

Aktivitas Antibakteri dan Analisis Zookimia Ekstrak Bulu Babi *Diadema setosum* (Leske, 1778) Asal Perairan Aertembaga, Kota Bitung

(Antibacterial Activity and Zoochemical Analysis of Sea Urchin *Diadema setosum* (Leske, 1778) Extract From Aertembaga Waters, Bitung City)

Gabriela Rompas¹, Rosita A. J. Lintang^{2*}, Deiske A. Sumilat², Inneke F. M. Rumengan², Elvy L. Ginting², Henneke Pangkey²

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 urchin is one of the marine biotas that produce bioactive compounds and has biological activity, one of which is antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity of the crude extract of *D. setosum* gonad and its fractionation against test bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and to conduct a zoochemical analysis to determine the content of bioactive compounds. The antibacterial test used the disc diffusion method while the chemical analysis was carried out qualitatively. The results showed that the methanol, ethyl acetate, and n-hexane fraction had antibacterial activity against the two test bacteria. The ethyl acetate fraction was the fraction that showed the highest antibacterial activity, its inhibition zone was 8 mm against *S. aureus* and 7,5 mm against *E. coli*. The zoochemical analyses of the ethyl acetate fraction from gonads extract showed positive results for alkaloid compound, phenolic, and saponin.

Keywords: Sea urchin Gonad, Antibacterial, Disc diffusion, Zoochemistry, Extraction

Abstrak

Bulu babi merupakan salah satu biota laut yang memproduksi senyawa bioaktif dan memiliki aktivitas biologis salah satunya adalah antibakteri. Tujuan penelitian ini mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar gonad bulu babi *D. setosum* dan hasil fraksinasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta melakukan analisis zookimia untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif. Pengujian antibakteri menggunakan metode difusi cakram sedangkan analisis kimia dilakukan secara kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan baik fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji. Fraksi etil asetat merupakan fraksi yang memperoleh aktivitas antibakteri terbaik dengan diameter zona hambat 8 mm terhadap bakteri *S.aureus* dan 7,5 mm terhadap bakteri *E. coli*. Hasil uji zookimia fraksi etil asetat menunjukkan bahwa ekstrak gonad *D. setosum* mengandung senyawa dari golongan alkaloid, fenolik, dan saponin.

Kata kunci : Gonad Bulu Babi (*D. setosum*), Antibakteri, difusi cakram, Zookimia, Ekstraksi

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara kepulauan yang wilayah lautnya sangat luas sehingga memiliki kekayaan sumberdaya alam laut yang berpotensi untuk dimanfaatkan secara lestari (Indrawati *et al.*, 2018). Salah satu sumberdaya alam yang melimpah adalah biota laut. Bulu babi merupakan biota laut dari filum Echinodermata yang berpotensi sebagai sumber bahan obat-obatan yang tersebar dan melimpah di

seluruh perairan Indonesia (Musfirah, 2018).

Bulu babi merupakan hewan dengan duri-duri yang muncul dari badannya yang digunakan untuk bergerak. Cangkang dan gonad bulu babi memiliki potensi antibiotik karena menghasilkan toksin yang mengandung senyawa bioaktif (Abubakar *et al.*, 2012). Hal ini berhubungan dengan bulu babi yang memiliki senyawa biaktif antara lain alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan fenol hidroquinon (Apriandi *et*

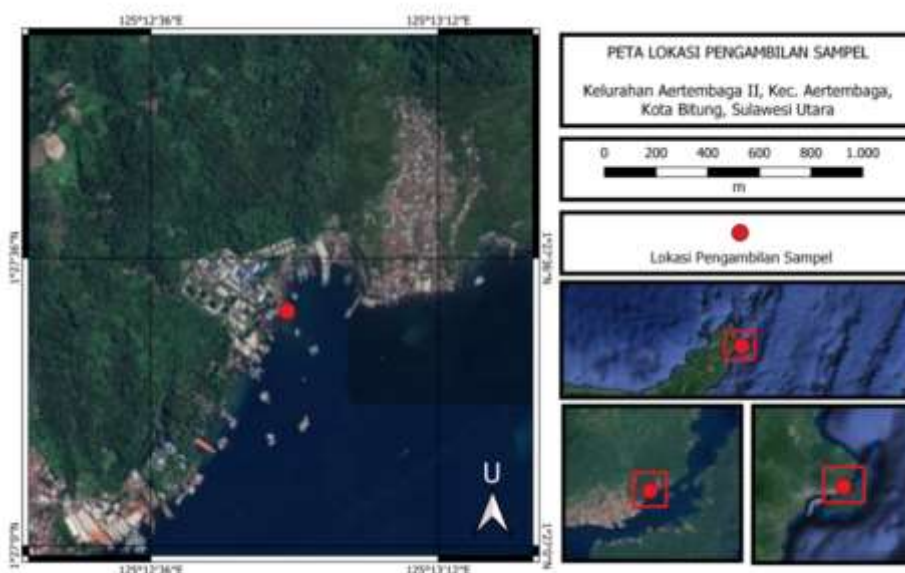
al., 2020). Permasalahan resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotik dan pengkajian lebih lanjut mengenai potensi dari bulu babi mendorong peneliti untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar bulu babi guna mendapatkan kandungan senyawa antibakteri dari bahan alam laut untuk membunuh bakteri yang telah resisten.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mendapatkan ekstrak kasar bulu babi khususnya spesies *Diadema setosum* dari Perairan Aertembaga, Kota Bitung, dan menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi-fraksi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta melakukan pengujian kimia untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak bulu babi.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama bulan April - Juni 2022. Sampel bulu babi diambil dari Perairan Pantai Kelurahan Aertembaga II, Kecamatan Aertembaga, Kota Bitung (Gambar 1), Sulawesi Utara. Kegiatan ekstraksi dan pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi. Untuk kegiatan pengujian kimia dilakukan di Divisi Mikrobiologi, Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan dan Penanganan Sampel

Pengambilan sampel bulu babi (*D. setosum*) dilakukan pada siang hari saat air surut terendah menggunakan capitan lalu cangkangnya dibelah untuk diambil bagian gonadnya kemudian dibawa ke laboratorium untuk kegiatan selanjutnya.

Alat dan Bahan

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu tabung reaksi, Erlenmeyer, corong pisah, cawan petri, kertas cakram,

mikropipet, timbangan analitik, laminar air flow, 1 set rotary vacuum evaporator, autoclave, freeze dryer, botol kaca kecil, mistar, oven, pinset, kertas saring, dan aluminium foil.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu sampel gonad *D. setosum*, metanol, etil asetat, n-heksana, akuades, nutrient agar (NA), nutrient broth (NB), agar, kloramfenikol, bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*, Reagen uji fitokimia (pereaksi

mayer, pereaksi dragendroff, pereaksi wagner, pereaksi Lieberman burchard, HCl pekat, serbuk magnesium, H₂SO₄, NaOH, Larutan FeCl₃ 1% dan FeCl₃ 5%).

Ekstraksi dan Partisi

Ekstraksi

Ekstraksi sampel bulu babi menggunakan metode ekstraksi maserasi. Caranya yaitu bagian gonad bulu babi ditimbang kemudian direndam dalam pelarut metanol dengan perbandingan 1:3 selama 24 jam. Selanjutnya difiltrasi sehingga mendapatkan filtrat 1 dan debris 1. Setelah itu debris dimaserasi ulang dengan cara yang sama seperti sebelumnya sampai tiga kali. Filtrat 1,2 dan 3 digabung dan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40° C.

Partisi

Ekstrak kasar metanol gonad *D. setosum* yang dihasilkan dari maserasi dengan metanol dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan (1:1). Corong pisah dikocok berulang-ulang hingga tercampur rata kemudian didiamkan hingga terbentuk lapisan n-heksana dan lapisan metanol. Lapisan n-heksana dan lapisan metanol kemudian dipisahkan dan ditampung dalam wadah yang berbeda. Selanjutnya lapisan n-heksana dievaporasi sehingga diperoleh fraksi n-heksana. Lapisan metanol dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan dipartisi dengan pelarut etil asetat yang prosedurnya sama seperti sebelumnya. Selanjutnya lapisan etil asetat dan lapisan metanol dipisahkan dan ditampung dalam wadah yang berbeda kemudian dievaporasi hingga kering sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi metanol.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan disterilkan dalam oven pada suhu 150° C selama ± 2 jam. Media yang digunakan disterilkan autoklaf pada suhu 120° C selama 20 menit.

Pembuatan Media Cair

Media cair yang digunakan dibuat dengan cara melarutkan *nutrient broth*

sebanyak 1,3 gram dengan 100 ml air dalam erlenmeyer atau sebanyak 1,3% b/v kemudian dipanaskan hingga terbentuk larutan jernih berwarna kuning. Setelah itu, media didinginkan dan dibagikan ke dalam 10 tabung sehingga masing-masing tabung berisi media NB sebanyak 10 ml. Semua tabung yang sudah berisi media, disumbat dengan kapas kemudian disterilkan dengan *autoclave* selama 20 menit pada suhu 120° C. Setelah disterilkan, media didinginkan sehingga siap untuk digunakan sebagai media kultur bakteri.

Kultur Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan untuk pengujian antibakteri ini adalah *E. coli* dan *S. aureus*. Sebanyak 200 µL suspensi dari masing-masing bakteri diambil menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media cair. Kedua bakteri tersebut disuspensikan ke dalam media cair pada dua tabung yang berbeda kemudian tabung disumbat kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam sebelum digunakan.

Pembuatan Media Padat (NA)

Komposisi bahan yang digunakan pada pembuatan media padat adalah 1,3% b/v larutan nutrient agar dan 0,625% b/v larutan agar. Pada penelitian ini digunakan 240 ml air sehingga menggunakan sebanyak 3,2 gram nutrient agar dan sebanyak 1,5 gram agar. Media dibuat menggunakan dua erlenmeyer untuk dua bakteri, sehingga masing-masing erlenmeyer berisi media NA sebanyak 120 ml. Masing-masing erlenmeyer yang sudah berisi media, ditutup dengan aluminium foil kemudian dipanaskan hingga bahan-bahan terlarut dengan sempurna. Media kemudian disterilkan dengan *autoclave* selama 20 menit pada suhu 120° C. Setelah disterilkan, media didiamkan hingga hangat kemudian dimasukkan bakteri uji sebanyak 1 ml yang diambil dari media cair yang telah dikultur dengan bakteri sebelumnya. Setelah itu, campuran media NA dan bakteri dihomogenkan dengan cara menggoyangkan erlenmeyer, lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat.

Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif

Sebagai pembanding dalam pengujian ini menggunakan kontrol positif yang dibuat dengan melarutkan 250 mg obat *chloramphenicol* ke dalam 250 ml aquades (1 mg/ml atau 1000 ppm) dan kontrol negatif menggunakan larutan metanol 40% yaitu mencampurkan metanol 40 ml dengan aquades yang sudah disterilkan 60 ml.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi cakram (metode *Kirby-Bauer*). Kertas cakram (*paper disk*) yang digunakan berdiameter 6 mm dengan banyaknya ekstrak pada tiap kertas cakram adalah 30 μ l. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dan pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi.

Pengujian Analisis Zookimia Kualitatif

Analisis zookimia secara kualitatif ekstrak metanol *D. setosum* dilakukan berdasarkan Harborne (1984) dan Sangi *et al.* (2008) dengan beberapa modifikasi yang meliputi pengujian alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, triterpenoid, saponin, dan tannin.

a. Alkaloid

Sebanyak 1 mg ekstrak dari masing-masing pelarut dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2 N, setelah itu diuji dengan beberapa pereaksi alkaloid di antaranya Dragendorff, Meyer dan Wagner. Setelah pengocokkan terbentuk dua lapisan, lapisan bagian atas diambil dan dipindahkan dalam tiga tabung reaksi. Masing-masing larutan tersebut ditambahkan pereaksi-pereaksi yang telah disiapkan sebelumnya, yakni pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner. Ekstrak dinyatakan positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Mayer, endapan merah sampai jingga dengan pereaksi Dragendorff dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

b. Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 - 3 tetes asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Ekstrak dinyatakan positif

mengandung senyawa triterpenoid apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, jingga atau ungu. Sementara itu, adanya kandungan steroid bila terjadi warna biru dan hijau.

c. Tanin

Ekstrak sebanyak 1 ml diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 - 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Ekstrak dinyatakan positif mengandung senyawa tanin apabila terjadi warna hitam kebiruan atau hijau.

d. Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan HCl pekat. Ditambahkan juga 0,2 gram bubuk logam Mg. Ekstrak dinyatakan positif mengandung senyawa flavonoid apabila terjadi buih dalam intensitas yang banyak dan warna merah, kuning, atau jingga dalam waktu 3 menit.

e. Saponin

Ekstrak diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan akuades. Larutan tersebut dididihkan selama beberapa waktu, kemudian didinginkan. Setelah dingin, kocok kuat-kuat larutan, apabila terbentuk buih yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N menandakan adanya kandungan senyawa saponin.

f. Fenolik

Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan mengambil 1 ml ekstrak dari stok yang sudah disediakan sebelumnya dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak ditambahkan 2 - 3 tetes FeCl_3 5% dan apabila terbentuk warna coklat orange menunjukkan kehadiran senyawa fenolik.

Hasil dan Pembahasan

Penanganan dan Pengambilan sampel

Sampel *D. setosum* diambil dari Perairan Aertembaga, Kota Bitung, dibela cangkangnya untuk mengeluarkan gonad di dalamnya (Gambar 2). Gonad *D. setosum* dalam keadaan basah didapatkan sebanyak 90 g kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol.

Hasil Ekstraksi (Maserasi)

Ekstraksi dilakukan terhadap gonad *D. setosum* menggunakan pelarut metanol dan mendapatkan ekstrak kasar gonad *D. setosum* dengan berat 14 g.

Hasil Partisi

Ekstrak kasar metanol gonad *D. setosum* dilanjutkan dengan proses partisi. Partisi dilakukan untuk menarik komponen-komponen senyawa sesuai dengan kepolarannya yaitu dengan menggunakan dua pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda sehingga tidak saling bercampur. Partisi menggunakan 3 jenis pelarut yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Dari hasil partisi yang dilakukan, didapatkan 3 fraksi dengan berat masing-masing yaitu

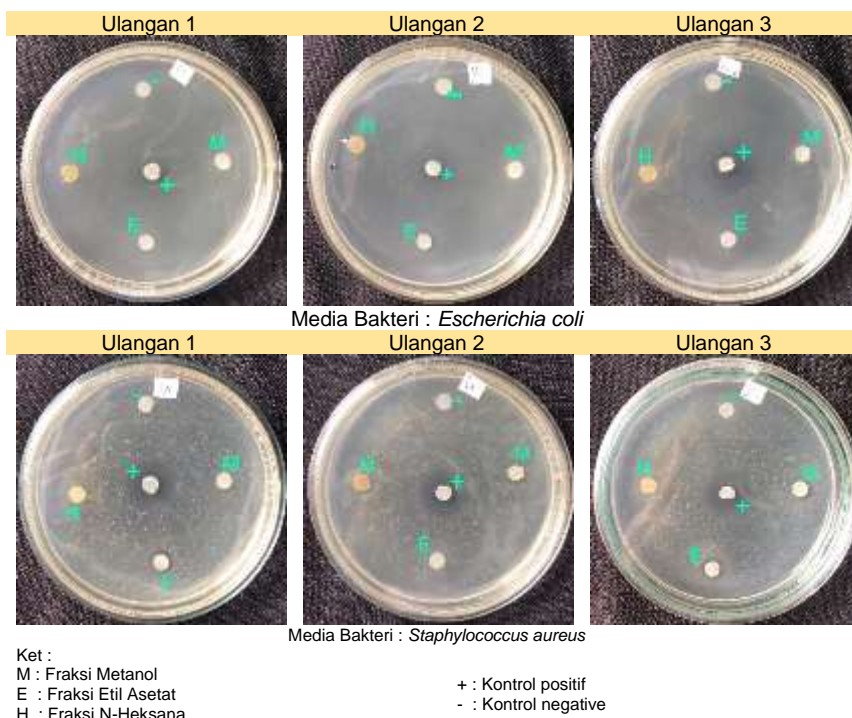
fraksi n-heksana 0,172 g, fraksi etil asetat 3,764 g dan fraksi metanol 6 g.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Adanya aktivitas penghambatan suatu ekstrak terhadap bakteri uji ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram. Pengukuran dan pengamatan zona hambat menggunakan mistar dengan satuan milimeter yang dilakukan pada dua jenis media bakteri, yaitu *S. aureus* yang mewakili bakteri gram positif dan *E. coli* yang mewakili bakteri gram negatif. Pengujian antibakteri dari fraksi-fraksi gonad *D. setosum* menunjukkan aktivitas zona hambat (Gambar 3).



Gambar 2. Gonad *D. setosum*



Gambar 3. Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi-fraksi

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi-fraksi

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)
Metanol	6,75	6,5	6,75	6,67	6,5	7	8	7,16
Etil asetat	7,5	7,5	7,5	7,5	8	7	8	7,67
N-heksana	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,75	6,58
K +	19	19	20,5	16,16	16,5	16,67	16,5	16,55
K -	0	0	0	0	0	0	0	0

Ket :

K + : Kontrol positif (*Chloramphenicol* 1.000 ppm)

K - : Kontrol negatif (larutan metanol 40%)

Banyaknya ekstrak dalam kertas cakram: 30 µl

Diameter kertas cakram: 6 mm

Konsentrasi fraksi : 100%

Berdasarkan data pada tabel di atas, menunjukkan bahwa ketiga fraksi memiliki zona hambat yang berbeda terhadap masing-masing bakteri uji (Tabel 1). Pada bakteri uji *E. coli* fraksi metanol menunjukkan diameter zona hambat yang sama pada ulangan I dan III yaitu 6,75 mm, dan pada ulangan II menurun menjadi 6,5 mm. Sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan diameter zona hambat yang sama pada ulangan I, II, maupun III yaitu 7,5 mm. Hal tersebutpun terjadi pada fraksi n-heksana yang menunjukkan nilai diameter zona hambat sebesar 6,5 mm pada ulangan I, II, dan III.

Pada bakteri uji *S. aureus*, fraksi metanol menghasilkan zona hambat pada ulangan I (6,5 mm), ulangan II (7 mm), dan ulangan III (8 mm). Zona hambat yang dihasilkan fraksi etil asetat pada ulangan I (8 mm), ulangan II (7 mm), dan ulangan III (8 mm). Sementara untuk fraksi n-heksana menghasilkan zona hambat pada ulangan I dan II (6,5 mm) dan ulangan III (6,75 mm).

Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari masing-masing fraksi dan kontrol positif terhadap kedua bakteri uji setelah diinkubasi selama 1x24 jam menunjukkan nilai yang berbeda-beda (Tabel 1). Fraksi etil asetat menunjukkan rata-rata diameter zona hambat nilai tertinggi yaitu 7,5 mm pada bakteri uji *E. coli*, sedangkan fraksi metanol rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,67 mm dan n-heksana 6,5 mm. Sedangkan pada

bakteri uji *S. aureus*, fraksi etil asetat memiliki rata-rata diameter 7,67 mm, fraksi metanol sebesar 7,16 mm dan fraksi n-heksana menjadi yang paling rendah yaitu sebesar 6,58 mm. Bila dibandingkan dengan kloramfenikol yang memiliki zona hambat rata-rata 16,16 mm pada bakteri uji *E. coli* dan 16,55 pada bakteri uji *S. aureus*, ketiga fraksi ini memiliki zona hambat yang jauh dibawah kloramfenikol.

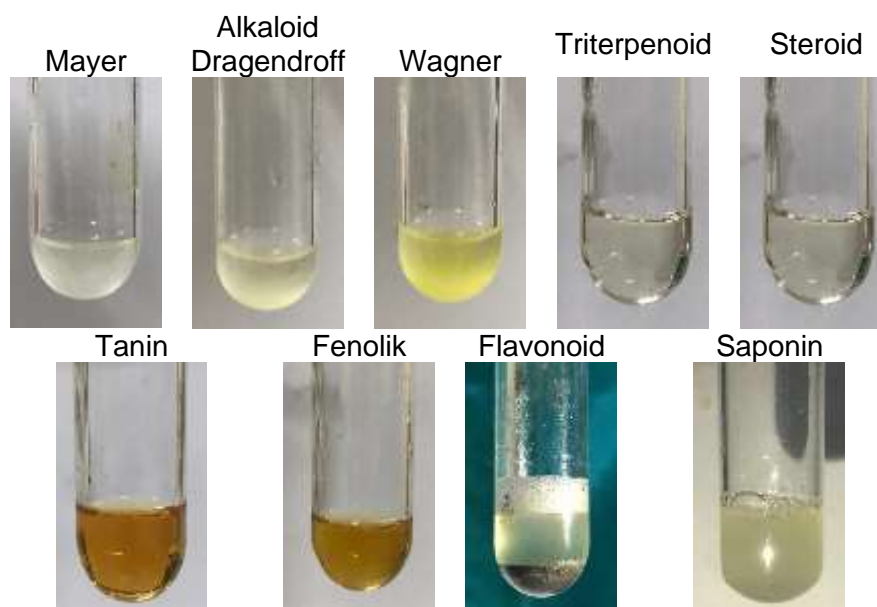
Kekuatan antibakteri yang ditunjukkan dari zona hambat masing-masing fraksi ini dikategorikan pada golongan sedang dibandingkan dengan kekuatan antibakteri dari kontrol positif pada penelitian ini dikategorikan pada golongan kuat. Kriteria kekuatan fraksi gonad *D. setosum* ini juga sejalan dengan penelitian Indrawati *et al.* (2018) bahwa kekuatan antibakteri ekstrak gonad *D. setosum* dikategorikan sedang dengan rata-rata zona hambat 8,5 mm pada bakteri uji *E. coli* dan 14 mm pada bakteri uji *S. aureus*.

Pengujian menunjukkan masing-masing fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana dari ekstrak gonad *D. setosum* memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas karena dapat menghambat bakteri gram negatif maupun gram positif. Antibakteri spektrum luas adalah antibakteri yang dapat membunuh bakteri gram positif maupun gram negatif, sedangkan antibakteri spektrum sempit

hanya dapat membunuh salah satu jenis bakteri saja (Lullman, 2000).

Hasil Analisis Zookimia Kualitatif

Hasil Analisis Zookimia kualitatif dari fraksi etil asetat gonad *D. setosum* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Pengujian Zookimia Kualitatif

Tabel 2. Hasil Pengujian Zookimia Kualitatif Fraksi Etil Asetat Gonad *D. setosum*

Sampel Uji	Alkaloid			Triterpenoid	Steroid	Tanin	Flavonoid	Fenolik	Saponin
	Mayer	Dragebdorff	Wagner						
Fraksi Etil Asetat	+	-	-	-	-	-	-	+	+

Ket : (+) Mengandung senyawa yang dimaksud, (-) Tidak mengandung senyawa yang dimaksud

Hasil yang tertera di tabel menunjukkan bahwa fraksi etil asetat gonad *D. setosum* mengandung senyawa bioaktif dari golongan alkaloid, fenolik, dan saponin. Berbeda dengan penelitian Akerina *et al.* (2015) ekstrak etil asetat gonad *D. setosum* mengandung golongan flavonoid, fenol-hidrokuinon, steroid/triterpenoid, dan saponin. Sedangkan pada penelitian Sukiman *et al.* (2020) ekstrak metanol utuh *D. setosum* hanya mengandung senyawa alkaloid. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan (Sukiman *et al.*, 2020).

Hasil pengujian zookimia secara kualitatif ini maka dapat disimpulkan bahwa zona hambat yang terbentuk pada pengujian antibakteri dari fraksi etil asetat gonad *D. setosum* adalah karena mengandung senyawa golongan alkaloid,

fenolik, dan saponin. Namun zona hambat yang dihasilkan masih tergolong rendah. Menurut Rinehar, 1992 dalam Opa, *et al.* 2018, tekanan lingkungan berpengaruh pada produksi metabolit sekunder, apabila tekanan lingkungan relatif tinggi maka senyawa yang dihasilkan akan banyak, sebaliknya jika tekanan lingkungan relatif rendah maka senyawa yang akan dihasilkanpun sedikit, maka dari hasil penelitian ini dapat dikatakan bahwa Perairan Aertembaga yang merupakan lingkungan hidup bulu babi *D. setosum* ini memiliki tekanan lingkungan yang rendah sehingga memproduksi metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri dengan kriteria sedang.

KESIMPULAN

Fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana dari ekstrak kasar

metanol *D. setosum* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan zona hambat tertinggi ada pada fraksi etil asetat. Hasil uji zookimia kualitatif terhadap fraksi etil asetatpun mengandung senyawa alkaloid, fenolik, dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Indrawati, I., Hidayat, T. R., & Rossiana, N. (2018). Aktivitas Antibakteri Dari Bulu Babi (*Diadema setosum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Saphylococcus aureus*. *Jurnal Biodjati*, 3(2), 183-192.
- Musfirah, N. H. (2018). Struktur Komunitas Bulu Babi (Echinoidea) Yang Berasosiasi Dengan Ekosistem Lamun Di Pulau Berrang Lompo, Sulawesi Selatan. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Abubakar, L., Mwangi, C., Uku, J., & Ndirangu, S. (2012). Antimicrobial activity of various extracts of the sea urchin *Tripneustes gratilla* (Echinoidea). *African Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 1(1), 19-23.
- Apriandi, A., Putri, R. M., & Tanjung, I. (2020). Karakterisasi, Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Bulu Babi (*Diadema savignyi*) dari Perairan Pantai Trikora Tiga Pulau Bintan. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera : A Scientific Journal*, 37(1), 49-54
- Harborne, J. B. (1984). *Phytochemical Methods: A Guide To Modern Technique Of Plant Analysis* (2nd ed.). London: Chapman And Hall.
- Sangi, M., Runtunewe, M. R., Simbala, H. E., & Makang, V. E. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog.*, 1(1), 47-53.
- Lullman, H., Mohr, K., Ziegler, A., & Bieger, D. (2000). *Color atlas pharmacology*. New York: Thieme.
- Akerina, F. O., Nurhayati, T., & Suwandy, R. (2015). Isolation and Characterization of Antibacterial Compounds from Sea Urchin. *JPHPI*, 18(1), 61-7
- Sukiman, R., Ali, A., & Mu'nisa, A. (2019). Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Bulu Babi (*Diadema setosum*). *Prosiding Seminar Nasioal Biologi*, 6, 631-635.
- Opa, S. L., Bara, R. A., Gerung, G. S., Rompas, R. M., Lintang, R. A., & Sumilat, D. A. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Metanol, dan Air Dari Ascidian *Lissoclinum sp.* *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(1), 69-80.