

UJI BIOAKTIVITAS EKSTRAK TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Bacillus cereus*

Shofiatun Nimah, Widodo Farid Ma'ruf^{*)}, Agus Trianto^{*)}

Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jln. Prof. H. Soedarto, SH Tembalang, Semarang, 50275, Telp/Fax: (024) 7474698

Abstrak

Holothuria scabra merupakan salah satu organisme yang berpotensi sebagai sumber bahan antibakteri alami. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi potensi ekstrak *H. scabra* sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus* serta pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak terhadap kedua bakteri tersebut. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran dengan berbagai konsentrasi (150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml) dan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif pada *H. scabra*. Hasil penelitian didapatkan bahwa ekstrak *H. scabra* terbaik adalah ekstrak etil asetat. Ekstrak etil asetat mempunyai daya hambat tertinggi terhadap bakteri *P. Aeruginosa* sebesar 6±0 mm, sedangkan terhadap *B.cereus* sebesar 2,3±0,58 mm pada konsentrasi 450 µg/ml. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya kandungan senyawa saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid dalam ekstrak.

Kata kunci: *H. scabra*, Antibakteri, Ekstrak

Abstract

Holothuria scabra is one of potential organism as a natural antibacterial agent. The purpose of the research is to explore antibacterial potency of *H. scabra* extracts to *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus* and the effect of different concentrations extracts to bacterials. The antibacterial activity test used wells method with various concentrations (150 µg/ml, 300 µg/ml and 450 µg/ml) and phytochemical test was used to determine the compound of *H. scabra*. The result showed that the most potent extract is ethyl acetate extract. Ethyl acetate extract of *H. scabra* showed highest inhibition zone on *P. Aeruginosa* (6 ± 0 mm), and *B.cereus* (2,3 ± 0,58 mm) at 450 µg/ml. Extract of *H. scabra* phytochemical test indicated the presence of saponins, alkaloids, steroids and triterpenoids in the extract.

Keywords: *H. scabra*, Antibacterial, Extract

1. Pendahuluan

Teripang pasir (*Holothuria scabra*) merupakan salah satu bahan alam yang kaya akan metabolit sekunder, diantaranya steroid, saponin, saponin, triterpenoid, glycosaminoglycan, lektin, alkaloid, fenol dan flavonoid

*) Penulis Penanggung Jawab

(Bordbar *et al.*, 2011). Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya, *H. scabra* dapat digunakan sebagai antikoagulan dan antitrombotik, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, antikanker dan antitumor, antibakteri, imunostimulan, antijamur, antivirus, antimalaria dan antirematik (Farouk *et al.*, 2007).

Berdasarkan beberapa penelitian *H. scabra* telah terbukti sebagai agen antibakteri yang potensial. Potensi ekstrak antibakteri dari *H. scabra* dapat berasal dari adanya agen antibakteri yaitu steroid (Bordbar *et al.*, 2011), saponin (Abraham *et al.*, 2002), dan triterpenoid (Farouk *et al.*, 2007).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Farouk *et al.* (2007), *H. scabra* berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri pembusuk diantaranya *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Klebsilla pneumonia*, dan *Escerecia coli*. Menurut Purwani *et al.* (2008), bakteri tersebut merupakan bakteri pembusukan pada ikan. Bakteri tersebut berpotensi menyebabkan pembusukan karena aktivitasnya dalam mendegradasi protein pada ikan. Protein digunakan bakteri untuk aktivitas metabolismenya. Pendapat tersebut diperkuat oleh Jay (2005), bakteri pembusuk yang terdapat pada ikan diantaranya adalah *Pseudomonas* (32-60%) dan *Bacillus* (<18%).

Pengawetan ikan perlu dilakukan agar ikan dapat tetap dikonsumsi dalam keadaan yang baik. Pada dasarnya pengawetan ikan bertujuan untuk mencegah bakteri pembusuk masuk ke dalam ikan. Kurangnya sosialisasi dan pendidikan nelayan, dewasa ini banyak nelayan yang menggunakan bahan antibakteri yang murah namun berbahaya bagi kesehatan, misalnya formalin. Formalin merupakan bahan kimia yang tidak diijinkan digunakan dalam makanan karena membahayakan kesehatan (Mahatmanti *et al.*, 2009).

Penelitian untuk mendapatkan antibakteri alami, perlu dilakukan karena sebagian besar bahan antibakteri yang beredar merupakan zat kimia berbahaya dan sifatnya tidak aman bagi tubuh. Antibakteri alami adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh bahan alam, yang dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas dan potensi antibakteri senyawa bioaktif ekstrak *H. scabra* terhadap bakteri pembusuk pada daging ikan, antara lain, *P. aeruginosa* dan *B. cereus*, sehingga dapat digunakan sebagai bahan antibakteri alami dan pengaruh konsentrasi ekstrak *H. scabra* terhadap aktivitas antibakteri *P. aeruginosa* dan *B. cereus*.

2. Bahan dan Metode Penelitian

Material:

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian mengenai aktivitas antibakteri yaitu teripang pasir *H. scabra* yang diambil dari Perairan Rembang. Tiga jenis pelarut yang digunakan adalah metanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksan (non polar). Bahan lain yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *B. cereus*, *P. aeruginosa*, asam asetat anhidrat, asam kloroform, aquades, pereaksi meyer, aluminium foil, logam magnesium, asam klorida pekat, asam asetat, asam sulfat pekat dan ferry klorida.

Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah *Rotary evaporator*, petri disk, tabung reaksi 20 mL, erlenmeyer 500 mL, gelas ukur, bunsen, neraca

analitik, autoclave, hot plate, incubator, pipet ukur, kulkas, kapas, ose, yellow tip, mikropipet, korek, pipet, boor pop, beaker glass, rak tabung reaksi, magnetic stirrer, kertas label, gunting, aluminium foil, tisu gulung, dan kertas pembungkus.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode *experimental laboratories* yaitu suatu metode yang digunakan untuk mendapatkan data-data yang dilakukan dengan percobaan di laboratorium dan pengamatan secara langsung, sistematis terhadap kejadian-kejadian obyek yang diteliti (Sudjana, 1989).

Penelitian pendahuluan dimulai dengan ekstraksi sampel dengan tiga pelarut berbeda, uji kontrol negatif, uji kandungan senyawa bioaktif, dan uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra* n-heksan, etil asetat, dan metanol untuk mengetahui zona hambat. Penelitian utama meliputi uji kontrol negatif dan uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra* dari ekstrak aktif untuk mengetahui zona hambat pada konsentrasi minimum.

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian Pendahuluan

Deskripsi Sampel

Hasil yang didapatkan dari karakterisasi sampel *H. scabra* disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Deskripsi Sampel *H. scabra*

No.	Kenampakan	Hasil Pengamatan
1.	Bentuk tubuh	Bulat panjang dengan permukaan kasar
2.	Warna	Coklat pada permukaan tubuh dengan bintik-bintik coklat tua, punggung berwarna abu-abu
3.	Berat (gr)	1288
4.	Panjang (cm)	35

H. scabra yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil tangkapan nelayan dari Perairan Rembang. Pengangkutan *H. scabra* menggunakan box *sterofoam* yang berisi es curai untuk mempertahankan kesegarannya. Deskripsi *H. scabra* sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Dewi *et al.* (2010), bentuk tubuh teripang bulat menyerupai ketimun, warna coklat dengan punggung berwarna abu-abu atau kehitaman dan berbintik-bintik. *H. scabra* yang digunakan pada penelitian ini lebih besar daripada yang digunakan Dewi *et al.* (2010), yaitu berat rata-rata hanya 300-500 gr dan panjang rata-rata 24-35 cm.

Ekstraksi Sampel

H. scabra dibersihkan dan dipisahkan antara daging dengan kulit dan jeroan. *H. scabra* diambil 100 g, kemudian digiling untuk diekstrak. Metode ekstraksi menggunakan metode maserasi tunggal. Sampel *H. scabra* yang telah digiling, direndam dengan masing-masing pelarut dengan perbandingan 1:3 (w/v) atau terendam sempurna. Perendaman dilakukan sebanyak 2 kali ulangan masing-masing 3x24 jam. Hasil filtrat yang terbentuk dievaporasi menggunakan *rotary*

evaporator pada suhu 38°C hingga terbentuk ekstrak kental dan sudah tidak tercium bau pelarut. Hasil proses ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Proses Ekstraksi *H. scabra*

Pelarut	Berat Sampel (gram)	Volume Filtrat (ml)	Berat Ekstrak (mg)	Bentuk	Warna
n-heksan	100	300	0	-	-
Etil asetat	100	300	403	Pasta	Kuning kecoklatan
Metanol	100	300	1023	Pasta	Kuning kecoklatan

Hasil ekstraksi didapatkan berat paling banyak terdapat pada ekstrak metanol sebesar 1023 mg dan pada pelarut n-heksan 0 mg. Hal ini dikarenakan sampel yang digunakan merupakan sampel basah (kandungan air tinggi), pelarut metanol bersifat polar yang dapat berikatan dengan air (polar), sedangkan n-heksan (non polar) tidak dapat berikatan dengan air (polar), sehingga n-heksan tidak dapat menarik senyawa bioaktif pada *H. scabra*. Menurut Hart (1987), metanol dapat menghasilkan rendemen ekstrak yang tinggi karena mampu membentuk ikatan hidrogen dan mudah bercampur atau mengikat air.

Uji Kontrol Negatif (Etil Asetat dan Metanol)

Hasil pengukuran daya hambat untuk kontrol negatif pelarut aquadest terhadap kedua bakteri uji, terlihat bahwa diameter daya hambat bernilai 0 mm untuk semua bakteri uji (*P. aeruginosa* dan *B. cereus*), yang berarti bahwa pelarut tidak memiliki senyawa antibakteri sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan dari ketiga bakteri uji yang menyebabkan tidak terbentuknya zona bening. Menurut Rifai dan Trianto (2003), uji kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut dalam pembentukan diameter zona hambat. Idealnya pelarut tidak boleh mempunyai pengaruh terhadap bakteri uji. Apabila pelarut memiliki daya hambat terhadap bakteri uji maka akan dikurangi dengan diameter daya hambat ekstrak sampel.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat dan metanol dari *H. scabra*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra* etil asetat dan metanol pada penelitian tahap I disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat dan metanol dari *H. scabra* setelah Inkubasi 24 dan 48 Jam (mm)

Ekstrak	Nama Bakteri	Inkubasi (Jam)	Diameter Daya Hambat (mm)		
			500 µg/ml	1000 µg/ml	1500 µg/ml
Etil asetat	<i>P. aeruginosa</i>	24	6,3 ± 0,58	6,3 ± 0,58	6,7 ± 0,58
		48	5,3 ± 0,58	5,3 ± 0,58	5,7 ± 0,58
	<i>B. cereus</i>	24	2,3 ± 0,58	2,3 ± 0,58	2,3 ± 0,58
		48	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
Metanol	<i>P. aeruginosa</i>	24	5,7 ± 0,58	5,7 ± 0,58	5,7 ± 0,58
		48	4,7 ± 0,58	4,7 ± 0,58	4,7 ± 0,58
	<i>B. cereus</i>	24	2,3 ± 0,58	2,3 ± 0,58	2,3 ± 0,58
		48	0,7 ± 0,58	0,7 ± 0,58	0,7 ± 0,58

Keterangan:

- Data tersebut telah dikurang diameter sumuran (7 mm)
- Data merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan ± standar deviasi

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian tahap I baik dari hasil ekstrak metanol maupun etil asetat memiliki daya hambat terhadap *P. aeruginosa* dan *B. cereus*, namun hasil daya hambat yang terbesar ditunjukkan pada ekstrak etil asetat. Hal ini disebabkan karena senyawa antibakteri pada *H. scabra* lebih banyak terlarut pada pelarut semi polar dibandingkan dengan pelarut polar. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tampubolon (1992), yaitu ekstrak *H. scabra* yang bersifat semi polar memiliki aktivitas antibakteri lebih kuat daripada ekstrak yang bersifat polar, ditunjukkan dengan diameter daya hambat yang lebih luas dihasilkan oleh ekstrak *H. scabra* yang bersifat semipolar.

Uji kandungan metabolit sekunder

Uji kandungan metabolit sekunder menggunakan metode uji fitokimia. Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak *H. scabra* secara kualitatif. Uji fitokimia dilakukan pada kedua ekstrak, yaitu ekstrak etil asetat dan metanol. Golongan senyawa yang diuji antara lain uji flavanoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenol, dan alkaloid. Hasil uji fitokimia disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak *H. scabra*

Uji	Etil asetat	Metanol	Keterangan
Flavonoid	-	-	Tidak ada perubahan warna merah ataupun orange
Saponin	v	v	Terbentuk busa
Steroid	v	v	Berwarna biru/ungu
Triterpenoid	v	v	Berwarna merah
Fenol	-	-	Tidak ada perubahan warna hijau ataupun biru
Alkaloid			
- Wagner	v	v	Terbentuk endapan putih
- Dragendorff	v	-	Terbentuk endapan merah atau jingga
- Meyer	v	-	Terbentuk endapan coklat

Keterangan:

- : Tidak ada dalam ekstrak
- v : Ada dalam ekstrak

Berdasarkan uji fitokimia dari ekstrak etil asetat positif mengandung saponin, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Metabolit sekunder pada ekstrak metanol mengandung saponin, steroid, triterpenoid, dan alkaloid (Wagner). Menurut Widyawati (2011), metanol secara efektif dapat mengekstrak senyawa polar, seperti flavonoid, fenolik dan saponin. Sedangkan etil asetat dilaporkan dapat mengekstrak senyawa saponin, alkaloid, triterpenoid, steroid dan flavonoid.

Kandungan metabolit sekunder dari ekstrak *H. scabra* baik etil asetat maupun metanol yang dominan yaitu saponin, steroid, dan triterpenoid. Senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Farouk *et al.* (2007), yang menyatakan bahwa metabolit sekunder dalam *H. scabra* yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri adalah golongan atau turunan dari senyawa terpenoid, diantaranya saponin, steroid, dan triterpenoid. Golongan senyawa tersebut memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sehingga sel tersebut rusak.

Senyawa alkaloid yang dihasilkan ekstrak *H. scabra* dapat berpotensi sebagai antibakteri karena dapat merusak dinding sel. Hal ini sesuai dengan pendapat menurut Lamothe (2009), mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati.

Penelitian Utama

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *H. scabra* Etil Asetat

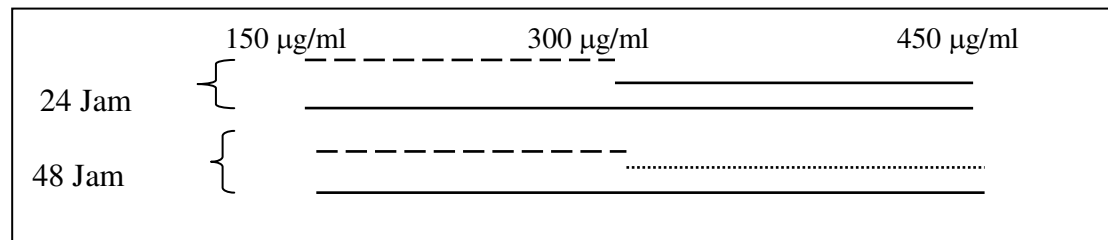
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra* etil asetat pada penelitian tahap II dengan konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml sebanyak 100 µl terhadap bakteri *P. aeruginosa* menggunakan metode sumuran disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *H. scabra* terhadap *P. aeruginosa* setelah Inkubasi 24 dan 48 Jam (mm)

Nama Bakteri	Inkubasi (Jam)	Ulangan	Diameter Daya Hambat (mm)		
			150 µg/ml	300 µg/ml	450 µg/ml
<i>P. aeruginosa</i>	24	1	3	4	6
		2	3	5	6
		3	3	4	6
Rata-rata ± SD			3±0	4,3±0,58	6±0
	48	1	2	4	5
		2	2	4	4
		3	2	3	4
Rata-rata ± SD			2±0	3,7±0,58	4,7±0,58

Keterangan:

– Data tersebut telah dikurang diameter sumuran (7 mm)



Keterangan:

- : data berbeda nyata (pada p < 0,05)
- : data tidak berbeda nyata (pada p > 0,05)
- : data berbeda sangat nyata (pada p < 0,01)

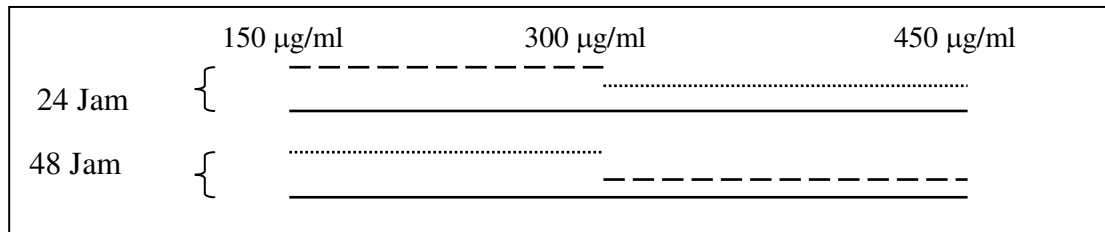
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra* etil asetat terhadap *B. cereus* pada inkubasi 24 dan 48 jam disajikan pada tabel 6.

Tabel 6. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *H. scabra* terhadap *B. cereus* setelah Inkubasi 24 dan 48 Jam (mm)

Nama Bakteri	Inkubasi (jam)	Ulangan	Diameter Daya hambat		
			150 µg/ml	300 µg/ml	450 µg/ml
<i>B. cereus</i>	24	1	0	1	2
		2	0	2	2
		3	1	2	3
	Rata-rata ± SD		0,3±0,58	1,7±0,58	2,3±0,58
	48	1	0	0	1
		2	0	1	2
		3	0	1	2
Rata-rata ± SD		0±0	0,7±0,58	1,7±0,58	

Keterangan:

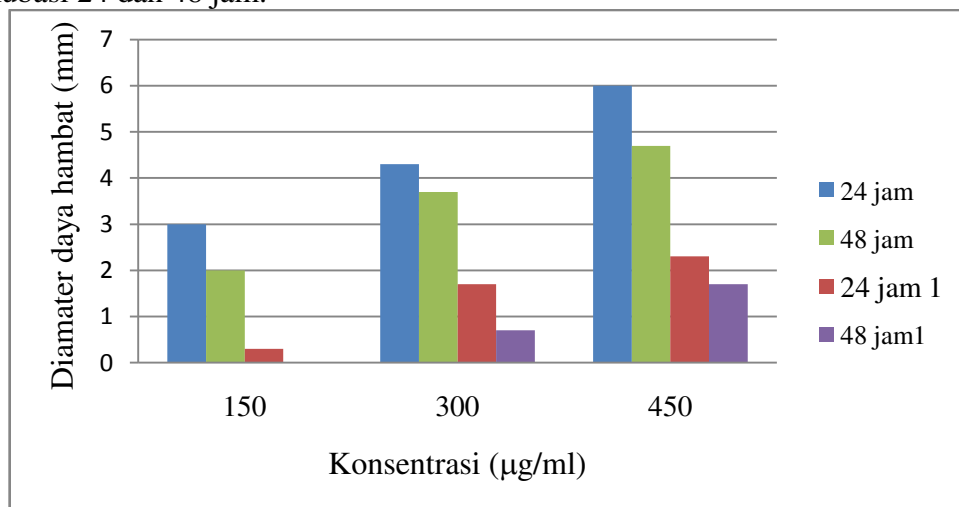
- Data tersebut telah dikurang diameter sumuran (7 mm)



Keterangan :

- : data berbeda nyata (pada $p < 0,05$)
- : data tidak berbeda nyata (pada $p > 0,05$)
- : data berbeda sangat nyata (pada $p < 0,01$)

Berikut adalah diagram batang yang menjelaskan perbedaan hasil uji daya hambat ekstrak *H. scabra* terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *B. cereus* dalam inkubasi 24 dan 48 jam.



Gambar 2. Diagram Batang Daya Hambat Ekstrak *H. scabra* setelah Diinkubasi 24 dan 48 Jam terhadap Bakteri *P. aeruginosa* dan *B. Cereus*

Keterangan :

- Jam : *P. aeruginosa*

- Jam1 : *B. cereus*

Diameter daya hambat yang terbesar adalah dari konsentrasi 450 µg/ml yaitu *P. aeruginosa* 6 ± 0 mm dan *B. cereus* $2,3 \pm 0,58$ mm. Aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra* terhadap *P. aeruginosa* termasuk kategori sedang, sedangkan *B. cereus* kategori lemah. Menurut Rita (2010), ada empat kategori daya hambat, yaitu kategori sangat kuat (≥ 20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm), dan lemah (≤ 5 mm).

Berdasarkan hasil penelitian tahap I dan utama pada inkubasi 48 jam diameter daya hambat pada masing-masing bakteri mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan oleh beberapa faktor. Faktor yang pertama yaitu pada saat inkubasi 48 jam bakteri mengalami fase *logaritmik* dimana pertumbuhan bakteri dua kali lipat dibanding fase *lag* (Pelczar dan Chan, 2005). Faktor yang kedua yaitu resistensi oleh bakteri dengan cara menurunkan permeabilitas sehingga antibakteri sulit masuk dalam sel, membentuk jalan pintas untuk menghindari tahap yang dihambat oleh antibakteri, dan meningkatkan produksi enzim yang dihambat oleh antibakteri (Khunaifi, 2010).

Ekstrak *H. scabra* lebih efektif pada bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif. Hal ini sesuai dengan penelitian Farouk *et al.* (2007), ekstrak antibakteri dari *H. scabra* lebih efektif menyerang bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif. Hal ini disebabkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis daripada bakteri gram positif. Menurut pendapat Pelczar dan Chan (2005), bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis yang terdiri dari 10% peptidoglikan, lipopolisakarida dan kandungan lipid tinggi (11-22%), sedangkan bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal yang terdiri dari 60-100% peptidoglikan dan lipid rendah (1-4%).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan maka dapat diambil kesimpulan yaitu ekstrak *H. scabra* memiliki potensi sebagai antibakteri, ekstrak terbaik yaitu ekstrak etil asetat yang mengandung saponin, steroid, triterpenoid, dan alkaloid, serta perbedaan konsentrasi berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra*.

Daftar Pustaka

- Abraham, T.J., Nagarajan J., dan. Shanmugan S.A. 2002. Antimicrobial Substances of Potential Biomedical Importance from Holothurian Species. [Indian Journal of Marine Science]. 161-164 hlm.
- Bordbar, S., Farooq A., dan Nazamid S. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods—A Review. [Marine Drugs Journal]. 1761-1805 hlm.
- Dewi, H.K., Devi S., Laili S., Masturoh M., dan Evi N.Y. 2010. Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi pada Proses Pemisahan Hasil Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) sebagai Sumber Testosteron Alami dan Antigen. [Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”]. Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Bengkulu. ISSN 1693 – 4393.

- Farouk, A.E., Faizal A.H.G., dan Ridzwan B.H.. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. [American Journal of Biochemistry and Biotechnology]. 64-69 hlm.
- Hart, H. 1987. Kimia Organik: Suatu Kuliah Singkat. Diterjemahkan oleh S. Achmadi. Erlangga, Jakarta.
- Jay, J. M. 2005. Modern Food Microbiology. Seventh Edition. p: 101-120. Springer Science, USA.
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Lamothe, R.G. 2009. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *Int. J. Mol. Sci* 10: 3400-3419.
- Mahatmanti, F.W., Warlan S., dan Wisnu S. 2009. Sintesis Kitosan dan Pemanfaatannya sebagai Antimikrobia Ikan Segar. [Jurnal Kimia]. Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Pelczar, M. J. dan Chan E.C.S. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. UI-Press, Jakarta.
- Purwani, E., Retnaningtyas, Dyah W. 2008. Pengembangan Pengawet Alami dari Ekstrak Lengkuas, Kunyit, dan Jahe pada Daging dan Ikan Segar. [Laporan penelitian] Fakultas Ilmu Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Rifai, A. dan A. Trianto. 2003. Penggunaan *Thin Layer Chromatography* untuk Mengidentifikasi Kandungan Bahan Bioaktif Antibakteri *Vibrio harvey* pada Karang Lunak *Sarcophyton* sp. [Laporan Penelitian]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rita, W.S. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). [Jurnal Kimia]. FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.
- Sudjana, 1989. Desain dan Analisis Eksperimen Edisi Ketiga. Tarsito, Bandung. 273 hlm.
- Tampubollon, K. 1992. Senyawa Antibiotik dari Teripang (*Holothuria* sp). [Jurnal Ilmiah]. FPIK IPB, Bogor.
- Widyawati, P.S. 2011. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) dan Fraksinya serta Kemampuan Mencegah Warmed Over Flavor pada Daging Itik yang telah Dipanaskan. [Tesis]. Program Pasca Sarjana. IPB, Bogor.