polisakarida yang dapat memudahkan antibakteri untuk masuk dan merusak. Dapat diketahui bahwa pada penelitian pengujian antibakteri yang dilakukan oleh Dwicahyani (2018), mekanisme kerja dari ekstrak teripang *H. atra* bersifat sebagai

bakteriostatik dengan memiliki daya hambat yang lemah.

Hasil Uji Zookimia

Kandungan metabolit sekunder diidentifikasi melalui uji zookimia kualitatif dengan adanya perubahan warna setelah penambahan pereaksi (Gambar 4). Tujuan dilakukannya uji zookimia kualitatif untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam teripang *H. atra*. Hasil identifikasi metabolit sekunder berdasarkan uji zookimia kualitatif fraksi etil asetat daging teripang *Holothuria atra* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin.



Gambar 3. Hasil Pengujian Fitokimia Kualitatif

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif

No	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Positif	Hasil
1	Alkaloid	Pereaksi Mayer	Terbentuk endapan Putih/kuning	+
		Pereaksi Dragendroff	Terbentuk endapan merah/jingga	+
		Pereaksi Wagner	Terbentuk endapan coklat tua/kuning	-
2	Triterpenoid	Asam Asetat anhidrat +	Terbentuk warna merah, jingga, ungu, merah kecoklatan	-
3	Steroid	Asam Sulfat Pekat	Terbentuk warna hijau	+
4	Flavonoid	Pereaksi HCL Pekat + Logam Mg	Adanya buih dan berwarna jingga, merah, merah bata, kecoklatan	+
5	Saponin	Akuades	Terbentuk buih stabil	+
6	Tanin	Pereaksi FeCl 1%	Terbentuk warna hitam kebiruan	-
7	Fenolik	Pereaksi FeCl 5%	Terbentuk warna coklat jingga	-

Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh teripang *Holothuria atra* merupakan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin yang memiliki potensi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerjanya masing-masing. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja dapat merusak dinding sel atau merusak permeabilitas dinding sel dan mengganggu proses metabolismenya. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja sebagai

antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga sel tidak terbentuk secara utuh. Senyawa steroid dengan mekanisme kerja dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid yang dapat menyebabkan sel rapuh. Senyawa saponin dengan mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri sehingga dinding sel akan pecah yang membuat zat

antibakteri dapat masuk untuk merusak metabolismenya. Teripang jenis *Holothuria atra* merupakan jenis teripang yang memiliki senyawa saponin jenis Holothurin B (Triterpen Glikosida) dan senyawa steroid yang berperan penting sebagai antimikroba atau antibakteri (Bordba *et al.*, 2011). Pengujian zookimia kualitatif dilakukan juga oleh Dwicahyani (2018) pada ekstrak teripang *H. atra* yang memiliki senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenol, saponin, dan alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

KESIMPULAN

Pengujian antibakteri terhadap fraksi-fraksi ekstrak kasar daging *H. atra* memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan kekuatan antibakteri pada fraksi etil asetat dikategorikan kuat. Pengujian zookimia kualitatif pada fraksi etil asetat memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid yang merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme kerjanya masing-masing.

DAFTAR PUSTAKA

- Bordbar, S., F. Anwar., & N. Saari. (2011). High-Value Components and Bioactives From Sea Cucumber for Functional Food – A Review. *Mar Drugs*, 9, 1761-1805.
- David, W. W., & T. R. Stout. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*, 22, 659-665.
- Dwicahyani, T. S., & S. L. Rianingsih. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Peng & Biotek Pi*, 7(1), 15-24.
- Hossain, A., D. Dave., & F. Shahid. (2020). Northern Sea Cucumber (*Cucumaria frondosa*): A Potential Candidate for Functional Food, Nutraceutical, and Pharmaceutical Sector. *Mar. Drugs*. 18(5):274,27pp.
- Kano, N. N., F. Losung., R. Mangindaan., R. Lintang., S. Wulur., & R. Tumbol. (2022). Aktivitas Antibakteri Dari Teripang Laut Yang Di Peroleh Di Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 10(1), 95-101.
- Leba, M. A. U. (2017). *Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta : Deepublish.
- Mahmudah, R., A. Mu'nisa., & R. Ngitung. (2019). Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Teripang Hitam (*Holothuria edulis*). *Prosiding Seminar Nasional Biologi VI*, 609-613.
- Martiningsih, N. (2014). *Skrining Awal Ekstrak Etil Asetat Spon Dysidea sp.* Universitas Pendidikan: Universitas Pendidikan.
- Novard, M. F. A., N. Suharti., & R. Rasyid. (2019). Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUD Dr. Djamil Pada Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(2), 26-32.
- Purcell, S. W., Y. Samyn., & C. Conand. (2012). *Commercially Important Sea Cucumber of The World*. Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Rasyid, A. (2012). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus hermani*. *Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 4(2), 360-368.
- Ritan, Y. E. H., D. S. Wewengkang., & J. P. Siampa. (2021). Uji Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Alga *Caulerpa racemose* Dari Perairan Pulau Mantehage Minahasa Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *PHARMACON*, 10(2), 905-911.
- Setyastuti, A., I. Wirawati., & M. Y. Iswari. (2018). Identification and Distribution of Sea Cucumber Exploited in

- Lampung Indonesia. *Biodiversitas*, 19(2), 726-732.
- Shaikh, J. R. (2020). Qualitative test for preliminary phytochemical screening an overview. *International Journal of Chemical Studies*, 603-808.
- Umboh, P. M. T., D. S. Wewengkang., & P. V. Y. Yamlean. (2018). Aktivitas Antibakteri Fraksi Teripang Laut *Holothuria atra* Terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 7(4), 88-97.
- Wildati, A. N. (2019). *Diversitas Holothuroidea Berdasarkan Karakteristik Morfologis Di Perairan Pantai Utara Jawa Timur dan Pulau Mandangin Madura*. Surabaya: Jurusan Sains Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel.
- WoRMS. *Holothuria (Halodeima) atra Jaeger 1833*. Diakses di: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=148748> pada 19 Juli 2022.