

**STUDI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KARANG LUNAK
(*Geodia sp.*) SEGAR TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Vibrio
parahaemolyticus* SERTA KANDUNGAN SENYAWA AKTIFNYA**

*Studies of Antibacterials effect of Fresh Soft Coral (*Geodia sp.*) Extract
Against *Escherichia coli* and *Vibrio parahaemolyticus*
and The Content of Active Compounds*

Elok Ning Faikoh*, Denok Eka Yuliana, Sari Suhendriani, Herlin Qurrotul Aini

Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi: email elok090988@gmail.com

ABSTRAK

Karang lunak (sponge) merupakan jenis hewan laut yang hidup pada lingkungan terumbu karang. Diperkirakan terdapat lebih dari 5000 spesies yang terdapat di alam. Penelitian ini secara umum bertujuan untuk diversifikasi pemanfaatan biota laut yang jenisnya sangat beragam di perairan Indonesia melalui pengetahuan mengenai kandungan kimia dan sifat biokatifnya terutama sponge *Geodia sp.* Dari hasil penelitian diketahui bahwa Ekstrak kasar karang lunak *Geodia sp.* segar memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak metabolit sekunder yang bersifat antibakteri pada *Geodia sp.* segar adalah kloroform. Hasil analisis GC-MS, diidentifikasi 16 senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada karang lunak *Geodia sp.*, dua yang paling dominan adalah Androst-4-en-3-one sebesar 34.06% dan 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine sebanyak 17.96% dan keduanya merupakan turunan dari senyawa terpenoid.

Kata kunci: Karang lunak, antibakteri, senyawa metabolit sekunder

ABSTRACT

*Soft corals (sponge) is a species of marine animals that live in the coral reef environment. There are more than five thousand species found in nature. The generally aims of this study are to diversify the utilization of diverse species of marine life in Indonesia through out knowledge about the chemical content and its bioactive characteristic especially sponge *Geodia sp.* The results showed that the crude extract of fresh soft corals *Geodia sp.* has antibacterial activity against *E. coli* and *Vibrio parahaemolyticus*. The most effective solvent to extract secondary metabolites in a fresh *Geodia sp.* is chloroform. The results of GC-MS analysis was found 16 secondary metabolites in soft corals *Geodia sp.*. Two of the most dominant are Androst-4-en-3-one at 34.06% and 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine at 17.96% and both of them are derivative of terpenoid.*

Keywords: soft corals, antibacterial, secondary metabolites

LATAR BELAKANG

Indonesia memiliki sumberdaya alam hayati laut yang besar. Salah satu sumber daya alam tersebut adalah ekosistem terumbu karang. Ekosistem terumbu karang merupakan bagian dari ekosistem laut yang menjadi sumber kehidupan bagi beraneka ragam biota laut. Di dalam ekosistem

terumbu karang bisa hidup lebih dari 300 jenis karang, lebih dari 200 jenis ikan dan berpuluh-puluh jenis moluska, krustasea, sponge, algae, lamun dan biota lainnya (Suparno, 2005).

Sponge merupakan jenis hewan laut yang hidup pada lingkungan terumbu karang. Diperkirakan terdapat lebih dari 5000 spesies yang terdapat di alam dan dibagi atas

tiga kelas yaitu Calcarea, Demospongia, dan Hexatipellida. Di Indonesia jenis-jenis sponge yang ditemukan 90% dari Demospongia.

Beberapa peneliti mengungkapkan bahwa dalam sponge terdapat metabolit-metabolit antara lain senyawa terpen (Navi *et al.*, 1974, Minale, 1983), juga terdapat asam lemak (Barrow, 1983). Selain penelitian mengenai kandungan kimianya juga beberapa peneliti telah melakukan uji terhadap bioaktivitasnya misalnya Stempien *et al.* (1947) melakukan uji aktivitas antimikrobia terhadap sponge *Chondrosia* sp. dan Dews (1983) menguji aktivitas antelmintik pada *Haliclona* sp (Satari dan Kadi, 1994). Suharyanto (2008), menambahkan bahwa beberapa jenis sponge diketahui juga memiliki senyawa bioaktif, antara lain: *Hyatella intestinalis*, *Algilus flabellifilus* (Gunasekara *et al.*, 1989), *Hipospongia comunis*, *Spongia offisinalis*, *Ircina virabilis*, *Spongia oracillis* (Madaio *et al.*, 1989), *Dysidea avara* (Crispino *et al.*, 1989), *Erylus cendevelidi*, dan *Dyctionella insica* (Cimminiello *et al.*, 1989), sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi untuk mengobati penyakit pada manusia dan hewan.

Sementara itu, penyakit pada manusia dan hewan salah satunya disebabkan oleh bakteri yang memiliki sifat patogen. *E. coli* dan *Vibrio harveyi* merupakan dua contoh bakteri yang menyerang manusia dan hewan. *Escherichia coli* terdapat secara normal dalam alat-alat pencernaan manusia dan hewan. Sementara itu, *Vibrio* spp merupakan salah satu bakteri yang biasanya menyerang ikan atau udang.

Penelitian yang dilakukan oleh Ahmad dkk. (1995) menunjukkan bahwa hasil pengujian bioaktif sponge terhadap bakteri memberikan respon yang sama dengan jenis bakterisida komersial, bahkan dengan dosis yang lebih rendah, yakni: 20-40 ppm, sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakterisida komersial umumnya membutuhkan kadar 100 ppm untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Penggunaan bakterisida alami untuk mengobati penyakit pada manusia dan hewan merupakan suatu cara yang dewasa ini banyak digalakkan. Hal ini disebabkan karena penggunaan bakterisida dari bahan kimia dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten, selain itu juga banyak memiliki dampak negatif baik bagi makhluk hidup maupun lingkungan. Oleh karena itu perlu

dilakukan penelitian tentang pengobatan yang aman dan berwawasan lingkungan yaitu dengan menggunakan bahan-bahan bioaktif.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk diversifikasi pemanfaatan biota laut yang jenisnya sangat beragam di perairan Indonesia melalui pengetahuan mengenai kandungan kimia dan sifat biokatifnya terutama sponge *Geodia* sp. Di masa depan, senyawa bioaktif sponge diharapkan dapat menjadi bakterisida baku di bidang perikanan dan dapat diterapkan penggunaannya untuk bahan pangan maupun di bidang budidaya. Oleh karena itu diperlukan kajian yang lebih mendalam mengenai potensi bioaktif antibakteri yang ada pada sponge.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan deskriptif.

Variabel

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis pelarut yang berbeda saat ekstraksi yaitu heksan 95%, kloroform 95%, dan etanol 95% dan suhu ekstraksi yang berbeda (5, 10, dan suhu kamar/26-28 °C). Parameter yang digunakan adalah parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang terlihat di sekitar kertas cakram (mm), dosis hambatan minimum (MBC) dan dosis terendah ekstrak yang mampu membunuh bakteri (MBC).

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu jenis bahan pelarut dan suhu ekstraksi. Dilakukan tiga kali ulangan pada uji cakrahnya. Metode analisis yang digunakan adalah sidik ragam (ANOVA: *Analysis of Variance*) yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Tingkat selang kepercayaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 persen ($\alpha = 5\%$).

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak Sponge

Sponge (*Geodia* sp.) segar diperoleh dari perairan pulau Gili, Probolinggo, Jawa Timur. Sponge dicuci dan dibersihkan dari

kotoran yang menempel dan kemudian diangin-anginkan. Sampel sponge kemudian dihaluskan. Sponge yang telah dihaluskan dimaserasi dengan menggunakan pelarut heksan, kloroform, dan etanol dengan perbandingan 1:1 selama 3x24 jam pada suhu 5 °C, 10 °C dan suhu kamar. Sponge kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung dalam erlenmayer sehingga diperoleh ekstrak heksana, kloroform dan etanol yang bebas dari kotoran. Ekstrak-ekstrak yang terkumpul kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotari evaporator* pada suhu 45 °C sampai tidak terjadi lagi pengembunan pelarut pada kondensor (menunjukkan semua pelarut telah menguap) (Iswani, 2007).

Uji Cakram

Cara kerja pengujian antibiotik dengan metode Kirby-Bauer : *cotton bud (cotton swab)* dicelupkan dalam biakan bakteri kemudian tekan kapas ke sisi tabung agar air tiris. *Cotton swab* diusapkan pada seluruh permukaan cawan Mueller-Hinton Agar secara merata. Dibarkan cawan selama 5 menit. Kertas cakram dicelupkan dalam sampel uji dengan konsentrasi tertentu. Diangkat, biarkan sejenak agar tiris, selanjutnya diletakkan kertas cakram pada permukaan agar. Kertas cakram ditekan menggunakan pinset supaya menempel sempurna di permukaan agar. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Ukur diameter zona hambat (mm) kemudian dibandingkan dengan table sensitivitas antibiotik.

Uji MIC

Disiapkan tabung reaksi steril sebanyak 10 buah. Dibuat larutan stock sampel dengan dosis 500 ppm. Pengenceran berseri dilakukan dengan pemindahan sebanyak 6 mL larutan dari tabung pertama hingga tabung terakhir sehingga dihasilkan konsentrasi sebagai berikut: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, dan 0%. Pengujian ini dilakukan dengan meneteskan inokulum bakteri sebanyak 2 tetes ke dalam masing-masing tabung. Tabung ke-9 adalah kontrol positif yang berisi larutan NB dan inokulum. Tabung ke-10 adalah kontrol negatif yang berisi NB dan ekstrak sponge. Kesepuluh tabung reaksi tersebut kemudian diinkubasi dengan suhu 35 °C. Selama 24 jam dilakukan pengamatan keseluruhan tabung kekeruhan media dengan melihat kontrol positif dan

negatif. Untuk uji MIC ini diambil konsentrasi yang mendekati kontrol positif dan standar Mc. Farland (10^8 sel/mL) sebagai konsentrasi minimum.

Uji MBC

Pada Uji MBC, biakan murni bakteri ditanam sebanyak 5 inokulum ke dalam 5 mL media cair (NB) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam sehingga terbentuk kekeruhan standar Mc Farland (10^8 sel/mL). Kemudian dibuat larutan ekstrak sponge dengan dosis 500 ppm. Disiapkan tabung reaksi steril untuk pengenceran dosis 500 ppm, dengan konsentrasi sebagai berikut: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, dan 0%. Masing tabung diinokulasi 0.1 mL bakteri (10^6 sel/mL). Masing-masing campuran ditabur di media agar sebanyak 0.1 mL. Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi pada suhu 35 °C selama 18-24 jam. Jika tumbuh bakteri berarti dosis obat tersebut bersifat bakteriostatik. Akan tetapi jika bakteri tidak tumbuh berarti dosis obat tersebut bersifat bakteriosidal.

Identifikasi komponen bioaktif (Analisis GCMS)

Analisis GCMS dilakukan terhadap hasil ekstrak yang positif menunjukkan daya anti bakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Analisis GCMS dilakukan berdasarkan metode Putra (2007). Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injektor 320 °C, suhu awal oven 70 °C. laju kenaikan suhu 10 °C/menit, dan suhu akhir oven 310 °C. identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Karang lunak

Ekstraksi yang dilakukan dengan cara maserasi menghasilkan *crude* ekstrak sponge yang berbentuk cairan kental dengan warna kuning sampai kecoklatan.

Uji Cakram

Uji cakram yaitu pengujian antimikroba dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba. Dari dua bakteri uji yang digunakan, ekstrak sponge *Geodia sp.*

Tabel 1. Hasi Uji Cakram Terhadap Bakteri *E. coli*

| Pelarut | Zona hambat (mm) | | | | |
|-----------|------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Suhu (°C) | I | II | III | IV |
| Heksana | 5 | 7.01 | 7.03 | 7.01 | 7.03 |
| | 10 | 6.09 | 6.09 | 6.09 | 6.10 |
| | Suhu ruang | 7.12 | 7.23 | 7.15 | 7.09 |
| Kloroform | 5 | 10.15 | 10.08 | 10.18 | 10.12 |
| | 10 | 7.19 | 7.20 | 7.19 | 7.19 |
| | Suhu ruang | 10.42 | 11.10 | 10.44 | 10.28 |
| Etanol | 5 | 6.17 | 6.10 | 6.10 | 6.11 |
| | 10 | 6.23 | 6.19 | 6.20 | 6.19 |
| | Suhu ruang | 6.06 | 6.06 | 6.08 | 6.02 |

Tabel 2. Hasi Uji Cakram Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

| Pelarut | Zona hambat (mm) | | | | |
|-----------|------------------|------|------|------|------|
| | Suhu (°C) | I | II | III | IV |
| Heksana | 5 | 6.28 | 6.33 | 6.31 | 6.31 |
| | 10 | 6.00 | 6.01 | 6.01 | 6.03 |
| | Suhu ruang | 6.00 | 6.02 | 6.02 | 6.01 |
| Kloroform | 5 | 8.23 | 8.17 | 8.20 | 8.22 |
| | 10 | 7.84 | 7.76 | 7.80 | 7.82 |
| | Suhu ruang | 7.90 | 8.01 | 7.80 | 7.11 |
| Etanol | 5 | 6.18 | 6.16 | 6.16 | 6.12 |
| | 10 | 6.05 | 6.01 | 6.06 | 6.06 |
| | Suhu ruang | 6.09 | 6.06 | 6.05 | 6.06 |

Segar lebih efektif terhadap *E. Coli* dari pada terhadap *Vibrio parahaemolyticus*. Hasil dari uji cakram terhadap bakteri *E. Ccoli* dapat dilihat pada Tabel 1 dan untuk hasil uji cakram terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dapat di lihat pada Tabel 2.

Berdasarkan analisis sidik ragam annova pada taraf kepercayaan 5%, penggunaan pelarut yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap diameter zona hambat bakteri *E. Coli* dengan $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ ($5.97 \geq 5.61$). Sedangkan penggunaan suhu yang berbeda saat proses maserasi tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter zona hambat bakteri *E. Coli* dengan $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ ($4.20 \leq 5.61$). Interaksi antara keduanya (Pelarut dan suhu) tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter zona hambat bakteri *E. Coli* dengan

$F_{hitung} \leq F_{tabel}$ ($2.64 \leq 4.22$). Berdasarkan uji BNT diketahui perlakuan terbaik adalah perlakuan dengan menggunakan pelarut kloroform dengan suhu ruang dengan rata-rata diameter daerah hambatan 10.56 mm disusul dengan perlakuan dengan menggunakan pelarut kloroform dengan suhu 5 °C dengan rata-rata daerah hambatan 10.15 mm.

Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Patra (2009), bahwa *C. Linum* yang diekstrak dengan chloroform efektif melawan bakteri patogen seperti *S. flexneri*, *B. subtilis*, dan *E. coli*. Aktivitas antibakteri tergantung pada bahan yang akan diekstrak dan efisiensi metode ekstraksi. Ekstraks dari kloroform dan dan etil asetat lebih efektif daripada ekstrak metanol dan etanol. Hasil ini menunjukkan keberadaan metabolisme bioaktif dari bahan yang akan diekstraksi.

Tabel 3. Hasil MIC dan MBC terhadap bakteri uji *E.coli*

| Konsentrasi Ekstrak SFC | Replikasi | | | | Rerata | cfu/plate |
|-------------------------|-----------|---------|---------|---------|---------|-----------|
| | I | II | III | IV | | |
| 0% | 297.105 | 303.105 | 313.105 | 298.105 | 302.855 | 3.0.107 |
| 50% | 283.103 | 291.103 | 288.103 | 273.103 | 283.853 | 2.8.105 |
| 60% | 234.102 | 245.102 | 259.102 | 237.102 | 243.852 | 2.5.104 |
| 70% | 123.101 | 152.101 | 181.101 | 139.101 | 148.851 | 1.6.103 |
| 80% | 96.101 | 111.101 | 129.101 | 105.101 | 110.351 | 1.2.103 |
| 90% | 17 | 28 | 33 | 37 | 28.75 | 2.9.101 |
| 100% | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kontrol Negatif | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Variasi dari aktivitas antimikrobal dari pelarut organik mungkin disebabkan oleh kandungan substansi antimikrobal yang berbeda di dalam berbagai macam spesies.

Sementara itu, berdasarkan analisis sidik ragam annova pada taraf kepercayaan 5%, penggunaan pelarut yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap diameter zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ ($4.31 \leq 5.61$). Sedangkan penggunaan suhu yang berbeda saat proses maserasi juga tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ ($4.85 \leq 5.61$). Demikian pula dengan interaksi antara keduanya (pelarut dengan suhu) juga tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap diameter zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

Tidak adanya pengaruh dari perlakuan suhu yang berbeda saat proses ekstraksi dapat disebabkan oleh pemilihan rentang suhu yang terlalu rendah sehingga belum ditemukan suhu optimal untuk proses ekstraksi yang efisien.

Minimum Inhibitory Concentration dan Minimum Bactericidal Concentration

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) merupakan salah satu cara sederhana untuk pengujian antimikroba agar dapat diperoleh konsentrasi terendah. Uji MIC adalah konsentrasi terkecil obat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara makroskopik. Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) adalah dosis terendah ekstrak antibakteri yang mampu membunuh bakteri. Uji MIC dan MBC dilakukan terhadap perlakuan uji cakram terbaik yaitu ekstrak

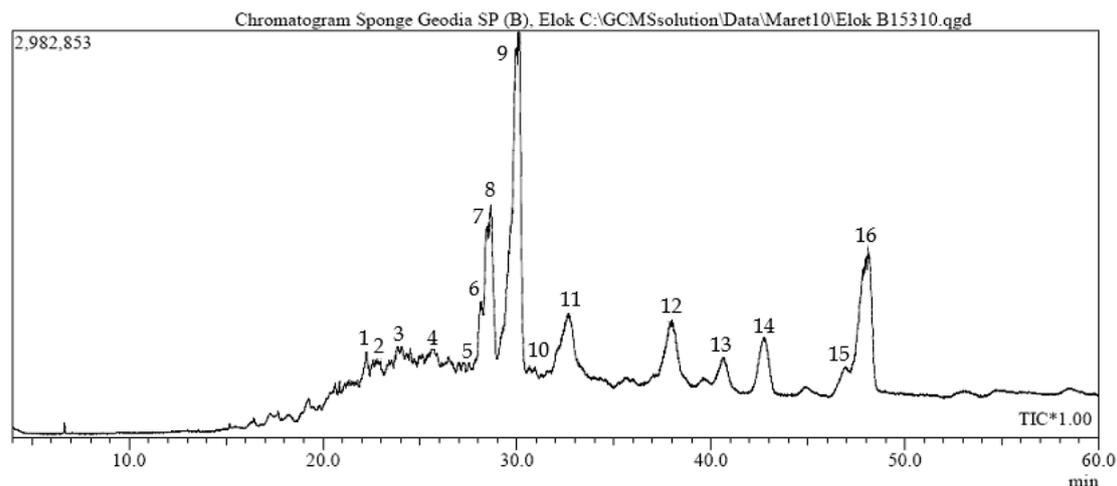
yang menggunakan pelarut kloroform pada suhu ruang terhadap bakteri uji *E. Coli*.

Dari data pada tabel 3 diketahui bahwa tidak didapat konsentrasi terendah dalam MIC maupun MBC. Konsentrasi ekstrak sponge yang dapat menghambat bakteri *E. Coli* adalah 90% dengan 2.9.101 cfu/plate. Sedangkan untuk konsentrasi yang dapat membunuh bakteri *E. Coli* adalah konsentrasi maksimal yaitu 100%. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Kurniawati (2009), daya antibakteri suatu bahan antibakteri dipengaruhi oleh kualitas dari batas kadaluarsa, kepadatan bakteri atau jumlah mikroorganisme, media kultur, suhu inkubasi dan spesies mikroorganisme. Dalam hal ini, bakteri *E. Coli* sebagai bakteri uji memiliki daya virulensi yang tinggi sehingga pertumbuhannya tidak dapat dihambat pertumbuhannya tidak dapat dihambat dengan konsentrasi dibawah 90%.

Analisis GCMS

Bahan aktif antibakteri yang dikatakan aktif dan berpotensi yaitu yang mempunyai daerah hambatan lebih besar dari 10 mm (Lestari, 2006). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sponge yang paling potensial sebagai anti bakteri adalah hasil ekstraksi menggunakan kloroform. Hal ini dapat dilihat dari tingginya diameter zona hambat pada uji cakram terhadap bakteri *E. coli* yang mencapai rata-rata 10.56 mm. Oleh karena itu, ekstrak tersebut diteliti lebih lanjut untuk mengetahui senyawa dominan yang terkandung di dalamnya.

Hasil analisis GC-MS, diidentifikasi 16 senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada karang lunak *Geodia* sp, dua yang paling



Gambar 1. Hasil analisis GC-MS

dominan adalah Androst-4-en-3-one sebesar 34.06%, yang merupakan kelompok dari senyawa steroid dan merupakan turunan dari senyawa triterpen. Senyawa yang kedua diduga 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine yang memiliki luas area 17.96%, memiliki rumus molekul $C_{14}H_{24}$ dengan berat molekul 192. Bentuk cyclohexadine ditemukan pada beberapa produk alami seperti α -terpinene. Terpinene adalah tiga isomerik hidrokarbon yang diklasifikasikan sebagai terpena. Masing-masing memiliki rumus molekul dan kerangka karbon yang sama, tetapi memiliki posisi karbon-karbon ikatan ganda yang berbeda. Terpen dan terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang virus, dan protozoa. Mekanisme penghambatan diduga melalui perusakan lipibilayer membran sel akibat gugus hidrofilik yang dimilikinya (Cowan, 1999). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gunawan, dkk (2008) bahwa senyawa terpenoid yang diekstraksi dari herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) dapat menghambat bakteri *E. coli* dengan luas hambatan 10 mm. Selain itu, Batista *et al.*, (1994) dalam Putra (2007) melaporkan bahwa diterpena yang diisolasi dari tanaman *Plectranthus hereroensis* efektif terhadap *S. Aureus* V. *Cholera* dan *Candida* sp.

SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar karang lunak *Geodia* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *Vibrio*

parahaemolyticus. Pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak metabolit sekunder yang bersifat antibakteri pada *Geodia* sp. adalah kloroform. Sementara itu, Hasil analisis GC-MS, diidentifikasi 16 senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada karang lunak *Geodia* sp, 2 yang paling dominan adalah Androst-4-en-3-one sebesar 34.06% dan 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine sebanyak 17.96%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, T, Suryati, E, and Muliani. 1995. Sponge bioactive screening for bactericide in shrimp culture. *Indonesia Fisheries Research Journal*. Vol. 1 (1): 1-10.
- Cannell, R. 1998. *Natuural Product Isolation*. Humana Press. New Jersey.
- Solis, G, Becerra, J, Flores, G, Robledo, J, dan Silva, M. 2004. Antibacterial and Antifungal Terpen from Pilgerodendron univerum (D. Don) Florin. *Journal of the Chilean Chemistry Society*. Chile
- Cowan, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbial. Rev.* 12 (4): 54-582
- Day, R.A and Underwood. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka.

- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Gandjar, IG dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Guether, E. 1987. *Minyak Atsiri I*. Penerbit UI. Jakarta. Diterjemahkan S. Ketaren
- Gunawan IW, Bawa, IG, dan Sutrisnawati, NL. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Atif Antibakteri pada Herba Meniran (Phyllanthus niruri Linn)*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. ISSN 1907-9850
- Gusrina. 2008. *Budidaya Ikan Jilid 1*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta
- Harborne, JB. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh: Padmawinata, K dan I, Soediro. Penerbit ITB. Bandung
- Isnansetyo, A, Trijoko, EP, Setyowati, dan Anshory, HH. 2009. In Vitro Antibacterial of Methand Extract of A Sponge, *Geodia* sp. Against Oxytetracycline Resistent *Vibrio harveyi* and its Toxicity. *Journal of Biological Science* 9(3): 224-230
- Lay, BH. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoid dan Steroid*. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Liqun, Y, Pengcheng, LI, Shoujin, F. 2008. The extraction of pigments from fresh *Laminaria japonica*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 26(2): 193-196
- Nazir, M. 1989. *Metode Penelitian*. PT. Ghalia Indonesia. Jakarta
- Patra, JK, Patra, AP, Mahapatra, NK, Thatoi, HN, Das, S, Sahu, RK, and Swain, GC. 2009. Antimicrobial activity of organic solvent extracts of three marine macroalgae from Chilika Lake, Orissa, India. *Malaysian Journal of Microbiology*. 5(2): 128-131
- Putra, INK. 2007. Studi Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang
- Purseglove, JW, Brown, EG, Green, CL, and Robbin, SRJ. 1981. *Spices*. Longman Singapore Publ. Singapore
- Roth, HJ, and Blaschke, G. 1985. *Analisis Farmasi*. Alih Bahasa: Dr. Sarjono Kisman. Gadjah Mada University Press
- Satari, R dan Kadi, A,. 1994. *Aktivitas Antibakteri Sponge Asal Pulau Pari*. Laboratorium Produk Alam Laut Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor
- Sjogren, M. 2006. *Bioactive Compounds from the Marine Sponge Geodia baretii*. UPPSALA Universitet. Swedia
- Sudarmadji, SB, Haryono dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta
- Suharyanto. 2008. Distribusi dan Persentase Tutupan Sponge (Porifera) pada Kondisi Terumbu Karang dan Kedalaman yang Berbeda di Perairan Pulau Barranglompo, Sulawesi Selatan. *Jurnal Biodiversitas*. 9(3): 209-212
- Suparno. 2005. Kajian Demospongiae Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia dalam Dibidang Farmasi. Makalah Pribadi Falsafah Sains (PPS 7002). Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Suryandari, S. 1981. Pengambilan Oleoresin Jahe Dengan Cara Solvent Extraction. Buletin IHP I. BBIHP. Bogor
- Susanto, WH. 1999. *Teknologi Lemak dan Minyak Makan*. Jurusan THP Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang
- Syamsir, E. 2008. Kasus *Vibrio Parahaemolyticus* di dalam Seafood. <http://www.ilmupangan.blogspot.co>. Dilihat pada 9 Oktober 2009
- Tomascik, T, Janice, A, Nontji, A, dan Moosa, M. 1997. *The Ecology of Indonesian Seas*. Periplus edition Ltd. Hongkong
- Vogel, AI. 1987. *Textbook of Practical Organic Chemistry*. Revised by Furnies B.S. 4th Edition. New York
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Diterjemahkan Soendani. dan Setiono
- Wibowo, W, Gumilar, J, Alamsyah, M. 2008. *Standart Parameter Potensi Antibiotik dalam Tinjauan Mikrobiologi*. Institut Teknologi Bandung. Bandung

Wiyanto, DB. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas*

hydrophila dan *Vibrio harveyii*. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang