



VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN KADAR SENYAWA ALKALOID PADA EKSTRAK TERIPANG (*Paracaudina australis*) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI

Nuril Jelali¹, Prisma Trida Hardani², Dewi Perwito Sari^{3*}

Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya
Jl. Dukuh Menanggal XII, Dukuh Menanggal, kec. Gayungan, Surabaya, Jawa Timur 60234, Indonesia.

Telp (031) 8281181

Alamat e-mail : farmasinuriljelali@gmail.com

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima Agustus 2024

Disetujui Oktober 2024

Dipublikasikan Desember
2024

Keywords:

Alkaloid
*Paracaudina
australis*,
spektrofotometer UV-
Vis, validasi metode

Abstrak

Teripang (*Paracaudina australis*) diketahui memiliki aktivitas biologis dan farmakologis karena banyak mengandung senyawa bioaktif, salah satunya ialah alkaloid. Untuk mengetahui kadar alkaloid yang terkandung dalam teripang diperlukan penetapan kadar. Pada penelitian ini penetapan kadar dilakukan secara analisis instrumental dengan metode Spektrofotometri UV-Vis Spektrofotometri merupakan metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan *Visible* sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Tujuan pada penelitian ini yaitu untuk melakukan validasi metode analisis penetapan kadar senyawa alkaloid pada ekstrak teripang menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Parameter validasi metode pada penelitian ini meliputi linieritas, LOD dan LOQ, selektivitas, presisi dan akurasi. Hasil linieritas diperoleh persamaan regresi $y = 0,0377x + 0,0635$ dengan nilai $r^2 = 0,9992$ Nilai LOD yang didapatkan hasil sebesar 0,26 ppm dan nilai LOQ sebesar 0,86 ppm. Selanjutnya parameter selektivitas didapatkan hasil serapan yang sama antara larutan standar dan larutan sampel pada panjang gelombang 205 nm dan 273 nm. Hasil pengujian presisi yang dilakukan memenuhi syarat dengan hasil %RSD yang diperoleh sebesar 2,1%. Parameter akurasi diperoleh hasil sebesar $101,68\% \pm 0,011$, $100,66\% \pm 0,008$ dan $101,14\% \pm 0,003$. Hasil identifikasi pada pengujian ini menunjukkan kadar alkaloid pada teripang *Paracaudina australis* sebesar $22,6 \text{ ppm} \pm 0,16$. Kesimpulan pada penelitian ini diperoleh metode penetapan kadar yang valid dengan rata-rata kadar alkaloid sebesar $22,6 \text{ ppm} \pm 0,16$.

Kata Kunci : Alkaloid, *Paracaudina australis*, spektrofotometer UV-Vis, validasi metode

Abstract

Sea cucumbers (*Paracaudina australis*) are known to have biological and pharmacological activity because they contain many bioactive compounds, one of which is alkaloids. To determine the levels of alkaloids contained in sea cucumbers, it is necessary to determine the levels. In this study, concentration determination was carried out using instrumental analysis using the UV-Vis spectrophotometry method. Uv-Vis Spectrophotometry is an analytical method that uses UV and Visible wavelengths as absorption areas to detect compounds. The aim of this research is to validate the analytical method for determining levels of alkaloid compounds in sea cucumber extracts using UV-Vis spectrophotometry. Method validation parameters in this research include linearity, LOD and LOQ, selectivity, precision and accuracy. The linearity results obtained by the regression equation $y = 0.0377x + 0.0635$ with a value $r^2 = 0,9992$. The LOD value obtained was 0.26 ppm and the LOQ value was 0,86 ppm. Furthermore, there is a selectivity parameter which shows the same absorption results between the standard solution and the sample solution at wavelengths of 205 nm and 273 nm. The results of the precision testing carried out met the requirements with the %RSD results obtained being 2.1%. The accuracy parameters obtained were $101.68\% \pm 0.011$, $100.66\% \pm 0.008$ and $101.14\% \pm 0.003$. The identification results in this test showed that the alkaloid content in *Paracaudina australis* sea cucumbers was $22.6 \text{ ppm} \pm 0.16$. The conclusion of this study was that a valid assay method was obtained with an average alkaloid content of $22.6 \text{ ppm} \pm 0.16$.

Keywords: Alkaloids, *Paracaudina australis*, UV-Vis spectrophotometer, validation methods

© 2024

Universitas Abdurrah

□ Alamat korespondensi: Jl. Bambe Dukuh Menanggal N0. 18, RT.1
RW.8, Gayungan, Surabaya.

ISSN 2338-4921

E-mail: farmasinuriljelali@gmail.com

PENDAHULUAN

Secara geografis, perairan Indonesia terletak di antara Samudera Pasifik dan Samudera Hindia, yang merupakan habitat terbaik bagi teripang. Teripang adalah kelompok invertebrata laut dari ordo Holothuroidea dengan struktur tubuh yang lunak memanjang seperti mentimun. Teripang termasuk ke dalam filum Echinodermata yang merupakan bagian dari biota laut di perairan Indonesia. (Mardiyah *et al.*, 2021).

Teripang sendiri memiliki banyak aktivitas biologis dan farmakologis seperti antiangiogenik, antikanker, antikoagulan, antihipertensi, antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, dan penyembuhan luka. Karakteristik ini diperoleh dari senyawa kimia yang diekstraksi dari spesies teripang yang berbeda. Teripang diketahui bermanfaat sebagai bahan baku obat karena banyak mengandung senyawa bioaktif, salah satunya ialah alkaloid (Mardiyah *et al.*, 2021).

Alkaloid merupakan salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan yang bersifat alkali, memiliki atom nitrogen (N) dengan struktur lingkaran yang heterosiklik atau aromatis. Alkaloid memiliki sifat biologis dan terapeutik (misalnya, morfin, atropin dan kina) dan memiliki banyak aplikasi medis (Sukmiwati *et al.*, 2024). Peranan alkaloid secara farmakologis dapat mengobati diare, diabetes, malaria, dan antimikroba (Wahyuni *and* Marpaung, 2020). Alkaloid dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antioksidan (Sukmiwati *et al.*, 2024) dan sebagai antibakteri karena dapat merusak dinding sel (Ilyas *and* Kimia, 2017). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung memiliki potensi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerjanya masing-masing (Mewengkang *et al.*, 2022)

Pada penelitian Putri *et al.*, (2020) menunjukkan teripang jenis *Paracaudina australis* memiliki kandungan senyawa flavanoid, steroid/terpenoid, saponin, alkaloid, dan fenolik. Penelitian Misgiati *et al.*, (2024) menyebutkan bahwa teripang (*Holothurian edulis*) mengandung senyawa saponin, terpenoid, flavonoid dan alkaloid. Rika monika (2021) menyatakan bahwa teripang (*Stichopus hermanii*) mempunyai kandungan alkaloid yang dapat digunakan untuk aktivitas antibakteri.

Untuk mengetahui kadar alkaloid yang terkandung dalam teripang diperlukan penetapan kadar. Dalam menentukan kadar alkaloid dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti gravimetri, spektrodensitometri, dan spektrofotometri visibel (Wahyuni, 2020). Pada penelitian ini penetapan kadar dilakukan secara analisis instrumental menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Penggunaan metode ini ialah karena spektrofotometri memiliki banyak keuntungan, yaitu lebih mudah, cepat dan spesifik untuk analisis zat uji (Uno *et al.*, 2015).

Suatu metode analisis baru dapat digunakan bila telah dilakukan validasi dan kondisinya disesuaikan dengan laboratorium dan peralatan yang tersedia, meskipun metode yang akan digunakan tersebut telah di publikasikan pada jurnal, buku teks atau buku resmi seperti farmakope. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan sampel dan kemungkinan keterbatasan alat, bahan kimia, atau kondisi lain yang menyebabkan metode tersebut tidak dapat diterapkan secara keseluruhan (Uno *et al.*, 2015)

Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Tujuan validasi metode analisis adalah untuk membuktikan bahwa semua cara atau prosedur pengujian yang digunakan senantiasa mencapai hasil yang diinginkan secara konsisten atau terus menerus (B.a *et al.*, 2018)

Penelitian ini bertujuan untuk menjamin suatu metode penetapan kadar alkaloid yang dilakukan adalah akurat, spesifik dan tahan terhadap kisaran analit yang akan dianalisis. Parameter metode yang dilakukan meliputi linieritas, lod dan loq, selektivitas, presisi dan akurasi.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu 4 bulan pada bulan November tahun 2023 sampai Februari 2024 di laboratorium Kimia dan Biologi Prodi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas PGRI Adi Buana Surabaya.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender (*phillips*), neraca analitik (*fujitsu*), gelas ukur (*herma*), beaker glass (*herma*), pipet tetes, mikropipet (*dlab*), batang pengaduk, spatel, corong gelas (*herma*), labu ukur (*herma*), tabung reaksi, kertas saring (*whatman*), *rotary evaporator* (*dlab*) dan instrument Spektrofotometri UV-Vis (*shimadzu Uv 1280*)

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Teripang (*Paracaudina australis*), Aseton p.a (*Anugerah jaya chemical*), Etanol p.a (*Smart-Lab*), HCl 2N (*merck*), NaCl (*merck*) dan Standar kafein (*Sigma*).

Prosedur Kerja

Pembuatan Simplisia Segar Teripang

Bersihkan sampel kemudian potong kecil-kecil lalu haluskan seluruh bagian teripang menggunakan blender tanpa penambahan air sampai diperoleh sampel basah yang siap di ekstraksi.

Ekstraksi sampel

Menimbang Sampel sebanyak 300 gram, masukkan kedalam toples ekstraksi, kemudian tambahkan pelarut aseton dengan perbandingan 1:1. Ekstrak dimaserasi selama 24 jam yang mana pada 6 jam pertama sambil sesekali diaduk kemudian setelah itu tutup menggunakan tutup toples. Setelah 24 jam, sampel yang sudah direndam kemudian disaring menggunakan kertas *whatman* hingga menghasilkan residu dan maserat. Residu yang dihasilkan kemudian dimasukkan kedalam toples untuk dilakukan remaserasi. Proses remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali dengan penambahan pelarut menggunakan perbandingan volume yang sama. Maserat yang diperoleh dari

masing-masing proses ekstraksi kemudian dipisahkan kembali menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C hingga pelarut menguap sempurna (Mahmudah *et al.*, 2019).

Pembuatan Larutan Baku Kafein

Membuat larutan baku induk konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang standar kafein sebanyak 25 mg kemudian masukkan ke dalam labu ukur 25 ml, tambahkan dengan pelarut etanol hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan standar kafein 1000 ppm (Ayuni, 2022).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Memipet 2,5 ml larutan baku kafein 1000 ppm ke dalam labu ukur 25 ml kemudian tambahkan etanol hingga tanda batas. Larutan standar kemudian dianalisis panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 200-400 nm (Ayuni, 2022).

Validasi Metode

a. Linieritas

Membuat 5 konsentrasi larutan (10ppm; 18ppm; 20ppm; 22ppm; dan 25ppm) dengan memipet larutan standar sesuai hasil perhitungan, masukkan pada labu ukur 5 ml kemudian tambahkan pelarut etanol sampai tanda batas labu ukur. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 273 nm (Ayuni, 2022). Setelah itu dibuat persamaan liniernya dengan metode regresi linier ($y = bx + a$). Linieritas kurva kalibrasi dilihat dari nilai koefisien korelasi (r) (Sahriawati, Sumarlin *and* Wahyuni, 2020).

b. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

Membuat 5 konsentrasi larutan (2ppm; 3ppm; 4ppm; 5ppm; dan 8ppm) dengan memipet larutan standar sesuai hasil perhitungan, masukkan pada labu ukur 5 ml kemudian tambahkan pelarut etanol sampai tanda batas labu ukur. Setelah itu lakukan pengecekan absorbansi pada panjang gelombang 273nm, kemudian lakukan perhitungan pada data yang diperoleh dengan menggunakan rumus LOD dan LOQ (Ayuni, 2022).

c. Selektivitas

Memipet larutan standar dan larutan sampel kedalam labu ukur dengan konsentrasi tertentu, kemudian tambahkan pelarut etanol sampai tanda batas labu ukur 5 ml dan lakukan pengecekan absorbansi pada rentang panjang gelombang 200-400nm (Ayuni, 2022).

d. Presisi

Memipet larutan sampel sebanyak 0,4ml masukkan kedalam labu ukur 5 ml kemudian tambahkan pelarut etanol sampai tanda batas, kemudian lakukan pengecekan absorbansi pada panjang gelombang 273nm. Pada tahap ini pengujian dibuat sebanyak 6 kali replikasi. Penentuan hasil presisi dinyatakan dengan hasil koefisien variasi (Ayuni, 2022).]

e. Akurasi

Membuat larutan standar adisi dengan 3 konsentrasi sebesar 80%; 100% dan 120% dengan memipet larutan baku sesuai hasil perhitungan, masukkan pada labu ukur 5 ml kemudian tambahkan pelarut etanol sampai tanda batas labu ukur dan lakukan pengecekan absorbansi pada panjang gelombang 273nm. Masing-masing konsentrasi dibuat 3 kali replikasi. Selanjutnya hasil absorbansi dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi dan % *recovery* (Ayuni, 2022).

Penetapan Kadar alkaloid Ekstrak Teripang

Sebanyak 0,4 ml sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 5ml kemudian tambahkan etanol sampai tanda batas labu ukur dengan 3x replikasi, kemudian larutan dianalisis menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 273nm. Data absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam kurva regresi dan dilakukan perhitungan kadar alkaloid (Ayuni, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kualitatif

Uji kualitatif senyawa merupakan metode analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa kimia yang terdapat pada sebuah sampel. Tujuan analisis ini ialah untuk menentukan komponen dalam zat kimia (Saputri *and* Besthari, 2023). Hasil uji kualitatif dapat dilihat pada tabel 1.

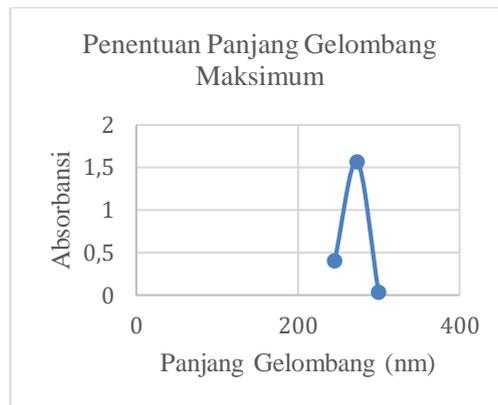
Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Alkaloid

Reagen	Kriteria Uji	Hasil Uji
Dragendroff	Endapan berwarna kemerahan atau kecoklatan	(+)
Wagner	Endapan Coklat	(+)
Mayer	Endapan berwarna putih atau kuning	(-)

Uji Kuantitatif

Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui serapan paling tinggi pada suatu senyawa. Penentuan panjang gelombang maksimum pada penelitian ini dilakukan pada larutan induk kafein 100ppm dengan rentang panjang gelombang 200-400nm.



Gambar 1. Panjang Gelombang Kafein

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada penelitian ini ialah 273 nm dengan nilai absorbansi sebesar 1,5647.

Validasi Metode

Linieritas

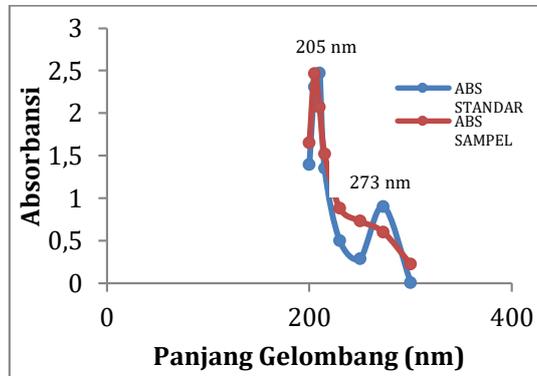
Linieritas merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memberikan respon proporsional atau linear terhadap konsentrasi analit dalam sampel yang dapat menunjukkan bahwa area analit dalam larutan sampel berada pada rentang tertentu. (Maghfiroh, Monica and Afthoni, 2022).

Persamaan garis regresi linier yang didapatkan adalah $y = 0,0377x + 0,0635$ dengan nilai $r^2 = 0,9992$ pada rentang konsentrasi 10ppm sampai 25ppm. Suatu persamaan dikatakan linier jika nilai $r^2 \geq 0,98$ Hal ini menandakan adanya hubungan signifikan antara konsentrasi dengan absorbansi kafein baku karena memenuhi persyaratan yang ditentukan (Ayuni, 2022).

LoD dan LoQ

Hasil uji batas deteksi dan kuantitasi diperoleh persamaan garis regresi $y = 0,0343x - 0,0004$ dengan nilai $r^2 = 0,9989$ dan nilai r sebesar 0,9994. Nilai S_y yang diperoleh yaitu 0,0029 sehingga batas deteksi yang diperoleh sebesar 0,2606 ppm yang artinya pada konsentrasi tersebut masih dapat dilakukan pengukuran sampel yang memberikan hasil ketelitian suatu alat berdasarkan tingkat akurasi individual hasil analisis, sedangkan batas kuantitasi yang diperoleh sebesar 0,869 ppm yang artinya pada konsentrasi tersebut bila dilakukan pengukuran masih dapat memberikan kecermatan analisis.

Selektivitas



Gambar 3. Hasil Uji Selektivitas

Hasil pada pengujian selektivitas diperoleh 2 panjang gelombang maksimum yang memiliki kemiripan pada spektra sampel dengan standar. Hasil pengujian ini berhimpitan pada panjang gelombang 205nm dengan nilai absorbansi yang hampir sama, sedangkan pada panjang gelombang 273nm terdapat pergeseran absorbansi pada larutan sampel.

Presisi

Presisi merupakan parameter yang menunjukkan derajat kesesuaian (ketelitian) antara hasil pengujian sampel yang dilakukan berulang kali dari sampel yang sama pada kondisi normal (Tuti Alawiyah, 2020).

Hasil perhitungan pada pengujian ini diperoleh nilai simpangan baku relatif (RSD) yaitu sebesar 2,1%. Nilai RSD pada uji presisi ini memenuhi persyaratan yaitu $< 8\%$. Semakin kecil nilai %RSD, maka semakin baik pula ketepatan analisis pada suatu zat. dikatakan presisi apabila penyimpangan yang terjadi masih dalam rentang yang diizinkan (Wardani, 2022). Berdasarkan nilai RSD tersebut maka dapat dikatakan bahwa metode Spektrofotometri UV-Vis memiliki keterulangan yang masih dapat diterima dengan baik (Fajriana and Fajriati, 2018).

Akurasi

Uji akurasi dilakukan untuk melihat ketelitian alat dan analisisnya dalam membuat konsentrasi larutan yang sesuai dengan kadar yang sebenarnya (Maghfiroh, Monica and Afthoni, 2022). Pengujian ini dilakukan dengan *standard addition method* atau dengan penambahan standar adisi Dengan 3 konsentrasi yang berbeda yaitu 80%, 100%, 120% dengan 3x replikasi pada masing-masing konsentrasi.

Hasil uji akurasi dengan konsentrasi adisi 80% didapatkan hasil rata-rata %recovery yaitu 101,68% \pm 0,011. Kemudian pada adisi 100% didapatkan hasil rata-rata %recovery yaitu 100,66% \pm 0,008 dan yang terakhir pada adisi 120% didapatkan hasil rata-rata %recovery yaitu 101,04% \pm 0,003.

Penetapan Kadar Alkaloid

Penetapan kadar alkaloid total pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode spektrofotometri dengan panjang gelombang 273 nm menggunakan larutan standar kafein. Penggunaan baku standar kafein ialah karena kafein merupakan salah satu baku pembandingan dari senyawa alkaloid. Kafein juga memiliki kandungan yang sama dengan teripang berupa asam amino (Inayah, Ningsih *and* Adi, 2013).

Pada penelitian ini kadar alkaloid yang didapatkan sebesar 22,6 \pm 0,1643 menggunakan pembandingan kafein tanpa penggunaan BCG, dimana kafein merupakan alkaloid golongan pseudoalkaloid. Penelitian ini sejalan dengan penetapan kadar alkaloid tanpa penggunaan BCG yang dilakukan oleh (Safitri, 2023) pada alga merah dan alga coklat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan hasil kadar alkaloid alga merah sebesar 5,74 ppm dan alga coklat sebesar 9,34 ppm.

SIMPULAN

Pengujian validasi metode analisis dalam penetapan kadar alkaloid teripang (*Paracaudina australis*) memenuhi kriteria validasi metode analisis secara spektrofotometri UV-Vis dengan hasil regresi linear $y = 0,0377x + 0,0635$ dengan nilai $R^2 = 0,9992$; *Limit of Detection* (LOD) sebesar 0,2606 ppm dan *Limit of Quantification* (LOQ) sebesar 0,869 ppm; parameter selektivitas didapatkan hasil serapan yang sama antara larutan standar dan larutan sampel pada panjang gelombang 205 nm dan 273 nm ; parameter presisi dengan nilai RSD = 2,1%; parameter akurasi dengan rata-rata nilai %*recovery* di konsentrasi 80% sebesar 101,68% \pm 0,011, konsentrasi 100% sebesar 100,66% \pm 0,008 dan konsentrasi 120% sebesar 101,14% \pm 0,003. Kadar alkaloid pada ekstrak teripang (*Paracaudina australis*) didapatkan kadar rata-rata 22,63 \pm 0,1643.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada pihak terkait yang telah membantu dan bekerjasama demi kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayuni, B.F., 2022. Validasi Metode Analisis Kafein Pada Kopi Latte Dengan Spektrofotometri Uv-Vis. Anal. Anal. Environ. Chem. 7, 155. <https://doi.org/10.23960/Aec.V7i02.2022.P155-164>
- B.A, F.M., Taebe, B., Hasanah, U., 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Ekstrak Etil Asetat Teripang Batu (*Actinopyga Lecanora Jaeger*). J. Farm. Dan Bahan Alam Farbal 6, 14–19.
- Elen Safitri, 2022. Penetapan Kadar Alkaloid Total Alga Merah (*Gracilaria Sp*), Alga Coklat (*Sargassum Sp*), Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis Dari Pantai Sayang Heulang Garut Jawa Barat - Universitas Al-Ghifari, Bandung.
- Fajriana, N.H., Fajriati, I., 2018. Analisis Kadar Kafein Kopi Arabika (*Coffea Arabica L.*) Pada Variasi Temperatur Sangrai Secara 3.
- Ilyas, A., Kimia, J., 2017. Isolasi Senyawa Bioaktif Antibakteri Pada Ekstrak Etanol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Di Kepulauan Selayar. Al-Kim. 5, 71–80. <https://doi.org/10.24252/Al-Kimia.V5i1.2340>
- Maghfiroh, D., Monica, E., Afthoni, M.H., 2022. Pengembangan Dan Validasi Metode Spektrofotometri Uv Vis Metode Derivatif Untuk Analisis Kafein Dalam Suplemen. J. Ilm. Sains Teknol. 2. <https://doi.org/10.33479/Sb.V2i2.151>
- Mardiyah, S., Artanti, D., Kunsah, B., 2021. Potensi Produk Olahan Hasil Perikanan Laut Nelayan Kenjeran Surabaya. Lentera Optima Pustaka, Surabaya.
- Mewengkang, T.T., Lintang, R.A., Losung, F., Sumilat, D.A., Lumingas, L.J.L., 2022. Identification of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Sea Cucumber, *Holothuria (Halodeima) atra Jaeger 1833* Flesh Extract from Kalasey Coastal Waters, Minahasa District. J. Ilm. PLATAX 10, 355. <https://doi.org/10.35800/jip.v10i2.42271>
- Misgiati, Winarni, I., Murniasih, T., Novriyanti, E., Tarman, K., Safithri, M., Setyaningsih, I., Cahyati, D., Pratama, B.P., Wirawati, I., 2024. The anticancer and antioxidant potential of local sea cucumber *Holothuria edulis*, an ecology balancer of Labuan Bajo marine ecosystem. Case Stud. Chem. Environ. Eng. 9, 100625. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2024.100625>
- Putri, D.A., Sukmiwati, M., Karnila, R., 2020. The Using Of Different Extraction Timeson The Antioxidant Activity Of Sea Cucumber (*Paracaudina Australis*) With Frap Method. J. Online Mhs. Jom Bid. Perikan. Dan Ilmu Kelaut. 7, 1–10.

Nuril Jelali, Prisma Trida Hardani, Dewi Perwito Sari/ Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains 12 (2) (2024)

- Sahriawati, S., Sumarlin, S., Wahyuni, S., 2020. Validasi Metode Dan Penetapan Kadar Kolesterol Ayam Broiler Dengan Metode Lieberman- Burchard. *Lutjanus* 24, 31–40. <https://doi.org/10.51978/Jlpp.V24i2.82>
- Saputri, A.D.S., Besthari, N.S., 2023. Penetapan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Cengkeh (*Syzigium Aromaticum*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *J. Ilm. Farm. Simplisia* 3, 28–37. <https://doi.org/10.30867/Jifs.V3i1.330>
- Sukmiwati, M., Karnila, R., Putri, D.A., 2024. Potensi Antioksidan Dari Teripang Berunok (*Paracaudina Australis*): Antioxidant Potency Of Transparent Sea Cucumber (*Paracaudina Australis*). *J. Pengolah. Has. Perikan. Indones.* 27, 124–131. <https://doi.org/10.17844/Jphpi.V27i2.46969>
- Tuti Alawiyah, D. Silvi Purnia, 2020. 2. Buku Validasi Metode [Www Document]. Url https://www.academia.edu/36114198/2_Buku_Validasi_Metode_Ok_Pdf (Accessed 11.12.23).
- Uno, N.R., Sudewi, S., Lolo, W.A., 2015. Validasi Metode Analisis Untuk Penetapan Kadar Tablet Asam Mefenamat Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *J. Ilm. Farm.-Unsrat* 4, 156–167.
- Wahyuni, S., Marpaung, M.P., 2020. Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea Chloroleuca Miers*) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Dalton J. Pendidik. Kim. Dan Ilmu Kim.* 3. <https://doi.org/10.31602/DI.V3i2.3911>
- Wardani, A. D. (2022). Validasi Metode Dan Penentuan Kadar Alkaloid Total Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.). Secara Spektrofotometri Uv-Vis Di Desa Kemiri Kabupaten Jember. Universitas Dr. Soebandi