

UJI BIOAKTIVITAS EKSTRAK TERIPANG KELING *Holothuria atra* SEBAGAI ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bioactivity Test of Sea Cucumber Holothuria atra Extracts as Antibacterial Agent for Staphylococcus aureus and Escherichia coli

Tiara Dwicahyani^{*)}, Sumardianto, Laras Rianingsih

Departemen Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698
Email: dwicahyanitiara@gmail.com

Diterima : 18 November 2017

Disetujui : 2 Januari 2018

ABSTRAK

Teripang keling *Holothuria atra* merupakan salah satu jenis teripang yang memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenol, saponin, dan alkaloid yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan kerusakan pada bahan pangan dan menyebabkan penyakit pada manusia, sehingga diperlukan senyawa antibakteri alami sebagai alternatif pengganti antibakteri sintesis untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen tersebut. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif ekstrak teripang *H. atra* dengan pelarut etil asetat, n-heksan, dan etanol, pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak teripang terhadap zona hambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, serta potensi teripang sebagai antibakteri alami. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah *eksperimental laboratoris* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter pengujian yang dilakukan adalah rendemen, uji fitokimia kuantitatif ekstrak teripang *H. atra* dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol, uji kontrol positif Kloramfenikol, dan uji zona hambat ekstrak teripang *H. atra* menggunakan metode kertas cakram dengan konsentrasi 2,5%; 5%; dan 7,5% dengan tiga kali ulangan. Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji ANOVA dan Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil perhitungan rendemen terbanyak terdapat pada pelarut etanol yaitu 4,43%. Hasil uji fitokimia kuantitatif ekstrak teripang *H. atra* terbaik didapatkan pada senyawa flavonoid pelarut etanol yaitu $0,65 \pm 0,006$, sedangkan hasil terendah didapatkan pada senyawa alkaloid pelarut n-heksan yaitu $0,15 \pm 0,069$, sedangkan hasil zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diperoleh diameter berkisar antara 3,32 mm – 6,98 mm dan 2,40 mm – 5,93 mm. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak teripang *H. atra* berpengaruh nyata ($P < 5\%$) terhadap diameter yang terbentuk.

Kata kunci : Teripang *Holothuria atra*, Ekstraksi, Aktivitas Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Sea cucumber Holothuria atra is one type of sea cucumber that content bioactive compounds such as flavonoids, phenols, saponins, and alkaloids that potentially as antibacterial agent. S. aureus and E. coli are pathogenic bacteria that cause food damage and disease in humans, so a natural antibacterial compound required as an alternative to synthetic antibacterial substitute to inhibit the growth of pathogenic bacteria. The aim of this study are investigating the bioactive compounds extract of sea cucumber H. atra with ethyl acetate, n-hexan, and ethanol solvent, the effect of different concentration of sea cucumber H. atra extract against S. aureus and E. coli inhibition zone, and the potential of sea cucumber H. atra as a natural antibacterial. The method used in the study are laboratory experimental models using a completely randomized design. The variable measured were rendemen calculation, quantitative phytochemical test of sea cucumber H. atra extract with a n-hexan, ethyl acetate, and ethanol solvent, positive control test of Chloramphenicol, and inhibitory extract test of H. atra extract using the paper disc method with concentration 2, 5%; 5%; and 7.5% with three replications. Results zone inhibition diameter were analyzed using ANOVA and Honestly Significant Difference (HSD). The best result from quantitative phytochemical test of sea cucumber H. atra extract was flavonoid from ethanol solvent which $0,65 \pm 0,006$ while the lowest result was alkaloid $0,15 \pm 0,069$ from n-hexan solvent. Meanwhile the inhibition zone from S. aureus and E. coli result between 3,32 mm - 6,98 mm and 2,40 mm – 5,93 mm. Based on the research showed that the sea cucumber H. atra concentration extract significant ($P < 5\%$) to the diameter formed.

Keywords: *Sea cucumber Holothuria atra*, Extraction, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

*) Penulis Penanggung jawab

PENDAHULUAN

Teripang merupakan salah satu hewan laut yang banyak ditemukan di Indonesia. Salah satu jenis teripang yang belum banyak dimanfaatkan adalah teripang keling (*Holothuria atra*). Senyawa bioaktif pada *H. atra* berpotensi untuk digunakan sebagai antimikroba dan antijamur. Potensi antibakteri berasal dari beberapa senyawa diantaranya steroid, terpenoid, dan saponin. Menurut Abdallah dan Hassan (2012), echinodermata telah dan terus diteliti sebagai sumber senyawa bioaktif. Senyawa tersebut terutama diisolasi dari teripang dan bintang laut sebagai antitumor, antivirus, antikoagulan, antikanker, antimikroba, dan antioksidan. Hal ini diperkuat oleh Bordbar *et al.* (2011), sifat terapik dan manfaat kesehatan dari teripang bisa dihubungkan dengan kehadiran beragam zat bioaktif terutama saponin, kondroitin sulfat, glikosaminglikan, polisakarida sulfat, sterol, fenol, lektin, peptida, glikoprotein, terpenoid, dan asam amino esensial.

Senyawa bioaktif diperoleh dengan cara ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan dengan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut (Siregar *et al.*, 2012). Prinsip kelarutan yaitu pelarut polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 2006). Proses ekstraksi akan menghasilkan ekstrak kasar yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder di dalamnya.

Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak dapat diketahui dengan suatu metode pendekatan yang dapat memberikan informasi adanya senyawa metabolit sekunder. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah metode skrining fitokimia (Setyowati *et al.*, 2014). Kandungan senyawa metabolit sekunder yang ingin diketahui dari teripang *H. atra* adalah senyawa yang berperan sebagai antibakteri.

Antibakteri merupakan senyawa yang mampu menghambat aktivitas dari bakteri patogen. Senyawa bioaktif dapat digunakan sebagai antibakteri, sehingga dapat mengawetkan makanan dan mengurangi resiko keracunan pangan karena dapat menghambat bakteri patogen (Pelczar dan Chan, 2005).

Bakteri patogen adalah bakteri yang menyebabkan penyakit dan menyebar dengan berbagai cara. Bakteri patogen sering dijumpai pada bahan pangan, termasuk ikan dan produk perikanan, misalnya bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *S. aureus* merupakan kelompok bakteri gram positif yang dapat menyebabkan kerusakan pada bahan pangan dan menyebabkan penyakit pada manusia, sedangkan bakteri *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang juga dapat menyebabkan penyakit pada manusia apabila mengkonsumsi air dan

makanan yang terkontaminasi oleh *E. coli*. Dwiwitno (2010) menyatakan bahwa beberapa spesies bakteri patogen yang sering ditemukan pada ikan dan produk perikanan antara lain *Vibrio parahaemolyticus* dan jenis *Vibrio* lainnya, *Escherichia coli*, *Aeromonas* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, dan *Shigella* spp.

Mikroorganisme dapat dihambat atau dibunuh dengan proses fisik atau bahan kimia. Apabila mikroorganisme yang dimaksud adalah bakteri, maka antimikroba lebih sering disebut dengan bahan antibakteri. Pengujian efektifitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Nendissa, 2012).

Pemanfaatan ekstrak teripang keling *H. atra* sebagai senyawa antibakteri belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai potensi ekstrak teripang keling *H. atra* sebagai antibakteri alami.

MATERI DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan teripang keling (*H. atra*) yang diperoleh dari Perairan Karimunjawa, Jawa Tengah. Tiga jenis pelarut yang digunakan adalah n-heksan, etil asetat dan etanol. Bahan lain yang digunakan adalah *Nutrient Broth*, *Nutrient Agar*, kertas cakram, kertas Whatman no.41, $AlCl_3$ 5%, $NaCO_3$, *Quercetin*, *follin denis*, asam asetat 10% dalam etanol, asam asetat anhidrat, dan Kloramfenikol.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-vis, dan *glassware*.

Metode Penelitian

Penelitian Pendahuluan

Tujuan dari penelitian pendahuluan adalah untuk mengetahui pelarut terbaik dalam menarik senyawa bioaktif dan menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi dari teripang *H. atra*. Ekstrak dari pelarut terbaik ini kemudian akan digunakan pada penelitian utama.

Preparasi Sampel (Modifikasi Oktaviani, 2015)

Teripang *H. atra* diambil dari perairan Pulau Menjangan Kecil, Kepulauan Karimunjawa, Jawa Tengah. Teripang yang diambil adalah teripang dewasa dengan ukuran $\pm 20-30$ cm. Teripang yang telah ditangkap kemudian dipisahkan bagian daging dan jeroannya dengan menggunakan gunting. Cara memisahkannya yakni dengan dipotong bagian posterior ke anterior. Daging teripang dicuci dengan air tawar kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan disimpan di dalam *cool box* yang berisi es untuk digunakan pada tahap berikutnya.

Ekstraksi Sampel (Modifikasi Roihanah et al., 2012)

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi (perendaman) dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya, yaitu etanol, etil asetat dan n-heksan. Teripang *H. atra* segar yang telah dibersihkan dan dibuang isi perutnya, dipotong kecil-kecil dengan tujuan untuk memperbesar luas permukaan yang kontak dengan bahan. Ekstraksi dilakukan dengan merendam masing-masing 700 gr teripang segar dengan 2100 ml pelarut (perbandingan 1:3) selama 3 kali 24 jam. Proses maserasi dilakukan di tempat gelap dan terlindung dari cahaya matahari. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring dan pemekatan untuk tahap ekstraksi yang terakhir. Masing-masing filtrat yang diperoleh dari proses penyaringan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu ± 38 °C sampai mengental membentuk pasta. Hasil ekstrak kasar kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam botol vial lalu disimpan dalam lemari pendingin untuk digunakan pada analisis berikutnya.

Perhitungan Rendemen (Saskiawan dan Nur, 2015)

Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan bahan yang diekstrak. Tentukan berat ekstrak setelah penguapan dengan mengurangkan dengan bobot labu kosong, kemudian hitung rendemen ekstrak (% b/b) sesuai dengan rumus perhitungan rendemen. Rendemen dapat ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100 \%$$

Uji Skrining Fitokimia

Analisa Senyawa Flavonoid (Suryanto, 2007)

Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades. Tambahkan 25 ml asam asetat 10 % dalam ethanol, kemudian gerus menggunakan lumpang porcelain. Larutan kemudian di *centrifuge* atau disaring untuk memisahkan endapan dan filtrat. Filtrat kemudian diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan 2 mL larutan AlCl_3 5 % lalu ditambahkan *aquades* hingga volume 10 mL. Kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 420 nm. Hasil yang diperoleh dihitung dengan menggunakan kurva standar yang dibuat dengan menggunakan *Quercetin*.

Analisa Senyawa Fenol (Harborne, 1987)

Sampel ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades. Larutan kemudian di *centrifuge* atau disaring untuk memisahkan endapan dan filtrat. Filtrat kemudian diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan 0,5

mL *follin denis* dan 1 mL larutan Na_2CO_3 jenuh, kemudian didiamkan selama 10 menit. Larutan selanjutnya ditambahkan *aquades* hingga volume 10 mL dan divortex hingga homogen. Kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 730 nm. Hasil yang diperoleh dihitung dengan menggunakan kurva standar yang dibuat dengan menggunakan fenol.

Analisa Senyawa Saponin (Harbone, 1987)

Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades. Tambahkan 25 ml etanol 75% kemudian digojog hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit hingga suspensi mengendap. Larutan bagian atas diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam botol, kemudian dikeringkan dengan oven hingga konstan. Timbang berat akhir atau berat konstan kemudian hitung kadar saponin. Selisih berat merupakan berat saponin.

Analisa Senyawa Alkaloid (Harbone, 1987)

Sampel yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 5 gram dan dilarutkan dalam 100 ml aquades. Tambahkan 25 ml asam asetat 10 % dalam etanol, kemudian digerus menggunakan lumpang porcelain, lalu diamkan selama 2 jam kemudian saring atau *centrifuge* larutan. Filtrat jernih diambil kemudian ditambahkan NH_4OH , jika mengandung alkaloid maka akan terbentuk endapan putih lalu endapan disaring menggunakan kertas saring yang sudah diketahui beratnya. Residu yang diperoleh dikeringkan dalam oven sampai konstan.

Analisa Senyawa Steroid dan Triterpenoid (Rasyid, 2012)

Ekstrak teripang dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform kemudian ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

Penelitian Utama

Penelitian utama bertujuan untuk mengetahui perbedaan konsentrasi ekstrak teripang *H. atra* dalam mempengaruhi zona hambat pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstrak yang digunakan pada penelitian utama adalah ekstrak dari pelarut terbaik dari hasil penelitian pendahuluan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 2,5%; 5%; dan 7,5%.

Uji Aktivitas Antibakteri Sterilisasi Alat (Hamidy *et al.*, 2006)

Semua alat yang terbuat dari kaca dicuci bersih dan dikeringkan, setelah itu dibungkus dengan kertas. Sterilisasi dilakukan dengan autoklav pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan jarum ose dan pinset disterilkan dengan pemijaran.

Pembuatan *Nutrient Agar* (Arifin *et al.*, 2013)

Pembuatan media dilakukan dengan melarutkan 4,6 g *nutrient agar* dalam 200 mL akuades pada beaker gelas. Suspensi yang dihasilkan dipanaskan sampai mendidih, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer ditutup dengan kapas dan wrap kemudian disterilisasi. Proses sterilisasi menggunakan autoklav pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Pembuatan *Nutrient Broth* (Arifin *et al.*, 2013)

Pembuatan media *Nutrient broth* dilakukan dengan melarutkan 0,9 g *nutrient broth* dalam 100 mL akuades pada beaker gelas. Suspensi yang dihasilkan dipanaskan sampai mendidih, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer ditutup dengan kapas dan wrap kemudian disterilisasi. Proses sterilisasi menggunakan autoklav pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Pembuatan Biakan Aktif (Modifikasi Kusmiyati dan Ni, 2007)

Bakteri uji yang digunakan yaitu *S. aureus* FNCC 0047 dan *E. coli* FNCC 0091 yang diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada dalam bentuk isolat miring. Bakteri uji pada media agar miring diambil 1 ose dengan menggunakan kawat ose yang telah disterilkan sebelumnya kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 mL larutan *nutrient broth* (NB). Kemudian tabung reaksi yang telah berisi suspensi bakteri *divortex* agar homogen kemudian tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Uji Aktivitas Antibakteri (Modifikasi Arifin *et al.*, 2013)

Uji aktivitas antibakteri menggunakan konsentrasi ekstrak etanol 2,5%, 5%, 7,5%. Konsentrasi kontrol positif Kloramfenikol 2,5%, 5%, 7,5%. Kontrol negatif yang digunakan yaitu aquadest. Langkah pertama yaitu membuat variasi konsentrasi ekstrak dan kontrol sesuai konsentrasi di atas. Kertas cakram diresapkan dalam ekstrak. Proses peresapan dilakukan dengan cara merendamkan kertas cakram pada ekstrak etanol, kontrol positif Kloramfenikol dan kontrol negatif pelarut.

Langkah kedua, *nutrient agar* dipanaskan sampai mencair, kemudian didinginkan sampai suhu ±40 °C dan dituangkan ke dalam cawan petri.

Larutan biakan aktif bakteri diambil sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi *nutrient agar*. *Nutrient agar* dan larutan biakan aktif bakteri dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama ±48 jam, lalu diukur zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong. Luas zona hambatan ditentukan dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona hambatan) dengan diameter cakram dan diameter zona hambat pelarut (jika terdapat zona hambat).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Pendahuluan Ekstraksi Sampel

Teripang yang digunakan adalah teripang segar dan tidak dikeringkan. Hal ini bertujuan agar kandungan bioaktif pada teripang tidak rusak akibat suhu tinggi. Daging teripang tidak menjadi keras. Hal ini sesuai dengan pendapat Arifin *et al.* (2013), teripang yang digunakan adalah teripang basah yang masih segar dan tidak dilakukan pengeringan untuk menjaga senyawa aktif dalam teripang agar tidak rusak akibat suhu yang terlalu tinggi. Hal ini juga diperkuat oleh Novita (2003), penyebab rusaknya beberapa senyawa yang terdapat pada teripang kering, karena beberapa komponen dalam teripang adalah komponen volatil. Selain itu teripang kering dagingnya lebih keras sehingga mempersulit proses ekstraksi.

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi tunggal. Proses maserasi akan menyebabkan pecahnya membran sel sehingga metabolit sekunder yang terdapat pada sitoplasma sampel akan larut ke dalam pelarut. Pemilihan metode maserasi tunggal dikarenakan senyawa bioaktif bersifat tidak tahan panas. Selain itu, metode maserasi merupakan metode yang mudah dilakukan dan peralatannya sederhana. Menurut Pramana dan Chairul (2013), proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, metode ini sangat tepat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas. Proses maserasi menyebabkan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut akan berlangsung terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Hasil ekstraksi sampel setelah dilakukan *rotary evaporator* tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Sampel Setelah *Rotary Evaporator*

Pelarut	Berat Sampel (g)	Volume Larutan (ml)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Bentuk	Warna
Etanol	700	2100	31	4,43	Pasta	Oranye
Etil asetat	700	2100	4,2	0,60	Pasta	Oranye
N-heksan	700	2100	1,8	0,25	Pasta	Hijau

Berdasarkan hasil pada Tabel 4, ekstraksi dari masing-masing pelarut memiliki rendemen yang berbeda. Rendemen terendah ekstraksi terdapat pada pelarut n-heksan yaitu sebesar 0,25 %, sedangkan rendemen tertinggi ekstraksi terdapat pada pelarut etanol yaitu sebesar 4,43 %. Pelarut etanol menghasilkan rendemen tertinggi diduga karena etanol memiliki gugus polar dan non polar sehingga dapat menarik senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya. Menurut Anisah (2014) menambahkan bahwa etanol memiliki dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Adanya dua gugus tersebut menyebabkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran berbeda dapat ditarik oleh etanol.

Uji Fitokimia Kuantitatif

Tujuan dilakukannya uji fitokimia kuantitatif adalah untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak teripang *H. atra*. Uji fitokimia meliputi uji senyawa fenol, flavonoid, saponin, alkaloid, dan steroid/triterpenoid. Hasil yang diperoleh pada pengujian fitokimia secara kuantitatif dari sampel teripang tersaji pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 2, diketahui bahwa ekstrak dengan pelarut etanol memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-heksan pada pengujian fenol, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Puspitasari *et al* (2013) bahwa pelarut etanol 95% merupakan pelarut universal dengan indeks polaritas 5,2 sehingga berbagai senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, serta steroid dan terpenoid yang terkandung dapat tertarik ke dalam pelarut.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, senyawa flavonoid merupakan senyawa dengan kandungan tertinggi dibandingkan dengan senyawa bioaktif yang lainnya. Hal ini dikarenakan senyawa flavonoid memiliki gugus hidroksil, sehingga akan mudah larut dalam senyawa polar seperti etanol. Hal ini sesuai dengan pendapat Rijke (2005), flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etil asetat, atau campuran dari pelarut tersebut dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan atau hewan.

Senyawa bioaktif tertinggi lainnya yaitu fenol. Senyawa fenol merupakan senyawa polar,

sehingga senyawa fenol akan lebih mudah larut dalam pelarut etanol dibandingkan dengan etil asetat dan n-heksan. Menurut Firdiyani *et al.* (2015), fenolik termasuk kedalam senyawa polar. Fenolik dengan mudah akan larut dalam senyawa polar.

Senyawa bioaktif lainnya yang terkandung pada ekstrak teripang *H. atra* adalah alkaloid dan saponin. Senyawa alkaloid merupakan senyawa semi polar namun pada penelitian ini alkaloid menunjukkan hasil tertinggi dengan pelarut etanol. Hal ini diduga karena pelarut polar dapat mengeskrak senyawa dari kisaran semi polar hingga polar, sedangkan saponin memiliki ikatan glikosida, sehingga mudah larut dalam pelarut polar. Menurut Puspitasari *et al.* (2013), alkaloid mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya serta mengandung substituent yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar. Saponin memiliki gugus non polar berupa gugus steroid dan triterpenoid, akan tetapi lebih cenderung bersifat polar karena ikatan glikosidanya. Suharto *et al.* (2012) menambahkan bahwa saponin paling tepat diekstraksi dari sampel yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70-95%.

Berdasarkan hasil uji fitokimia kuantitatif diketahui bahwa etanol merupakan pelarut terbaik untuk mengeskrak senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, dan saponin pada teripang *H. atra*. Kandungan senyawa-senyawa tersebut memiliki kadar tertinggi pada pelarut etanol dibandingkan pelarut etil asetat dan n-heksan, sehingga pada penelitian utama digunakan ekstrak etanol teripang *H. atra*.

Penelitian Utama

Uji Kontrol Negatif

Berdasarkan uji kontrol negatif, pelarut *aquadest* tidak memiliki zona hambat. Hal ini membuktikan bahwa pelarut *aquadest* tidak bersifat bakterisidal ataupun bakteriostatik terhadap bakteri uji, sehingga dapat dipastikan bahwa hasil zona hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Menurut Rastina *et al.* (2015), kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang nyata dengan berbagai konsentrasi ekstrak. Kontrol negatif menunjukkan tidak adanya zona hambat. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antibakteri.

Tabel 2. Hasil Pengujian Fitokimia Kuantitatif dari Teripang *H. atra* dengan Pelarut yang Berbeda (%)

Parameter	Pelarut		
	Etanol	Etil asetat	N-heksan
Fenol	0,42±0,002	0,18±0,003	0,02±0,003
Flavonoid	0,65±0,006	0,59±0,012	0,52±0,008
Saponin	0,30±0,003	0,22±0,004	0,18±0,097
Alkaloid	0,27±0,004	0,12±0,008	0,15±0,069
Steroid/Triterpenoid	Negatif	Negatif	Negatif

Keterangan :

Data merupakan hasil rata-rata dari dua kali ulangan ± standar deviasi

Uji Kontrol Positif

Uji kontrol positif bertujuan untuk membandingkan antara diameter zona hambat yang terbentuk dari ekstrak teripang *H. atra* dan Kloramfenikol. Konsentrasi Kloramfenikol yang digunakan sesuai dengan konsentrasi yang digunakan pada ekstrak teripang *H. atra* yaitu 2,5 %; 5 %; dan 7,5 %. Hasil uji kontrol positif Kloramfenikol terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Kontrol Positif Kloramfenikol terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

No.	Konsentrasi (%)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)
1.	2,5	21,17±0,4	23,17±0,4
2.	5	22,32±0,3	24,22±0,4
3.	7,5	23,03±0,2	25,07±0,4

Keterangan:

- Data tersebut telah dikurangi diameter kertas cakram 8 mm
- Data merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan ± standar deviasi

Hasil diameter zona hambat yang dihasilkan kloramfenikol terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* memiliki rata-rata di atas 20 mm. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat kloramfenikol tergolong sangat kuat. Menurut Tarman *et al.* (2013) menyatakan bahwa kloramfenikol sebagai kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat kuat karena memiliki zona hambat lebih dari 20 mm.

Kloramfenikol merupakan salah satu antibiotik yang efektif baik terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Mekanisme kloramfenikol yaitu menghambat sintesis protein pada bakteri. Menurut Dian *et al.* (2015), kloramfenikol adalah antibiotik yang mempunyai aktivitas bakteriostatik dan pada dosis tinggi bersifat bakterisidal. Aktifitasnya menghambat sintesis protein dengan jalan mengikat ribosom yang merupakan langkah penting dalam pembentukan ikatan peptida.

Uji Zona Hambat Ekstrak Teripang *H. atra* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif yang banyak ditemukan pada

manusia dan bahan pangan. Tujuan dari pengujian aktivitas antibakteri adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak teripang *H. atra* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Berdasarkan hasil pengamatan, ekstrak teripang *H. atra* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *S. aureus* tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Diameter Zona Hambat terhadap Bakteri *S. aureus*

No.	Konsentrasi Ekstrak (%)	<i>S. aureus</i> (mm)
1.	2,5	3,32±0,27 ^a
2.	5	4,43±0,31 ^b
3.	7,5	6,98±0,60 ^c

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan ± standar deviasi
- Data sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram yaitu 5 mm
- Data yang diikuti dengan notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hasil pada uji zona hambat menunjukkan bahwa zona hambat terbesar pada konsentrasi ekstrak 7,5%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak teripang, maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar. Menurut Asmardi *et al.* (2014), semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat. Hal ini dapat dikatakan bahwa diameter zona hambat berbanding lurus dengan tingkat konsentrasinya.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada uji zona hambat, diketahui bahwa ekstrak teripang *H. atra* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 3,32±0,26 mm sampai 6,98±0,60 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak teripang *H. atra* pada konsentrasi 2,5-7,5% memiliki kekuatan antibakteri lemah hingga sedang terhadap bakteri *S. aureus*. Penggolongan kekuatan antibakteri tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Penggolongan Kekuatan Antibakteri

Diameter zona hambat	Golongan kekuatan antibakteri
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

Sumber : Davis dan Stout (1971) dalam Ngajow *et al.* (2013).

Bakteri *S. aureus* memiliki dinding sel dengan peptidoglikan yang banyak dan sedikit lipid serta mengandung polisakarida. Menurut Salni dan Ratna (2011), bakteri gram positif memiliki struktur gram dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Senyawa flavonoid merupakan bagian yang bersifat polar, sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang non polar.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *H. atra* Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Tujuan dari pengujian aktivitas antibakteri adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak teripang *H. atra* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Berdasarkan hasil pengamatan, ekstrak teripang *H. atra* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak teripang *H. atra* pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *E. coli* tersaji pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Diameter Zona Hambat terhadap Bakteri *E. coli*

No.	Konsentrasi Ekstrak (%)	<i>E. coli</i> (mm)
1.	2,5	2,40±0,15 ^a
2.	5	3,90±0,31 ^b
3.	7,5	5,93±0,34 ^c

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan ± standar deviasi
- Data sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram yaitu 5 mm
- Data yang diikuti dengan notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Struktur dinding sel bakteri *E. coli* terdiri dari lapisan yang kompleks, sehingga zat antibakteri sulit menembus dinding sel tersebut. Menurut Jawetz *et al.* (2005), *E. coli* adalah bakteri gram negatif yang resisten terhadap beberapa antibakteri hal ini disebabkan karena tiga lapisan dinding sel pada bakteri ini, sehingga beberapa

senyawa tidak mampu merusak jaringan dari dinding sel bakteri *E. coli*. Dinding sel bakteri gram negatif mengandung tiga polimer yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan dan membran luar berupa bilayer (mempunyai ketahanan lebih baik terhadap senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Widyasanti *et al.* (2015) menambahkan bahwa dinding luar bakteri *E. coli* bersifat permeabilitas tinggi, sehingga zat aktif dalam ekstrak simplisia tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri yang mengakibatkan tidak terhambatnya pertumbuhan.

Diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *E. coli* lebih kecil dibandingkan dengan diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *S. aureus* pada setiap konsentrasinya. Faktor yang mempengaruhi adalah perbedaan struktur sel pada bakteri. Dinding sel pada bakteri gram negatif lebih kompleks dibandingkan bakteri gram positif. Menurut Helmiyati dan Nurrahman (2010) bahwa pada dasarnya dinding sel yang paling mudah terjadi denaturasi adalah dinding sel yang tersusun oleh polisakarida dibandingkan dengan dinding sel yang tersusun oleh fosfolipid. Gram positif dinding selnya mengandung peptidoglikan dan juga asam teikoat dan asam teikuronat. Oleh sebab itu dinding sel bakteri gram positif sebagian adalah polisakarida, sedangkan pada dinding sel bakteri gram negatif terdapat peptidoglikan yang sedikit sekali dan berada diantara selaput luar dan selaput dalam dinding sel. Dinding sel bakteri gram negatif sebelah luar merupakan komponen yang terdiri dari fosfolipid dan beberapa protein yang sering disebut sebagai *auto layer*, sehingga dapat disimpulkan bakteri gram positif mengalami proses denaturasi sel terlebih dahulu dibandingkan bakteri gram negatif.

Mekanisme kerja senyawa antibakteri dibagi menjadi dua, yaitu bakteristatik dan bakteriosidal. Apabila senyawa antibakteri bersifat menghambat pertumbuhan bakteri maka termasuk golongan bakteristatik, sedangkan jika bersifat membunuh bakteri termasuk golongan bakteriosidal. Berdasarkan zona hambat yang terbentuk, ekstrak teripang *H. atra* bersifat sebagai bakteristatik karena hanya memiliki kekuatan daya hambat lemah dan sedang terhadap bakteri uji. Menurut Arum *et al.* (2012), semakin tinggi kadar senyawa bioaktif semakin bersifat bakterisida (agen mematikan mikroba), sedangkan kadar yang lebih rendah biasanya hanya bersifat bakteristatik (agen yang menghambat pertumbuhan mikroba, bukan mematikan mikroba).

Penghambatan pertumbuhan bakteri uji dikarenakan ekstrak etanol teripang *H. atra* memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenol, saponin dan alkaloid yang bertindak sebagai senyawa antibakteri. Kandungan senyawa bioaktif tersebut dapat menghambat

pertumbuhan bakteri dengan mekanisme kerjanya masing-masing. Senyawa bioaktif dengan kadar tertinggi pada penelitian ini adalah senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid sebagai senyawa antibakteri memiliki mekanisme kerja diantaranya merusak dinding sel dan mengganggu proses metabolisme. Menurut Majidah *et al.* (2014), mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi. Selain itu senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri.

Senyawa bioaktif lainnya dengan kadar yang cukup tinggi yaitu senyawa fenol. Senyawa fenol sebagai senyawa antibakteri memiliki mekanisme dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel. Menurut Damayanti dan Suparjana (2007), golongan fenol mampu merusak membran sel, menginaktivkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan karena penurunan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan terganggunya transportasi ion-ion organik yang penting ke dalam sel, sehingga berakibat terhambatnya pertumbuhan bahkan hingga kematian sel.

Mekanisme penghambatan senyawa saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel. Menurut Sari *et al.* (2015) bahwa saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri, mengakibatkan meningkatnya permeabilitas dinding sel serta menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga ketika terjadi interaksi dinding sel tersebut akan pecah atau mengalami lisis dan membuat zat antibakteri akan masuk ke dalam sel dengan mudah dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian bakteri.

Senyawa bioaktif dengan kadar terendah pada penelitian ini yaitu alkaloid. Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Hal ini diperkuat oleh Retnowati *et al.* (2011), mekanisme penghambatan alkaloid yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *H. atra* sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* adalah sebagai berikut:

1. Pelarut terbaik untuk mengekstraksi senyawa bioaktif pada teripang *H. atra* adalah etanol. Hal ini berdasarkan pada hasil uji fitokimia, yaitu flavonoid sebesar 0,65 %, fenol sebesar 0,42 %, saponin sebesar 0,30 %, dan alkaloid sebesar 0,27 %.
2. Perbedaan konsentrasi ekstrak teripang *H. atra* memberikan pengaruh nyata terhadap nilai diameter zona hambat. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar juga diameter zona hambat yang terbentuk.
3. Teripang keling (*H. atra*) memiliki kemampuan antibakteri lemah pada konsentrasi 2,5% dan 5% dan sedang pada konsentrasi 7,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, H. dan H. Ibrahim. 2012. Antibacterial Carotenoids of Three *Holothuria* Species in Hurghada, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38:185-194.
- Anisah, S. Khotimah, dan A.H. Yanti. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Protobiont*, 3(3):1-5.
- Arifin, H.N., R. Ningsih, A.A. Fitrianiingsih, dan A. Hakim. 2013. Antibacterial Activity Test Sea Cucumber Extract (*Holothuria scabra*) Sidayu Coast Gresik Using Disk Diffusion Method. *Alchemy*, 2(2):101-149.
- Asmardi, A., R.M. Rosda, dan Fitmawati. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Cyclea barbata* (L.) Miers. Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal FMIPA*, 1(2):1-9.
- Bordbar, S., F. Anwar, dan N. Saari. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods—A Review. *Marine Drugs Journal*:1761-1805.
- Damayanti, E. dan T.B. Suparjana. 2007. Efek Penghambatan Beberapa Fraksi Ekstrak Buah Mengkudu Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Yogyakarta : 46.
- Dian, R., Fatimawai, dan F. Budiarmo. 2015. Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* Yang Diisolasi Dari Plak Gigi Terhadap Merkuri dan Antibiotik Kloramfenikol. *Jurnal e-Biomedik*, 3(1):59-63.
- Dwiyitno. 2010. Identifikasi Bakteri Patogen pada Produk Perikanan Dengan Teknik Molekuler. *Jurnal Squalen*, 5(2):67-78.
- Firdiyani, F., T.W. Agustini, dan W.F. Ma'ruf. 2015. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami *Spirulina platensis* Segar Dengan Pelarut Yang Berbeda. *JPHPI*, 18(1):28-37.

- Hamidy, Y., I. Safitri, Inayah, D. Syafri, dan D. Firmansyah. 2006. Efek Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sapu Jagad (*Isotoma longifolia*) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Tek*, 12:91-96.
- Harborne, J. B. 1987. Metode fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB. Bandung.
- _____. 2006. Metode fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB, Bandung.
- Helmiyati, A. F. dan Nurrahman. 2010. Pengaruh Konsentrasi Tawas Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Negatif. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 1(1).
- Jawetz, E., J. Melnick, dan L. Adelberg. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kusmiyati dan N.W.S. Agustini. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Jurnal Biodiversitas*, 8(1):48-53.
- Majidah, D., D.W.A. Fatmawati., dan A. Gunadi. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Sebagai Alternatif Obat Kumur. <http://repository.unej.ac.id/> (diakses 12 Juni 2017).
- Nendissa, D.M. 2012. Analisa Kemampuan Alga Hijau Silpau (*Dictyosphaeria versluisii*) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Ekosains*, 1(1):47-51.
- Novita, H. 2003. Isolasi Dan Karakterisasi Awal Senyawa Antibakteri dan Ekstrak Kasar Teripang Gajah (*S.Chloronotus*). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Ngajow, M., Jemmy, A., dan Vanda, S.K. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 2(2):128-132.
- Oktaviani, D., Y. Mulyani, dan E. Rochima. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Jeroan Teripang *Holothuria atra* Dari Perairan Pulau Biawak Kabupaten Indramayu. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 6(2):1-6.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Ed. II. Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Pramana, M., Riza A., dan Chairul S. 2013. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Pada Fraksi N-heksana Dari Daun Kukang (*Lepisanthes amoena* (HASSK.) LEENH.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 10(2).
- Puspitasari, G., S. Murwani, dan Herawati. 2010. Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) terhadap Bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2036.T secara *In Vitro*.
- Rasyid, A. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus hermannii*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 4(2):360-368.
- Rastina, M. Sudarwanto, dan I. Wientarsih. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(2):197-225.
- Retnowati, Y., N. Bialangi, dan N.W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*, 6(2).
- Rijke, E. 2005. Trace Level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application to Plants of the Leguminosae Family. <http://dare.uvbu.vu.nl/> (diakses 12 Juni 2017)
- Roihanah, S., Sukoso dan Andayani. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In vitro*. *J. Exp. Life Sci*, 2(1):1-5.
- Salni, H.M., dan Ratna, W.M. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum Benth*) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *Jurnal Penelitian Sains*. 14 (1 D) 14109.
- Sari, I.P., M.A. Wibowo, dan S. Arreneuz. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria leucospilota*) Dari Pulau Lemukutan Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JKK*, 4(4):21-28.
- Saskiawan, I. dan N. Hasanah. 2015. Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan Senyawa Polisakarida Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1(5):1105-1109.
- Setyowati, W.A.E., S.R.D. Ariani, B. Mulyani, dan C.P. Rahmawati. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI* :271-280.
- Siregar, A.F., S. Agus, dan P. Delianis. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*, 1(2):152-160.
- Suharto, M.A., H.J. Edy, dan J.M. Dumanauw. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa

- Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). <https://ejournal.unsrat.ac.id/> (diakses 13 Juni 2017)
- Suryanto, E. 2007. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Flavonoid dari Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). *Jurnal MIPA Unsrat* . 2(1): 50-55.
- Tarman, K., S. Purwaningsih, dan A.A.P.P. Negara. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) Terhadap Bakteri Penyebab Diare. *JPHPI*, 16(3):249-258.
- Widyasanti, A., S. Hajar, dan D. Rohdiana. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teh Putih Terhadap Bakteri Gram Positif dan Negatif. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 18(1):55-60.