

**IDENTIFIKASI TESTOSTERON PADA HASIL EKSTRAKSI
PERKOLASI TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra* J)**

Kurnia Harlina Dewi

Program Studi Teknologi Industri Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu
Jl. Raya Kandang Limun
Bengkulu 38371

ABSTRAK

Testosteron merupakan salah satu steroid hormon laki-laki yang dapat diekstrak dari teripang pasir. Penelitian ini bertujuan mengkaji metode ekstraksi perkolasi pada teripang pasir. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, aseton, metanol-kloroform dan kloroform. Rasio bahan yang akan diekstrak dan pelarut yang digunakan adalah dalam perbandingan 1:1, 1:2 dan 1:3. Teripang pasir terlebih dahulu dikarakterisasi dan dianalisis peroksimat. Pengamatan dilakukan terhadap berat ekstrak, berat testosteron, kemurnian testosteron serta analisis kuantitatif dan kualitatif testosteron (uji warna, KLT, HPLC, Uv-Vis spektrofotometer dan FT-IR). Kandungan kimia tepung teripang pasir (*Holothuria scabra* J) adalah kadar air $10,81 \pm 2,01$ % (bk), kadar abu $42,43 \pm 4,24$ % (bk), kadar lemak $1,83 \pm 0,27$ % (bk) dan kadar protein $29,81 \pm 0,29$ % (bk). Analisis kualitatif dan kuantitatif secara simultan menunjukkan bahwa hasil ekstrak teripang mengandung testosteron.

Kata kunci: ekstraksi, perkolasi, testosteron

LATAR BELAKANG

Salah satu hasil laut yang mempunyai nilai penting adalah teripang dengan nama lain *teat fish*, *sea cucumber* ataupun ginseng laut. Komoditi teripang yang hanya diekspor dalam bentuk kering, banyak diminati sebagai makanan kesehatan karena dapat meningkatkan vitalitas bagi laki-laki. Hal ini berkaitan dengan kandungan asam amino yang lengkap [1] dan kandungan hormon steroid pada teripang [2] [3] [4] [5].

Teripang segar mengandung testosteron lebih banyak dari pada teripang kering [5], sedangkan bagian tubuh teripang yang paling banyak mengandung steroid adalah daging

teripang dibandingkan dari testis dan jeroan. Protein berupa enzim yang terdapat pada teripang antara lain alkaline protease [6], arginin kinase [7], bromelin dan *alcase* [8]. Protein sebagai antibodi terlihat dari kandungan senyawa aktif, sebagai antibakteria [9] [10], anti fungi [11] [12], anti kanker, antikoagulan [13]. Protein pada teripang mempunyai asam amino. Fredalina *et al.* (1998) [14] menyatakan asam lemak dominan penyusun teripang adalah EPA (25,69%), olet (21,98%) dari hasil ekstraksi menggunakan PBS. Ekstraksi menggunakan air memberikan kandungan DHA (57,55%), linoleat (12,59%). Teripang juga mengandung asam lemak linoleat sebesar 0,119% dan arakhidonat 0,128% [1]. Selain itu, terdapat 60 jenis sterol bebas pada teripang pasir [3].

Dengan demikian terlihat keunggulan kandungan kimia teripang sebagai makanan kesehatan, mengandung omega 3 (linolenat, EPA dan DHA) dan omega 6 (linoleat dan arakhidonat). Potensi pemanfaatan ekstrak teripang sebagai sumber testosteron alami sangat besar, namun belum banyak dilakukan identifikasi pada hasil ekstrak. Kajian ini menumpukan perhatian pada identifikasi testostosterone pada hasil ekstrak teripang, dengan metode ekstraksi perkolasi

METODE PENELITIAN

Karakterisasi dan Analisis Bahan Baku Teripang Pasir

Tahapan awal penelitian ini adalah melakukan karakterisasi dan analisis proksimat bahan baku. Teripang yang akan diekstrak terlebih dahulu dikarakterisasi jenis dan umur teripang berdasarkan kriteria berat dan panjang teripang. Hal ini sangat penting karena berat dan panjang teripang menggambarkan umur teripang yang menentukan keberadaan testosteron. Testosteron terdapat pada teripang yang sudah dewasa atau matang gonad, dapat diamati dari berat (200-500 g) dan panjang (25-35 cm). Teripang yang telah memenuhi kriteria, dibersihkan dan dipisahkan antara daging teripang dan jeroan, dicuci dan digiling, selanjutnya dilakukan analisa proksimat.

Identifikasi Testosteron pada Hasil Ekstraksi Perkolasi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

Ekstraksi Teripang Pasir Secara Perkolasi

Ekstraksi secara perkolasi merupakan ekstraksi dengan merefluks bahan dengan memanaskan campuran bahan dan pelarut secara bersamaan, dimana di atas campuran diletakan kondensor balik. Kondisi ini menjadikan pelarut yang menguap akan terkondensasi kembali (*refluks*) ke dalam campuran bahan dan pelarut. Proses ekstraksi berjalan efektif karena pemanasan dapat mempercepat kelarutan dan pengadukan meningkatkan kontak bahan dengan pelarut. Teripang segar yang telah digiling, ditimbang sebanyak 100 g, dimasukkan ke dalam erlemeyer dan ditambahkan pelarut dengan berbagai rasio sesuai dengan perlakuan, dan dilakukan pemanasan sampai suhu 50°C selama 4 jam.

Hasil ekstraksi dievaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* dan ditimbang. Hasil yang diperoleh merupakan berat hasil ekstrak, selanjutnya dilakukan penyabunan untuk mendapatkan testosteron. Analisis kualitatif dan kuantitatif testosteron dilakukan dengan uji warna metode Lieberman Burchard dan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 240 nm.

Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Hasil Ekstraksi

Analisis kualitatif testosteron dapat mengetahui keberadaan steroid/testosteron pada hasil ekstrak, yakni dengan uji warna (metode Lieberman Burchard), Kromatografi Lapis Tipis/KLT dan FT-IR. Setelah diketahui ada atau tidaknya steroid, dilanjutkan dengan analisis kuantitatif yang menunjukkan jumlah seberapa banyak testosteron pada hasil ekstrak. Analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis serta HPLC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J)

Karakterisasi teripang dilakukan terlebih dahulu pada bahan baku yang diperoleh sebelum digunakan. Teripang pasir yang digunakan berasal dari Perairan Bengkulu, berbentuk bulat, panjang seperti ketimun, dengan punggung abu-abu atau kehitaman berbintik putih atau kuning, di seluruh permukaan tubuh diselimuti lapisan kapur. Tubuh teripang kesat, berotot tebal dengan kulit berbintik-bintik. Karakteristik ini sesuai dengan karakteristik teripang pasir (*Holothuria scabra* J) [15].

Kriteria teripang telah dewasa atau matang gonad sangat penting untuk bahan baku ekstraksi sebagai sumber testosteron alami karena teripang telah dewasa atau matang gonad, sudah mulai memproduksi hormon-hormon reproduksi untuk melangsungkan kegiatan reproduksi. Oleh karena itu, pada teripang telah dewasa (matang gonad) sebagai bahan baku, sudah terdapat hormon reproduksi, sehingga jika diekstrak akan diperoleh hormon tersebut.

Bentuk dan warna teripang pasir yang digunakan ini sejalan dengan hasil karakteristik teripang pasir pada penelitian Riani *et al.* (2008) [5], dalam mengekstrak testosteron dari teripang, yakni teripang berwarna abu-abu sampai kehitaman, dengan garis melintang berwarna hitam. Teripang pada penelitian ini lebih besar (300-500 g/ekor), dibandingkan teripang yang digunakan Riani *et al.* (2008), dengan berat rata-rata 130,54 g dan panjang lebih 19,85 cm.

Selain itu, karakteristik teripang yang digunakan juga sesuai dengan karakteristik teripang yang digunakan Nurjanah (2008) [1] dalam mengekstrak steroid, dengan berat 200-500 g dan panjang lebih dari 19 cm. Berat daging adalah $44,63 \pm 12,54\%$ dari berat teripang segar, berat testis $5,00 \pm 0,17\%$ dari berat teripang segar dan jeroan ($28,13 \pm 1,89$ g/g, bk dari berat teripang segar).

Identifikasi Testosteron pada Hasil Ekstraksi Perkolasi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

Analisa Kimia Bahan Baku

Analisa kandungan kimia teripang yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan air, lemak, protein, kadar abu dari teripang yang digunakan sebagai bahan baku ekstraksi. Hasil analisa secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis proksimat teripang pasir segar

Komponen	Hasil	Wibowo <i>et al.</i> 1997	Riani <i>et al.</i> 2008
Air (%)	88,99	86,73	80,72
Abu (%), bk	31,43	48,30	47,61
Lemak (%), bk	4,18	4,07	4,51
Protein (%), bk	38,96	46,42	43,41

Komposisi kimia teripang segar yang digunakan relatif sama dengan peneliti lain [15] [5] Perbedaan kandungan kimia yang tidak besar dapat disebabkan oleh perbedaan musim, lingkungan lokasi asal teripang dan faktor genetis.

Kandungan abu yang tinggi (31,43% teripang segar dan 42,43 pada tepung teripang) disebabkan oleh di seluruh permukaan tubuh diselimuti lapisan kapur. Teripang termasuk salah satu hewan berkulit duri atau *Echinodermata*, tetapi duri-duri berukuran sangat kecil sehingga tidak dapat dilihat oleh mata biasa. Duri-duri teripang tersebar dalam lapisan epidermis, merupakan butir-butir kapur mikroskopis.

Kadar protein yang tinggi (39,09%) memberikan nilai gizi baik sebagai makanan. Protein di dalam tubuh dapat berupa cadangan makanan, zat pembangun dan zat pengatur (enzim, antibodi, dan lain-lain). Teripang mengandung asam amino yang lengkap, baik asam amino esensial maupun asam amino non esensial. Asam amino sangat berguna dalam sintesa protein pada pembentukan otot dan dalam pembentukan hormon androgen, yakni testosteron yang berperan di dalam reproduksi, baik meningkatkan libido maupun pembentukan spermatozoa.

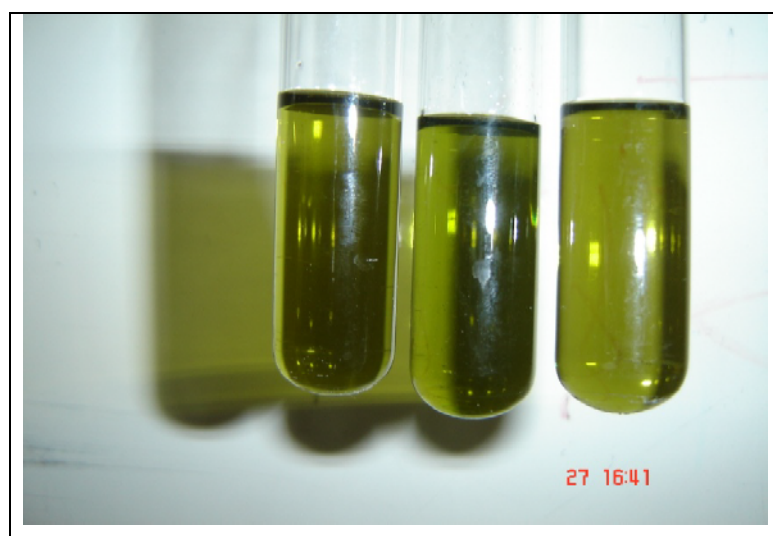
Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Testosteron

Analisis Kualitatif Testosteron

Analisis kualitatif testosteron pada hasil ekstrak teripang dilakukan secara bertahap, diawali dengan uji warna untuk menunjukkan keberadaan steroid (ada atau tidak). Selanjutnya dilakukan analisis dengan KLT, mendeteksi keberadaan testosteron pada hasil ekstrak teripang berdasarkan kesamaan Rf dengan standar testosteron. Pengujian kualitatif dilanjutkan dengan menggunakan FT-IR untuk melihat keberadaan gugus-gugus fungsional yang mencirikan testosteron.

Analisis kualitatif steroid dengan Uji Warna.

Pengamatan uji warna pada hasil ekstraksi teripang dapat dilihat pada Gambar 1, memberikan warna hijau. Hasil uji warna ini menunjukkan bahwa ekstrak mengandung steroid. Warna hijau disebabkan oleh terjadinya polimerisasi lemak tak jenuh dalam medium asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Hasil yang diperoleh sejalan dengan hasil uji warna steroid dari cacing laut, steroid dari lintah laut dan steroid dalam kerang hijau, yang juga menunjukkan hasil uji warna yang sama yaitu berwarna hijau.



Gambar 1- Hasil analisis kualitatif steroid dengan uji warna

Identifikasi Testosteron pada Hasil Ekstraksi Perkolasi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

Analisis kualitatif testosteron dengan KLT

Analisis kualitatif testosteron menggunakan KLT merupakan pemisahan komponen berdasarkan interaksi spesifik komponen tersebut dengan fase diam relatif terhadap fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah lapis tipis adsorbens dan fase gerak adalah metanol kloroform (1:2), berdasarkan azas kapiler, sambil membawa serta komponen-komponen yang akan dipisahkan. Tiap komponen akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda dan akhirnya terpisah dalam bentuk noda noda yang saling terpisah. Pemisahan noda hasil ekstraksi dibandingkan dengan pemisahan noda standar testosteron.

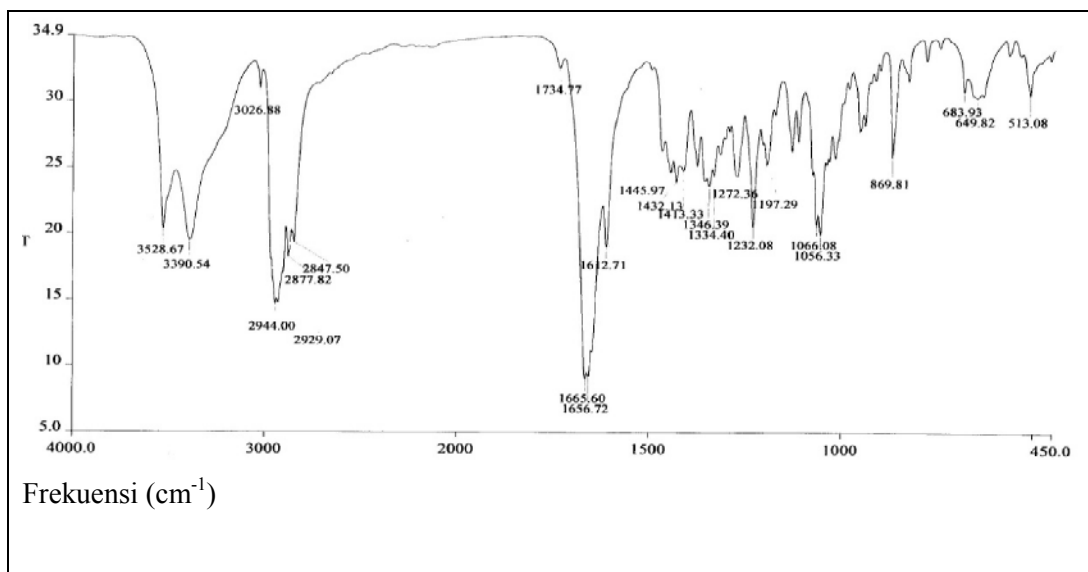
Hasil analisis kualitatif menggunakan KLT, dengan membandingkan nilai R_f yang diperoleh dari hasil ekstraksi teripang dan R_f yang diperoleh dari standar testosteron (Acros). Nilai R_f dari steroid hasil ekstraksi teripang adalah 0,096, sedangkan nilai R_f dari testosteron standar adalah 0,095. Nilai R_f yang diperoleh dari hasil ekstraksi teripang mendekati nilai R_f testosteron, menunjukkan bahwa hasil ekstraksi teripang pasir yang diperoleh mengandung testosteron.

Analisis kualitatif testosteron dengan FT-IR

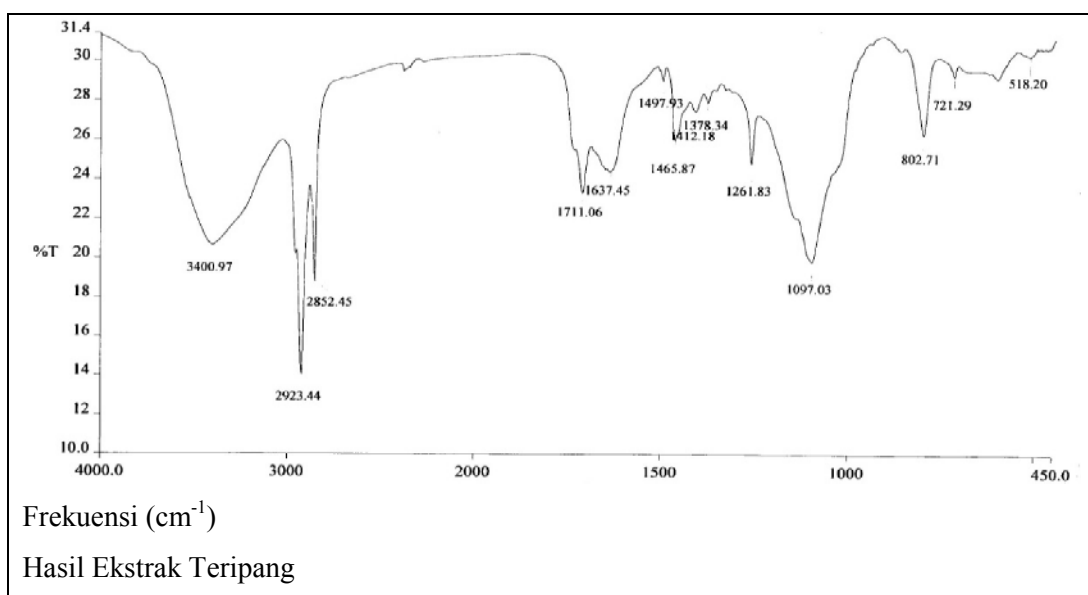
Analisis kualitatif testosteron dengan menggunakan FT-IR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsioanl yang mencirikan testosteron. Gugus-gugus fungsional pada suatu senyawa jika dilalui sinar infra red akan tervibrasi dan terotasi, berdasarkan ini gugus fungsi diketahui. Setiap ikatan kimia yang berbeda seperti C-C, C=C, C≡C dan C=O, O-H mempunyai frekuensi vibrasi yang berbeda-beda. Plot antara transmitans dengan frekuensi, hasil ekstrak dan standar testosteron menggunakan FT-IR terlihat berupa spektrum dengan pita serapannya (Gambar 2). Spektrum standar dan hasil ekstrak menampakkan pola yang hampir sama, yang membedakan adalah tingkat ketajaman pita serapan. Spektrum pada standar testosteron memperlihatkan pita serapan yang lebih tajam dan jelas dibandingkan pada hasil ekstraksi. Hal ini mencerminkan tingkat kemurnian bahan, dimana pada standar testosteron tingkat kemurnian tinggi, sedangkan pada hasil ekstrak tingkat kemurniannya rendah.

Kurnia Harlina Dewi

Interpretasi spektrum infra red diawali dengan memeriksa puncak absorpsi dari gugus fungsional utama, seperti C-C, C=C, C≡C dan C=O, O-H. Gugus fungsional utama yang diperiksa adalah gugus karbonil (C=O), puncak pada kisaran 1600-1820, standar testosteron terdapat spektrum tajam ($1665,60$ dan $1656,72$ cm^{-1}) dan pada hasil ekstrak terdapat pita serapan tidak tajam pada frekuensi $1637,45$ cm^{-1} . Adanya pita serapan ini menunjukkan bahwa pada standar testosterone dan hasil ekstrak terdapat gugus karbonil (C=O).



Standar Testosteron (ACROS)



Gambar 2- Spektrum hasil FT-IR testosteron standar dan hasil ekstrak

Identifikasi Testosteron pada Hasil Ekstraksi Perkolasi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

Pita serapan lain terlihat pada frekuensi 3317,03 cm^{-1} (hasil ekstrak) dan 3314,00 cm^{-1} (standar testosteron). Menurut Creswell (1982) gugus fungsi alkohol sekunder dicirikan dengan pita serapan pada frekuensi 3600-3200 cm^{-1} , maka pada hasil ekstrak dan testosteron terdapat gugus fungsi karbonil sekunder C=O. Ikatan lain yang mencirikan testosteron adalah ikatan rangkap C=C, pada standar testosteron ditemukan pada frekuensi 880,05 cm^{-1} dan pada hasil ekstrak pada frekuensi 879,98 cm^{-1} . Gugus ini juga ditemukan sebagai penciri testosteron yang diisolasi dari terung susu (*Solanum mammosum*). Interpretasi spektrum FT-IR dan hasil ekstrak secara ringkas disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Interpretasi spektrum IR standar testosteron dan hasil ekstrak teripang

Frekuensi Standar (cm-1)	Frekuensi Ekstrak (cm-1)	Gugus fungsi	Creswell, 1982
3528,57 3390,54 3026,88	3400,97	Alkohol sekunder >CH - O - H C-H (stretching)	3300 - 3600 3010 - 3095
2944,00 2929,07	2923,44	C = O Aldehid C-H	3000 - 2900
2877,82 2847,50	2852,45	Alkana CH ₃ - C	2853 - 2962
1734,77	1711,06	Gugus C=O	1760
1665,60 1656,72 1612,71	1637,45	Alkena C=C Keton	1600-1680 1650- 1730
1445,97	1497,93	Alkana CH ₃ - C	1375 - 1450
1432,13 1413,33	1465,87 1412,18	Alkena >C = CH	1465
1066,08 1056,33	1097,03	Eter	1000 - 1300
869,81	802,71	Aromatik non	790 - 840
683,93	721,29	simil	680 - 725

Kurnia Harlina Dewi

649,82			
513,08	518,20		

Analisis Kuantitatif Testosteron

Analisis kuantitatif testosteron pada hasil ekstrak teripang dilakukan untuk mengetahui jumlah testosteron pada hasil ekstrak. Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan HPLC, yang berkaitan dengan deteksi awal dengan analisa kualitatif pada alat yang sama.

Analisis Kuantitatif Testosteron dengan Spektrofotometer UV-Vis

Pengamatan dengan spektrofotometer diawali dengan penentuan panjang gelombang yang tertinggi dalam menentukan kadar standar testosteron. Panjang gelombang 240 nm merupakan panjang gelombang tertinggi yang mampu mendeteksi testosteron tertinggi. Pengamatan pada panjang gelombang tersebut digunakan untuk mengidentifikasi testosteron pada hasil ekstrak teripang. Sebelum mengamati testosteron pada hasil ekstrak, terlebih dahulu dibuat kurva standar testosteton, selanjutnya pengamatan pada hasil ekstrak dilakukan dan dibandingkan dengan standar testosteron. Kurva standar testosteron dibuat dengan mengamati pembacaan ($\text{absorbansi}/A^{\circ}$) dari berbagai konsentrasi testosteron (mg/ml), diplot ke dalam grafik sehingga diperoleh hubungan antara absorbans dengan konsentrasi. Selanjutnya dilakukan pengamatan testosteron pada hasil ekstrak, diplot atau disubstitusikan ke dalam kurva standar Hasil analisis kuantitatif testosteron mendapatkan berat testosteron 2,85 mg.

Analisis Kuantitatif testosteron dengan HPLC

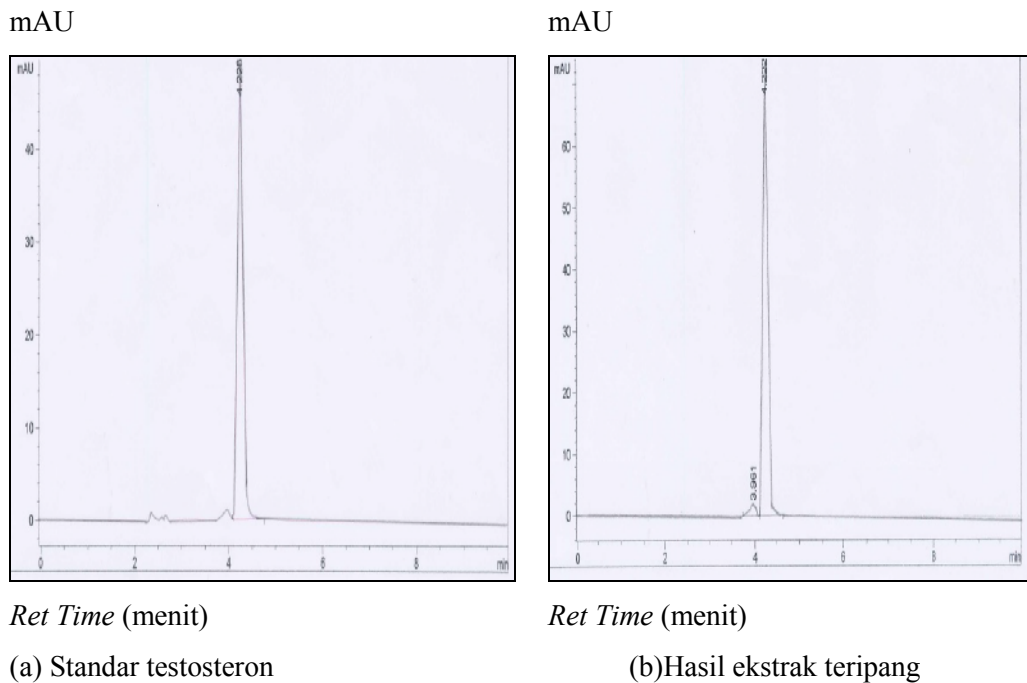
Analisis kualitatif testosteron pada hasil ekstrak teripang menggunakan HPLC, mengikuti pemisahan komponen yang dilalukan pada kolom (fase diam) altex ultrasphere Si ukuran 10 mm (D) x 25 cm dengan eluen (fase mobil) kloroform : metanol (5:1) pada panjang gelombang 240. Hasil analisis terlihat pada Gambar 3. Metode HPLC bersifat relatif,

Identifikasi Testosteron pada Hasil Ekstraksi Perkolasi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

artinya diperlukan standar yang identitasnya diketahui dengan pasti. Dasar analisis kualitatif pada HPLC adalah waktu retensi, yaitu lamanya waktu yang diperlukan untuk mengelusi suatu komponen dalam kolom. Dengan membandingkan waktu retensi standar dan waktu retensi komponen menunjukkan komponen tersebut sama dengan standar.

Hasil analisis dengan HPLC dari standar testosteron ($C_{19}H_{28}O_2$, BM 288,42, ACROS ORGANICS (katalog 164410050) dan hasil ekstrak teripang terlihat pada Gambar 3(a) dan 3(b). Dari kedua gambar tersebut terlihat bahwa ekstrak teripang mengandung testosteron yang waktu retensi/elusinya (*Ret Time*) sama dengan waktu retensi standar. Waktu retensi standar testosteron menunjukkan *peak* (puncak) pada pembacaan 4,228 menit, sedangkan waktu retensi ekstrak teripang menunjukkan puncak pada menit 4,228. Hasil ini menunjukkan bahwa pada hasil ekstrak terdapat testosteron karena mempunyai waktu retensi yang sama dengan standar testosteron.

Untuk mengetahui jumlah testosteron yang telah terdeteksi pada analisis kualitatif perlu dibuat kurva standar testosteron. Kurva standar dibuat dengan mengamati luas *peak* pada berbagai konsentrasi standar, diplot ke dalam grafik sehingga diperoleh persamaan yang menunjukkan hubungan luas puncak dan konsentrasi. Hasil analisis kuantitatif dengan HPLC menunjukkan testosteron pada hasil ekstrak sebesar 0,002 mg/ml (392,96 mAU*s) pada standard sebesar 1,826 mg/ml (357,774 mAU*s). Stonik *et al* 1998 [3] dengan menggunakan HPLC menemukan rasio sterol $C_{27} : C_{28} : C_{29} \approx 1,5 : 1 : 25$ dari ekstrak teripang pasir, selanjutnya Ponomarenko *et al* pada 2000 [2] berhasil mengidentifikasi sterol bebas menggunakan HPLC dari holothurians lain.



Gambar 3. Analisis kualitatif dan kuantitatif dengan HPLC

KESIMPULAN

1. Karakterisasi teripang menunjukkan teripang yang diekstrak telah dewasa kelamin, sehingga telah memproduksi hormon testosteron yang dapat diekstrak secara perkolasi.
2. Hasil analisis kualitatif (uji warna dan KLT) dan analisis kuantitatif (UV-Vis, HPLC, dan lain-lain) pada hasil ekstraksi teripang pasir secara perkolasi menunjukkan pada hasil ekstrak terdapat testosteron.

SARAN

Setelah melakukan penelitian ini maka perlu dikaji lebih lanjut tentang pengaruh suhu dan lama ekstraksi pada proses ekstraksi teripang pada skala yang lebih besar (pilot plan)

Identifikasi Testosteron pada Hasil Ekstraksi Perkolasi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

agar kondisi ekstraksi steroid teripang mendekati skala produksi industri serta dapat menjembatani proses produksi ke arah industri.

PENGHARGAAN

Penulis mengucapkan terimakasih pada Jabatan Kejuruteraan Kimia dan Proses, Universiti Kebangsaan Malaysia atas kolaborasi riset IPB-UKM, serta Prof Ir. Dr. Wan Ramli Wan Daud Pengarah pada Institut Fuel Cell-UKM atas segala bantuan yang diberikan sehingga riset ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Nurjanah, Sarifah. 2008. Identifikasi Steroid Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) dan Pemanfaatannya Sebagai Sumber Steroid Alami (Disertasi). Bogor: Sekolah Pascasarjana, IPB
- [2] Ponomarenko L P., A I. Kalinovsky, O P. Moiseenko, V A. Stoni, [Free sterols from the holothurians *Synapta maculata*, *Cladolabes bifurcatus* and *Cucumaria* sp.](#) Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, Volume 128, Issue 1, January 2001, 53-62.
- [3] Valentine A. Stonik, L P. Ponomarenko, T N. Makarieva, V M. Boguslavsky, A S. Dmitrenok, S N. Fedorov, S A. Strobikin, [Free sterol compositions from the sea cucumbers *Pseudostichopus trachus*, *Holothuria \(Microtele\) nobilis*, *Holothuria scabra*, *Trochostoma orientale* and *Bathyplotes natans*](#), Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, Volume 120, Issue 2, June 1998, P 337-347
- [4] Kustiariah. 2006. Isolasi dan Uji Aktivitas Biologis Senyawa Steroid dari Teripang Sebagai Aprodisiaka alami (Thesis). Bogor : Sekolah Pascasarjana, IPB
- [5] Riani, ETTY, Khaswar Syamsu dan Kaseno, M.Eng. Pemanfaatan Steroid Teripang Sebagai Aprodisiaka Alami dan untuk Pengembangan Budidaya Perikanan. Laporan eksekutif Hibah Penelitian Pascasarjana-HPTP. IPB
- [6] Xue-Yan Fu, Chang-hu Xue. 2005a. *Study of alkaline protease extracted from digestive tract of sea cucumber (*Stichopus japonicus*)*. Food Research Inter. V (38):323-329
- [7] Xue-Yan Fu, at al. Chang-hu Xue. 2005b. *Characterization of protease from the digestive track of sea cucumber (*Stichopus japonicus*)*. Journal Aquaculture, In Press, Correted Proof
- [8] Haug T, Anita K.K, Olaf B.S, Erling S, Orjan M.O and Klara S. 2002. *Antibacteria activity in *Strongylocentrotus droebachoensis* (*Echi noidea*), *Cucumaria frondosa* (*Holothuroi dea*), and *Asteria rubrns* (*Astroideae*)*. J. of invertebrate pathology (81):94-102. Academic. Press

- [9] Villasin and Christopher M.Pomory. 2000. Antibacterial activity of extracts from the body wall of *Parastichopus parvimensis* {Echinodermata: Holothuroidea). *J. Fish & Shellfish Immunology*. V (10):465-467
- [10] Ridzuwan, B.H., M.A. Kaswandi, Y.Azman and M.Fuad. 2005. *Screening for antibacterial agent in three species of sea cucumber from coastal areas of Sabah*. *J. General Pharmacology: the Vascular sytem* 26:1539-1543
- [11] Muray, Ana P, Claudia M, Alicia M.S and Marta S.M. 2002. *Patagonicoside A : a novel antifungal disulfated triterpene glycoside frm the sea cucumber *Psolus patagicus**. *Tetrahedron, J. Tetrahedron*.V (57): 9563-9568
- [12] Aryantina, P L. 2002. Ekstraksi Komponen antibakteri dari teripang (*Holothuria vacuban da*) dan pengujian aktifitasnya sebagai antibakteria.[skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
- [13] Mulloy, B., P.A.S. Mourao and Gray. 2000. *Structur/function studies of anticoagulant sulphated polysaccarides using NMR*. *J Biotech*. 77(1):123-135
- [14] Fredalina, B. H. Ridzwan, A.A. Zainal Abidin, M. A. Kaswandi, H.Zaiton, I.Zali, P.Kittakop, A.M. Mat jais. 1998. *Fatty acid compositions in local sea cucumber, *Stichopus chloronotus*, for wound healing*. *General Pharmacol*. (44):337-34.
- [15] Wibowo, Singgih, Yunizal, Eddy Setiabudi, Mei Dwi Erlina dan Tazwir. 1997. *Teknologi pananganan dan pengolahan teripang (*Holothuroidea*)*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta
- [16] Xue-Yan Fu, *at al*.Chang-hu Xue. 2005b. *Characterization of protease from the digestive track of sea cucumber (*Stichopus japonicus*)*. *J.Aquaculture*, In Press, Correted Proof. <http://sciencedirect.com>. [20 Mei 2005]