

DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/psnp.20031>

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang (*Stichopus variegatus*) Asal Kabupaten Lingga Terhadap *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes*

Antibacterial Activity of Sea Cucumber Extract (Stichopus variegatus) From Lingga Regency Against Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes

Elvita Rosianna Butar-Butar, Yulia Oktavia, Sri Novalina Afrizal*

¹Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan,
Universitas Maritim Raja Ali Haji, Tanjungpinang, 29111, Indonesia

*E-mail: srinovalinaa@umrah.ac.id

ABSTRAK

Pemanfaatan sumber daya laut sebagai antibakteri alami semakin banyak menarik perhatian salah satunya adalah teripang (*Stichopus variegatus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan saponin dan jenis saponin steroid dan untuk menguji aktivitas. Penelitian ini dilakukan beberapa tahap yaitu persiapan sampel, ekstraksi diperoleh melalui metode maserasi bertingkat dengan pelarut etil asetat pada perbandingan 1:3 (b/v), evaporasi, preparasi kultur bakteri uji. Parameter pengujian dilakukan identifikasi saponin secara kualitatif, identifikasi jenis saponin secara kualitatif dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan tiga variasi konsentrasi : 25%, 35%, dan 45%. Kontrol positif menggunakan antibiotik Trimethoprim Sulfamethoxazole. Kontrol negatif menggunakan pelarut etil asetat. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak mengandung saponin dan saponin steroid yang mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes*. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) dapat menghambat kedua *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes*. Aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi 45%, dengan rata-rata zona hambat sebesar $17,67 \pm 0,58$ mm terhadap *Listeria monocytogenes* dan $13,33 \pm 2,89$ mm terhadap *Salmonella typhimurium* mendekati efektivitas kontrol positif (20 mm). Zona hambat tidak terbentuk pada kontrol negatif, menandakan bahwa aktivitas antibakteri berasal dari senyawa aktif dalam ekstrak. Dengan demikian, ekstrak etil asetat teripang (*Stichopus variegatus*) asal kabupaten lingga berpotensi sebagai antibakteri alami terhadap penyakit makanan yang disebabkan oleh kontaminasi bakteri (*foodborne disease*).

Kata kunci: *Listeria monocytogenes*, difusi agar, teripang, *Stichopus variegatus*, *Salmonella typhimurium*

ABSTRACT

The utilization of marine resources as natural antibacterial agents has gained increasing attention, particularly sea cucumber (Stichopus variegatus). This study aimed to determine the saponin content and identify steroid saponin types, and to evaluate the antibacterial activity of sea cucumber (Stichopus variegatus) extract against Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes. The research was conducted in several stages including sample preparation, extraction through multilevel maceration using ethyl acetate at a ratio of 1:3 (b/v), evaporation, and preparation of test bacterial cultures. The testing parameters included qualitative identification of saponins, qualitative identification of saponin types, and antibacterial activity

assays using the disc diffusion method with three concentration variations: 25%, 35%, and 45%. Trimethoprim-sulfamethoxazole antibiotic was used as positive control, while ethyl acetate solvent served as negative control. Results demonstrated that the extract contained saponins and steroid saponins capable of inhibiting the growth of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. The findings revealed that sea cucumber (*Stichopus variegatus*) extract could inhibit both *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. The highest antibacterial activity was observed at 45% concentration, with mean inhibition zones of 17.67 ± 0.58 mm against *Listeria monocytogenes* and 13.33 ± 2.89 mm against *Salmonella typhimurium*, approaching the effectiveness of the positive control (20 mm). No inhibition zone was formed in the negative control, indicating that antibacterial activity originated from active compounds in the extract. Therefore, ethyl acetate extract of sea cucumber (*Stichopus variegatus*) from Lingga Regency demonstrates potential as a natural antibacterial agent against (foodborne diseases) caused by bacterial contamination.

Keywords: antibacterial, *Listeria monocytogenes*, agar diffusion, sea cucumber (*Stichopus variegatus*), *Salmonella typhimurium*.

PENDAHULUAN

Penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen dianggap sebagai masalah kesehatan global. Banyak kasus keracunan makanan yang terjadi akibat terkontaminasi oleh mikroba patogen seperti *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes* dan menyebabkan penyakit yang disebabkan oleh makanan terkontaminasi bakteri (*foodborne disease*). *Salmonella typhimurium* merupakan bakteri yang sering mengkontaminasi makanan daging unggas, telur dan produk susu. Sementara *Listeria monocytogenes* sering ditemukan dalam produk perikanan, termasuk ikan mentah, ikan asap, dan makanan laut beku. *Listeria monocytogenes* ditemukan pada sampel kerang hijau dan kerang darah di Indonesia yang menunjukkan potensi risiko kontaminasi (Rahayu *et al.* 2017). *Listeria monocytogenes* mengkontaminasi jamur enoki di Amerika dan Australia yang terjadi pada tahun 2020. *Salmonella typhimurium* mengkontaminasi susu mentah menyebabkan terjadinya wabah di Pennsylvania, Amerika Serikat yang terjadi pada tahun 2007. Putri *et al.* (2022), melaporkan pada jajanan somay di Banda Aceh menunjukkan 43,75% dari 16 sampel terkontaminasi *Salmonella* sp., dengan kontaminasi terbesar ditemukan pada siomay (25%) dan saus kacang (18,75%).

Tingginya kasus kontaminasi bakteri patogen pada produk pangan menuntut perlunya zat antibakteri untuk mencegah dan mengendalikan mikroba tersebut, seperti antibiotik sintetis, namun penggunaan antibiotik sintetis dalam produk pangan telah menyebabkan munculnya resistensi mikroba terhadap antibiotik, sehingga efektivitasnya semakin menurun. Resistensi ini tidak hanya mengancam keamanan pangan, tetapi juga berdampak pada kesehatan manusia.

Oleh karena itu, diperlukan alternatif yang bersifat alami, lebih aman, memiliki risiko resistensi yang lebih rendah, serta dapat diaplikasikan langsung pada produk pangan. Salah satu biota perairan yang memiliki sifat antimikroba adalah teripang laut karena memiliki senyawa bioaktif (Manoppo *et al.*, 2022). Senyawa bioaktif utama teripang yang bertindak sebagai antimikroba adalah saponin. Saponin memiliki sifat surfaktan alami yang dapat merusak membran sel bakteri dan menyebabkan kebocoran ion untuk metode ekstraksi dengan pelarut yang sesuai dengan karakteristik senyawa saponin (Rossalinda, *et al.*, 2021).

Jeroan teripang *Haloturia atra* di ekstraksi dengan pelarut metanol dapat mengikat senyawa saponin (Oktaviani *et al.*, 2015). Teripang yang diekstrak menggunakan pelarut etil asetat dan metanol mampu menarik senyawa saponin, sementara ekstrak teripang pasir menggunakan etil asetat memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan ekstrak methanol (Nimah *et al.*, 2022). Mewengkang *et al.* (2022), melaporkan bahwa yang mampu untuk menarik senyawa saponin dan memiliki zona hambat yang lebih besar adalah pelarut etil asetat. Berdasarkan kajian literatur yang didapat bahwa ekstrak etil asetat yang bersifat semi-polar menunjukkan efektivitas yang signifikan dalam mengekstraksi senyawa saponin sifatnya polar. *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes* menjadi fokus Penelitian ini untuk mendapatkan ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) dengan mengandalkan saponin sebagai sumber antibakteri alami.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu teripang (*Stichopus variegatus*), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytigenes* ATCC 14028, Mueller-Hinton Agar (MHA), Kertas cakram, Antibiotik *Trimetrophom-Sulfamethazole*, Etil asetat, Kertas Whatman No.1, Nutrien agar, Nutrien broth, Kloroform, Reagen libermant burchard (LB), dan HCL 2N. Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, Laminary airflow, Autoklaf, mikropipet, inkubator, Spektrofotometer, *Spreader glass*, ose, tabung reaksi, vortex, refrigerator, dan Cawan petri.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur aktivitas antibakteri dari ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) asal Desa Rejai Kabupaten Lingga terhadap *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes* dengan menggunakan Metode difusi Cakram.

Prosedur Kerja

Sebelum pengujian parameter uji, terdapat empat tahap proses yaitu, pertama proses pengampilan sampel dan persiapan sampel, ekstraksi sampel, ketiga evaporasi sampel dan keempat preparasi kultur bakteri uji.

Preparasi sampel dan persiapan sampel

Teripang (*Stichopus variegatus*) yang digunakan sebagai sampel (segar) berasal dari Desa Rejai, Kabupaten Lingga yang diperoleh dari hasil tangkapan nelayan. Sampel dibawa ke Laboratorium Universitas Maritim Raja Ali Haji dengan wadah styrofoam yang dilapisi dengan kain lalu diberi es batu. Sampel dibersihkan dan dipisahkan antara bagian daging dengan jeroannya. Selanjutnya, daging teripang dipotong menggunakan gunting dengan ukuran ± 1 cm. Karakterisasi morfologi meliputi analisis terhadap beberapa parameter, yaitu panjang tubuh, berat tubuh, warna tubuh, struktur tubuh, serta bentuk tubuh (Hartati *et al.*, 2015). Sedangkan rendemen merupakan suatu ukuran yang menunjukkan perbandingan antara hasil yang diperoleh dengan jumlah bahan baku yang digunakan dalam suatu proses akhir. Hasil rendemen teripang ditentukan dengan rumus:

$$\text{Rendemen\%} = \frac{\text{Bahan baku awal}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$$

Ekstraksi sampel

Proses ini bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel dengan memanfaatkan pelarut yang sesuai. Sampel teripang yang dihaluskan akan dimaserasi. Proses ekstraksi dilakukan melalui proses maserasi bertingkat dengan memanfaatkan pelarut etil asetat dengan rasio 1:3 (b/v) selama 24 jam dengan pengadukan sekali 6 jam. Setelah 24 jam, larutan hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 untuk memisahkan antara filtrat dari bagian residu. Residu yang diperoleh kemudian dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat baru dengan rasio yang sama (1:3) selama 24 jam.

Evaporasi

Hasil filtrat yang diperoleh akan di evaporasi menggunakan oven pada suhu 40°C. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dan ditempatkan di refrigerator pada suhu 4°C.

Preparasi Kultur Bakteri

Persiapan proses ini mengacu pada penelitian Rosmania *et al.* (2020), kultur murni bakteri target yang akan inokulasikan pada media Nutrient Agar (NA) menggunakan ose dengan penggoresan tunggal. Lalu di inkubasi selama 22 jam - 26 jam pada suhu 37°C.

Kemudian bakteri target diambil 3-5 koloni menggunakan ose steril kedalam tabung Nutrien Broth (NB), lalu vortex hingga homogen. Suspensi bakteri di inkubasi selama 22 jam – 26 jam pada suhu 37°C. Pengukuran absorbansi suspensi bakteri target dilakukan dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm, suspensi dengan nilai absorbansi 0,341 umumnya berkorelasi dengan standar McFarland 3,0 yang mengindikasikan konsentrasi sel bakteri sekitar $9,0 \times 10^8$ CFU/mL (McFarland, 2012). Apabila sudah memenuhi standar bakteri sekitar $9,0 \times 10^8$ CFU/mL (McFarland, 2012), maka akan dilanjutkan ketahap proses pengujian.

Parameter Uji

Parameter pengujian dilakukan yaitu pengujian saponin secara kualitatif, Identifikasi jenis senyawa saponin dan pengujian aktivitas antibakteri.

Uji Senyawa Saponin (Uji Kualitatif)

Uji Komponen senyawa saponin secara analisis kualitatif dibuktikan melalui pengamatan indikator busa untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin dalam suatu sampel. Metode uji senyawa saponin mengacu pada (Mien et al., 2015) dilakukan dengan menyiapkan ekstrak sampel sebanyak 0,1g ke dalam tabung reaksi yang ditambahkan 10 mL air panas, lalu dikocok selama kurang lebih 1 menit. Suatu senyawa diindikasikan positif mengandung saponin ditunjukan terbentuknya busa yang stabil tidak kurang dari 5 menit setinggi 1 hingga 3 cm, dan ketika diberi setetes asam klorida 2 N tidak hilang. Dilakukan 3x pengujian dalam satu sampel (triplo).

Identifikasi Uji Jenis Saponin

Identifikasi jenis senyawa saponin dilakukan metode kualitatif dengan mengamati perubahan warna. Metode ini mengacu pada penelitian Bintoro et al. (2017), dimana sebanyak 0,1g ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi kloroform 9 mL. Campuran tersebut ditambahkan 1mL air panas lalu dikocok kemudian diberi 2 tetes reagen Lieberman Burchard (LB). Munculnya cincin berwarna coklat atau ungu mengindikasikan keberadaan saponin triterpenoid, sementara terbentuknya cincin berwarna hijau atau biru menandakan adanya saponin steroid. Dilakukan 3x pengujian dalam satu sampel (triplo).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas zona hambat yang dihasilkan oleh sampel ekstrak teripang terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* dan bakteri *Listeria monocytogenes*. Pengujian ini mengacu pada penelitian (Manoppo et al., 2007) dengan metode difusi kertas cakram. Suspensi bakteri *Salmonella typhimurium* dan

bakteri *Listeria monocytogenes* dengan (standar McFarland 0,5) diinokulasikan sebanyak 50 μL secara merata pada permukaan media MHA menggunakan spreader glass dan dibiarkan selama 10 menit. Trimethoprim, Sulfamethoxazole dengan konsentrasi 30 ppm dijadikan sebagai kontrol positif sedangkan pelarut etil asetat dijadikan sebagai kontrol negatif. Kertas cakram berdiameter 6 mm ditetaskan sebanyak 20 μL sampel berdasarkan variasi konsentrasi ekstrak uji, yaitu 25%, 25%, dan 45%. Setiap konsentrasi sampel dilakukan 3x pengujian. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 22 jam hingga 26 jam. Setelah inkubasi, zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur dengan penggaris pada 3 arah berbeda.

Analisis Data

Hasil analisis data disajikan secara deskriptif melalui tabel dan gambar. Selain itu, dilakukan analisis komparatif dengan membandingkan hasil penelitian ini terhadap hasil penelitian sebelumnya yang berkaitan dengan aktivitas antibakteri.

HASIL DAN BAHASAN

Morfologi Teripang (*Stichopus variegatus*)

Teripang (*Stichopus variegatus*) merupakan sampel berupa segar yang digunakan dalam penelitian ini yang didapat dari hasil tangkap nelayan dari Desa Rejai, Kabupaten Lingga, Kepulauan Riau. Amin dan Thalib (2024), menyatakan bahwa teripang (*Stichopus variegatus*) memiliki tubuh yang memanjang menyerupai silinder, dengan permukaan yang lembut dan elastis. Teripang mempunyai bintik-bintik berwarna hitam di sekujur tubuhnya, tubuh hewan ini terdiri atas dua bagian utama, yaitu bagian anterior (depan) tempat mulut berada, dan bagian posterior (belakang) yang merupakan tempat anus.

Teripang dalam penelitian ini termasuk jenis teripang (*Stichopus variegatus*) yang memiliki bentuk tubuh yang lunak, berbentuk silindris memanjang, permukaan dorsal kasar dengan tonjolan-tonjolan papila yang menonjol. Teripang ini memiliki warna tubuh berupa cokelat dengan bercak-bercak gelap, serta panjangnya mencapai 40-45 cm dan lebarnya mencapai 6-8 cm.

Rendemen Ekstrak Teripang (*Stichopus variegatus*)

Rendemen merupakan persentase hasil ekstrak yang diperoleh dari bahan baku setelah melalui proses ekstraksi. Rendemen ini penting untuk menunjukkan efisiensi proses ekstraksi dan potensi kandungan senyawa aktif dalam bahan yang digunakan. Pada penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan terhadap teripang (*Stichopus variegatus*) segar dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut etil asetat. Berdasarkan hasil pengukuran, bobot awal bahan

baku teripang segar yang digunakan adalah sebanyak 1347.32 gram. Setelah melalui proses ekstraksi dan penguapan pelarut, diperoleh ekstrak kental dengan berat akhir sebesar 15,12 gram atau 1,12%.

Uji Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan hewan laut seperti teripang. Senyawa ini dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk sebagai antibakteri. Berdasarkan pengujian senyawa saponin secara kualitatif terhadap ekstrak etil asetat teripang (*Stichopus variegatus*) dari desa rejai kabupaten lingga diperoleh hasil bahwa terdapat pembentukan busa stabil. Hasil ini menunjukkan reaksi positif terhadap uji saponin. Selain itu, pada saat dilakukan penambahan beberapa tetes HCl 2N dan dikocok kembali, busa tetap bertahan, menguatkan dugaan adanya kandungan saponin dalam ekstrak etil asetat teripang (*Stichopus variegatus*).

Berdasarkan pengujian senyawa saponin secara kualitatif terhadap ekstrak etil asetat teripang (*Stichopus variegatus*) dari desa rejai kabupaten lingga diperoleh hasil bahwa terdapat pembentukan busa stabil. Hasil ini menunjukkan reaksi positif terhadap uji saponin. Selain itu, pada saat dilakukan penambahan beberapa tetes HCl 2N dan dikocok kembali, busa tetap bertahan, menguatkan dugaan adanya kandungan saponin dalam ekstrak etil asetat teripang (*Stichopus variegatus*). Marpaung *et al.* (2018), melaporkan bahwa terbentuknya busa disebabkan oleh sifat amfipatik saponin, yang terdiri dari dua bagian utama, yaitu bagian aglikon (hidrofobik) berupa inti steroid atau triterpenoid yang disebut sapogenin, dan bagian glikosida (hidrofilik) berupa gugus gula. Ketika larutan dikocok, molekul saponin akan membentuk lapisan film pada antarmuka air dan udara, di mana bagian hidrofilik larut dalam air sementara bagian hidrofobik menghadap ke udara, hal ini menyebabkan terbentuknya gelembung udara atau busa yang stabil. Saponin juga menurunkan tegangan permukaan air, sehingga gelembung udara yang terbentuk tidak mudah pecah. Busa yang tetap stabil setelah penambahan HCl menunjukkan bahwa busa tersebut bukan disebabkan oleh protein atau senyawa lain, melainkan memang berasal dari keberadaan saponin dalam ekstrak.

Debang (2019), melaporkan bahwa ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan pelarut methanol dan pelarut etil asetat menunjukkan reaksi positif terhadap uji saponin, ditandai oleh pembentukan busa setinggi 1,5 cm yang stabil selama 15 menit. Oktaviani *et al.* (2015), melaporkan bahwa saponin diindikasikan positif dengan munculnya busa setinggi 2 cm yang menandakan bahwa adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis berubah menjadi glukosa. Septiadi *et al.* (2013), melaporkan bahwa

ekstrak teripang keling (*Holothuria atra*) yang diperoleh menggunakan pelarut etil asetat dan metanol dinyatakan positif mengandung senyawa saponin dengan timbunya busa. Busa tersebut tidak hilang setelah 15 menit meskipun telah ditetesi HCl, yang merupakan indikator khas keberadaan saponin. Ekstrak yang menggunakan pelarut non-polar seperti n-heksan tidak menunjukkan adanya pembentukan busa, sehingga dinyatakan negatif terhadap saponin, disebabkan karena kelarutan saponin yang sifatnya polar dalam pelarut non-polar tidak dapat menarik senyawa saponin. Hal ini menunjukkan bahwa jenis pelarut sangat memengaruhi efisiensi ekstraksi saponin dari bahan alam.

Uji Jenis Saponin

Saponin secara umum dapat dibedakan menjadi dua kelompok utama berdasarkan struktur aglikonnya, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. salah satu jenis saponin yang memiliki struktur dasar steroid (C27) sebagai aglikon (bagian non-gula). Teripang (*Stichopus variegatus*) yang diekstrak menggunakan etil asetat dari asal Desa Rejai Kabupaten Lingga menunjukkan hasil positif saponin steroid karena perubahan warna pada lapisan antarmuka antara kloroform dan asam sulfat yang menunjukkan warna hijau.

Teripang (*Stichopus variegatus*) yang diekstrak menggunakan etil asetat dari asal Desa Rejai Kabupaten Lingga menunjukkan hasil positif saponin steroid karena perubahan warna pada lapisan antarmuka antara kloroform dan asam sulfat yang menunjukkan warna hijau kekuningan. Fransiska *et al.* (2021), melaporkan bahwa terjadinya perubahan warna karena adanya reaksi antara struktur inti sterol dalam saponin steroid dengan reagen Liebermann–Burchard yang terdiri atas asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Ketika campuran reagen ditambahkan ke dalam larutan ekstrak dalam kloroform, terjadi protonasi dan pembentukan karbokation terkonjugasi pada struktur sterol, yang selanjutnya membentuk kompleks berwarna. Warna hijau yang muncul dan menetap merupakan indikator khas keberadaan senyawa steroid, berbeda dengan saponin triterpenoid yang umumnya menghasilkan warna merah atau jingga dalam uji yang sama.

Teripang (*Holothuria scabra*) yang diekstrak menggunakan methanol dan etil setat setelah diuji secara kualitatif dengan reagen Liebermann–Burchard menghasilkan perubahan warna warna hijau kebiruan yang menandakan bahwa positif mengandung senyawa saponin tipe steroid (Debang, 2019). Ekstrak etil asetat teripang gamat (*Stichopus variegatus*) dan mengujinya secara kualitatif menggunakan uji reagen Liebermann–Burchard menunjukkan terbentuknya warna hijau yang menandakan hasil positif terhadap keberadaan senyawa steroid dan pendekatan kromatografi lapis tipis (KLT) dan uji warna. Hasil penelitian menyebutkan bahwa sebagian

besar saponin dari spesies teripang menghasilkan warna hijau, yang menunjukkan konsistensi struktur steroid (Meydia *et al.*, 2016). Widyawati (2011), melaporkan bahwa etil asetat yang bersifat semipolar mampu mengekstrak saponin (polar) dan saponin steroid (non-polar) secara efektif. Pelarut metanol hanya efektif pada tahap awal ekstraksi, sedangkan heksana yang bersifat non-polar tidak mampu melarutkan senyawa saponin maupun saponin steroid.

Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengukur kemampuan suatu bahan atau senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Pengukuran daya hambat dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona bening ini menunjukkan area di mana pertumbuhan bakteri terhambat oleh ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*). Hasil pengujian zona hambat ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes* disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil diameter zona hambat ekstraksi teripang (*Stichopus variegatus*) terhadap bakteri uji *Listeria monocytogenes* dan *Salmonella typhimurium*

Table 1. Results of the inhibition zone diameter of sea cucumber (*Stichopus variegatus*) extraction against test bacteria *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*

Konsentrasi	Rataan $\pm$ Standar Deviasi Ø zona bening (mm)	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
25%	15,33 $\pm$ 0,58	2,67 $\pm$ 4,62
35%	15,67 $\pm$ 0,58	9,17 $\pm$ 1,04
45%	17,67 $\pm$ 0,58	13,33 $\pm$ 2,89
Kontrol (+)	20,00 $\pm$ 1,56	18,23 $\pm$ 2,45
Kontrol (-)	0	0

Keterangan :

*Kontrol (-) Etil asetat

*Kontrol (+) Sanprima Trimethoprim dan Sulfamethoxazol.

*Hasil diatas sudah dikurangi diameter paper disc 6 mm.

Keanekaragaman (H'), Keseragaman (E') dan Dominansi (D) serta Mortalitas (M) dari seluruh stasiun yang diamati, diperoleh nilai indeks keanekaragaman, keseragaman dan dominansi terumbu karang (Tabel 4). Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri pada menunjukkan hasil rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak etil asetat teripang (*Stichopus variegatus*) asal Desa Rejai Kabupaten Lingga pada berbagai konsentrasi terhadap dua jenis bakteri uji memiliki zona hambat dengan kategori lemah hingga kuat. Emelda

et al. (2021), menetapkan kategori zona hambat berdasarkan ukuran diameter inhibisi, kategori tersebut meliputi sangat kuat ($>20-30$ mm), kuat ($10-20$ mm), sedang ($5-10$ mm), dan lemah (≤ 5 mm). Terlihat bahwa pada konsentrasi 25% menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih lebih besar terhadap *Listeria monocytogenes* $15,33 \pm 0,58$ mm (kategori kuat) dibandingkan *Salmonella typhimurium* $2,67 \pm 4,62$ mm (kategori lemah). Pada konsentrasi 35% zona hambat terhadap *Listeria monocytogenes* mencapai $15,67 \pm 0,58$ mm (kategori kuat) dan terhadap *Salmonella typhimurium* sebesar $9,17 \pm 1,04$ mm (kategori sedang). Sementara konsentrasi 45% daya hambat terhadap *Listeria monocytogenes* meningkat menjadi $17,67 \pm 0,58$ mm (kategori kuat) dan terhadap *Salmonella typhimurium* sebesar $13,33 \pm 2,89$ mm (kategori kuat) mendekati efektivitas kontrol positif yaitu *Sanprima Trimethoprim Sulfamethoxazol* sebesar (20,00 mm). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak teripang maka semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan sehingga dapat dikatakan diameter zona hambat berbanding lurus dengan tingkat konsentrasi (Dwicahtyani *et al.*, 2017). Kontrol negatif (etil asetat) tidak menunjukkan adanya zona hambat pada kedua bakteri, yang menegaskan bahwa aktivitas antibakteri berasal dari senyawa aktif dalam ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*).

Hasil penelitian ini menunjukan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian terdahulu. Ekstrak teripang keling (*Holothuria atra*) dengan konsentrasi 2,5%, 5%, memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 3,32 mm – 6,98 mm dan 7,5% dan terhadap *Escherichia coli* berkisar antara 2,40 mm – 5,93 mm, yang termasuk dalam kategori lemah hingga sedang (Dwicahtyani *et al.*, 2018). Ekstrak jeroan teripang (*Holothuria atra*) pada bakteri *Vibrio harveyi* menghasilkan diameter zona hambat 7,79 mm pada konsentrasi 10.000 ppm, kategori sedang (Oktaviani *et al.*, 2015). Ekstrak teripang gamat (*Stichopus variegatus*) dari Kepulauan Mentawai terhadap menghasilkan nilai rata-rata pada bakteri *Streptococcus viridans* paling tinggi pada konsentrasi 2,5% yaitu 8,45 mm kategori sedang (Fadha *et al.*, 2017). Perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu kondisi geografis biota dan lingkungan perairan, variasi spesies bakteri uji, konsentrasi uji dan umur teripang.

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) asal Desa Rejai Kabupaten Lingga terhadap kedua bakteri uji ini dipengaruhi oleh adanya senyawa

saponin dan saponin steroid. Nurmaulawati *et al.* (2024), melaporkan bahwa saponin merupakan senyawa Utama yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan melalui mekanisme merusak integritas membran sel bakteri. Saponin yang sifatnya amfifatik yang mempunyai bagian hidrofilik dan bagian hidrofobik melibatkan interaksi dengan sterol atau fosfolipid dalam membran sel, sehingga membentuk pori-pori yang meningkatkan permeabilitas, menyebabkan kebocoran isi sel, disorganisasi membran, hingga lisis sel. sedangkan saponin tipe steroid memiliki struktur inti steroidal yang cenderung lebih lipofilik, kemampuannya mengganggu struktur membran lipid, di mana sensitivitas bakteri terhadap komponen steroid dapat menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al.*, 2017). Interaksi antara steroid dengan membran fosfolipid sel yang permeabel terhadap senyawa lipofilik ini dapat menurunkan integritas membran, mengubah morfologi membran sel, hingga menyebabkan sel menjadi rapuh dan mengalami lisis (Sapara *et al.*, 2016). Hasil zona bening dapat dilihat pada gambar 8.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etil asetat teripang (*Stichopus variegatus*) terhadap bakteri *Listeria monocytogenes* (Gram positif) lebih besar dibandingkan dengan bakteri *Salmonella typhimurium* (Gram negatif) disebabkan karena struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel berupa peptidoglikan yang tipis (ketebalan 2-7 nm) yang dilapisi oleh lapisan lipopolisakarida yang terletak di antara membran sitoplasma dan membran luar. Bakteri Gram negatif mengelilingi membran sitoplasmik mereka dengan dinding sel peptidoglikan dan membran luar dengan lapisan luar yang terdiri dari lipopolisakarida (LPS) mempunyai lipid A, core oligosakarida, dan O-antigen yang berfungsi sebagai barrier permeabilitas selektif. Struktur LPS ini dapat menghambat penetrasi senyawa antimikroba, terutama senyawa hidrofobik dan molekul berukuran besar. Selain itu, bakteri Gram negatif memiliki ruang periplasmik yang mengandung enzim β -laktamase dan protein transport yang dapat mengurangi efektivitas senyawa antibakteri (Brown *et al.*, 2017). *Listeria monocytogenes* (Gram positif) memiliki struktur dinding sel yang relatif sederhana namun tebal, dengan lapisan peptidoglikan yang dapat mencapai ketebalan 20-80 nm. Lapisan peptidoglikan bersifat porous dengan pori-pori berukuran 2-3 nm yang memungkinkan molekul untuk melewatinya. Peptidoglikan terdiri dari komponen gula yang mengandung residu N-asetilglukosamin (NAG) dan asam N-asetilmuramat (NAM) yang saling berikatan, dengan rantai oligopeptida yang melekat pada asam N-asetilmuramat. Struktur peptidoglikan yang mengandung gugus amino dan karboksil membuatnya bersifat polar dan hidrofilik, sehingga mudah berinteraksi dengan molekul polar (DwicaHyani *et al.*, 2018). Bakteri Gram positif tidak memiliki membran luar dan ruang

periplasmik, sehingga tidak terdapat barier tambahan yang dapat menghalangi penetrasi senyawa antimikroba ke dalam sel. Oleh karena itu, senyawa aktif dalam ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) seperti saponin dan saponin steroid lebih mudah menembus peptidoglikan yang bersifat polar. Saponin memiliki aglikon dengan tingkat lipofilisitas yang berbeda dan rantai gula yang sangat hidrofilik, menjadikan saponin sebagai surfaktan alami yang memungkinkan interaksi efektif dengan struktur polar peptidoglikan pada bakteri Gram positif.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji, ekstrak teripang (*Stichopus variegatus*) asal Desa Rejai Kabupaten Lingga memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Listeria monocytogenes* dan *salmonella typhimurium* pada 3 variasi konsentrasi 25%, 35% dan 45%. Zona hambat tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi 45% terhadap *Listeria monocytogenes* dengan diameter sebesar $17,67 \pm 0,58$ mm, diikuti oleh zona hambat terhadap *Salmonella typhimurium* pada konsentrasi 45% sebesar $13,33 \pm 2,89$ mm. Konsentrasi 35% menghasilkan zona hambat sebesar $15,67 \pm 0,58$ mm terhadap *Listeria monocytogenes* dan $9,17 \pm 1,04$ mm terhadap *Salmonella typhimurium*. Sedangkan pada konsentrasi 25%, zona hambat yang dihasilkan terhadap *Listeria monocytogenes* adalah $15,33 \pm 0,58$ mm, dan terhadap *Salmonella typhimurium* adalah $2,67 \pm 4,62$ mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Agidew, M, G. 2022. Phytochemical analysis of some selected traditional medicinal plants in Ethiopia. *Bulletin of the National Research Centre* 46:(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00770-8>
- Amin, A., & Thalib, B. 2024. *Marine of dentistry pemanfaatan Stichopus hermanni dalam bidang kedokteran gigi*. PT. Nas Media Indonesia. 119 Halaman.
- Anriany, A, Y., Weiner, M, R., Jhonson, A, J., & Rezende, DE, E, C. 2000. *Salmonella enterica serova typhimurium* DT104 displays a rugose phenotype. *Applied and Enviromental Mikrobiology*. 67(9): 4048-4056.
- Augustin J, M., Kuzina V., Andersen, S, B., & Soren, B, S. 2011. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*. PMID. 72(6): 435-57. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.015>
- Baharuddin, M., Ahmad, R., & Ismail, N. 2021. Mechanism of action of saponins as antibacterial agents: a review. *Journal of Applied Microbiology*. 130(3): 763-778.
- Bintoro, A., Ibrahim, M. A., & Situmewang, B. 2017. Analisis dan identifikasi senyawa saponin dari daun bidara (*Zhizipus mauritania*). *Jurnal Itekimia*. 2(1): 84-94.
- Bordbar, S., Anwar, F., & Saari, N. 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods - a review. *Marine Drugs*. 9(10): 1761-1805.

- Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., & Swaminathan, B. 2000. *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*. 38(7): 2465-2467.
- Brown, S., Santa Maria Jr, J. P., & Walker, S. 2013. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. *Annual review of microbiology*. 67(1) 313-336.
<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155620>
- Debang, V, A, P. (2019). Uji aktivitas ekstrak teripang (*Halothuria scabra*) terhadap bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Universitas Brawijaya.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, S., & Rianingsih, L. 2018. Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 7(1): 15-24.
- Fransiska, A, N., Masyrofah, D., Marlian, H., Sakina, V, I., & Tyasna, S, P. 2021. Identifikasi senyawa terpenoid dan steroid pada beberapa tanaman menggunakan pelarut n-heksan. *Jurnal Health Sains*. 2(6): 2723-4339.
- Grimont, P. A. D., Weill, F. X. 2007. *Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars (9th ed.)*. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. 166 halaman.
- Giotis, S, E., Blair, S, I., & Mcdowell, A, D. 2007. Morphological changes in *Listeria monocytogenes* subjected to sublethal alkaline stress. *International Journal of Food Microbiology*. 120(2007): 250-258.
- Farhan, M., Rizvi, A., Aatif, M., & Ahmad, A. *Current understanding of flavonoids in cancer therapy and prevention*. *Metabolites*. 2023; 13 (4): 481. <https://doi.org/10.3390/metabo13040481>
- Hartati, R., Widianingsih., & Fatimah, U. 2015. Re-Deskripsi Teripang *Stichopus hermanni* Dari Kepulauan Karimunjawa Melalui Analisa Morfologi, Anatomi. *Jurnal Kelautan Tropis September*. 18(2): 70-75.
- Intharuksa, A., Kuljarusnont, S., Sasaki, Y., & Tungmunthum, D. 2024. Flavonoid dan polifenol lainnya: molekul bioaktif dari resep obat tradisional/tanaman obat dan potensinya untuk aplikasi fitofarmaka dan medis. *Molekul*, 29 (23), 5760.
<https://doi.org/10.3390/molecules29235760>
- Jawetz., Melnick., & Edelberg's. 2001. *Medical Microbiology 22nd Ed*. McGraw-Hill Companies Inc. New York. Halaman 235-237.
- Khan, A. U., Dagur, H. S., Khan, M., Malik, N., Alam, M., & Mushtaque, M. D. 2021. Therapeutic role of flavonoids and flavones in cancer prevention: Current trends and future perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. 3: 100010.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2021.100010>
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. 2020. Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*. 12(2): <https://doi.org/10.3390/nu12020457>
- Kusmiyati., & Agustina, S. W. N. 2006. Uji Aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *porphyridium cruentum*. *Jurnal Biodiversitas*. 8 (1) : 48-53.
- Manoppo, E. S., Wewengkang, D. S., & Kojong, N. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak teripang *Halothuria edulis* yang diperoleh dari teluk manado. 6(4): 2302-2493.
- Marpaung, P, M., Romelan. 2018. Analisis jenis dan kadar saponin ekstrak metanol daun

- kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan menggunakan metode gravimetri. *Jurnal Farmasi Lampung*. 7(2): 81-86.
- Madduluri S., Rao K.B., Sitaram B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 5(4): 679-84.
- McFarland, J. 2012. Nephelometer: an instrument for media used for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *J Am Med Assoc*. 14:1176-8.
- Mewengkang, T. T., Lintang, J. A. R., Losung, F., Sumilat, A. D., & Lumingas, L. J. L. 2022. Identifikasi senyawa bioaktif dan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak teripang (*Halothuria atra*) Jaegar 1833 asal perairan pantai Kalasey, Minahasa. *Jurnal Ilmiah Platax*. 10(2): 355-363. <https://doi.org/10.35800/jip.v10i2.42271>
- Mien, J. D., Carolin, A. W., & Firhani, A. P. 2015. Penetapan kadar saponin pada ekstrak daun lidah mertua (*Sansievera Trifasciata Prainvarietas S. Laurentii*) secara gravimetri. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*. 2(2): 65-69.
- Mir, S. A., Dar, A., Hamid, L., Nisar, N., Malik, J. A., Ali, T., & Bader, G. N. 2024. Flavonoids as promising molecules in the cancer therapy: An insight. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*. 6: 100167. <https://doi.org/10.1016/j.crphar.2023.100167>
- Nimah, S., Ma'ruf, F.W., & Trioanto, A. 2012. Uji bioaktivitas ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 1(2): 9-17.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal teknologi Hasil Peternakan*. 1(2):41-46.
- Nurmaulawati, R., & Andani, Y. 2024. Antibacterial Test of Green Ranti Fruit Extract against *Escherchia coli* and *Staphylococcus aureus*. *JURNAL PENGEMBANGAN ILMU DAN PRAKTIK KESEHATAN*. 3(3):2830-4594.
- Oktaviani, D., Mulyani, Y., & Rochima, E. 2015. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak jeroan teripang *Holothuria atra* Dari Perairan Pulau Biawak Kabupaten Indramayu. *Jurnal Perikanan Kelautan*. 6(1): 1-6.
- Osuagwu, G. G. E., & Eme, C. F. 2013. The phytochemical composition and antimicrobial activity of *Dialium guineense*, *Vitex doniana* and *Dennettia tripetala* leaves. *Asian J Nat Appl Sci*. 2(3): 69-81.
- Prescott, L.M., Harley, J. P., & Klein, D.A. 2005. Microbiology. sixth international edition. *Mcgraw-Hill Publishing Company UK*. 2(4): 652-668.
- Putri, D, S, O., Novita, A., Jamin, F., Sari, E, W., & Fahrimal, Y. 2022. Deteksi *Salmonella* sp. pada jajanan siomay. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veterine*. 6(4): 194-205.
- Purwanti, L. 2015. *Isolasi dan identifikasi parsial bakteriofag litik serta potensinya sebagai biokontrol bakteri patogen Salmonella Typhimurium*. PhD Thesis. Universitas Brawijaya. 120 Halaman.
- Rasyid, A. 2012. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol teripang *Stichopus hermani*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 4(2):

360-368.

- Roihanah, S., Sukosa., & Andayani, S. 2012. Aktivitas antibakteri ekstrak teripang *Holothuria* sp. terhadap bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In vitro*. *The Journal of Experimental Life Science*. 2(1): 1-5.
- Rosalinda., Wijayanti, F., & Iskandar, Damayanti. 2021. Efektivitas ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*) sebagai antibakteri *Staphylococcus epidermis*. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 3(1): 1-8. {Bibliography}
- Rosmania., & Yanti, F. 2020. Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 22(2): 76-86.
- Sapara, T.U., Olivia W., & Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT Manado*. 5(4): 2302-2493.
- Santiago, L. M., Neto, R, N, M., Santos Ataíde, A.C., Fonseca, D, C, S, C., Soares, E, F, A., Sousa, D, S, J, C., & Sousa, D, E, M. 2021. Flavonoid, alkaloid, dan saponin: apakah senyawa-senyawa yang berasal dari tumbuhan ini merupakan alternatif pengobatan artritis reumatoid? Sebuah tinjauan pustaka. *Clinical Phytoscience*. 7(1): 58.
<https://doi.org/10.1186/s40816-021-00291-3>
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45(4): 287-306.
- Smith, J., Petrovic, P., Rose, M., De Souza, C., Muller, L., Nowak, B., & Martinez, J. 2021. Uji fitokimia dan aktivitas antijamur ekstrak teripang keling (*Holothuria atra*) dari pantai bandengan jepara terhadap jamur *candida albicans*. Placeholder Text: A Study. *The Journal of Citation Styles*, 3. <https://doi.org/10.10/X>
- Sudarmi, M., Damayasa, G. B. I., & Muksin, K. 2017. Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Simbiosis*. (2): 47-51.
- Tilaoui, M., Ait Mouse, H., & Zyad, A. 2021. Update and new insights on future cancer drug candidates from plant-based alkaloids. *Frontiers in Pharmacology*. 12: 719694. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.719694>
- Tjampakasari, C. R. 2021. Bakteri gram positif *Listeria monocytogenes* sebagai penyebab Food-borne disease. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. 48(1): 401-501.
- Wang, X., Ma, Y., Xu, Q., Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Flisyuk, E. V., Duez, P., Liu, M., Li, H., Vargas-Murga, L., & Duez, P. 2023. Flavonoids and saponins: What have we got or missed?. *Phytomedicine*. 109:154580.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154580>
- Vazquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Dominguez-Bernal, G., Goebel, W., González-Zorn, B., Wehland, J., & Kreft, J. 2001. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical Microbiology Reviews*. 14(3): 584-640.
- 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.

- Won, G., & Lee, H, J. 2017. *Salmonella typhimurium*, the major causative agent of foodborne illness inactivated by a phage lysis system provides effective protection against lethal challenge by induction of robust cell-mediated immune responses and activation of dendritic cells. *Research article*. 48(66): 2-12. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0474-x>
- Yennie, Y., & Gunawan, Ariyani, F. 2021. Prevalensi dan tingkat kontaminasi *Listeria monocytogenes* di tambak dan unit pengolahan udang vaname (*Litopenaeus vanammei*) untuk pasar ekspor. *JPB Kelautan dan Perikanan*. 16(2): 83-92.