



ISOLASI DAN UJI DAYA HAMBAT BAKTERI SIMBION SPONS TERHADAP *Vibrio parahaemolyticus*

ISOLATION AND INHIBITION TEST OF SPONGE SYMBIONT BACTERIA AGAINST *Vibrio parahaemolyticus*

Novi Ramadhani¹, Fuji Astuti Febria*²

^{1,2}Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Andalas

Email: fafebria@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini mengkaji tentang upaya pengendalian bakteri *Vibrio parahaemolyticus* patogen yang merugikan bagi kegiatan budidaya ikan, dan udang. Pengendalian secara fisik dan kimia tidak efisien, membutuhkan biaya mahal dan tidak aman bagi lingkungan. Solusi alternatif pengendalian *V. parahaemolyticus* secara hayati menggunakan isolat bakteri potensial penghambat pertumbuhan *V. parahaemolyticus*. Tujuan penelitian adalah mengisolasi dan menguji kemampuan isolat bakteri simbion spons dalam menghambat *V. parahaemolyticus*, serta mengkarakterisasi isolat bakteri simbion spons yang mampu menghambat pertumbuhan *V. parahaemolyticus*. Penelitian menggunakan metode survei dan pengambilan sampel dilakukan secara *purposiv sampling*. Hasil penelitian ditemukan masing-masing dua isolate bakteri BSA1 dan BSA2 yang bersimbion dengan *Aplysina aerophoba* dan isolat BSX1 dan BSX2 yang bersimbion dengan spons *Axinella dissimilis*. Tiga dari empat isolat bakteri simbion spons terindikasi memiliki aktivitas antibiotik. Zona hambat terbesar ditemukan pada isolat BSA 1 dengan zona hambat mencapai 7,25 mm. Karakterisasi isolat bakteri simbion spons yang mampu menghambat *Vibrio parahaemolyticus* diperoleh satu isolat bakteri gram positif *coccus* dan dua isolat bakteri gram negatif *coccus*, serta tiga isolat bakteri bersifat positif katalase dan tiga isolat bakteri bersifat motil.

Keywords: Antibakteri, simbion, spons, zona hambat, *Vibrio parahaemolyticus*

ABSTRACT

This study examines efforts to control the pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria that are detrimental to fish and shrimp farming activities. Physical and chemical control is inefficient, costly and unsafe for the environment. Alternative solutions to control *V. parahaemolyticus* biologically use potential bacterial isolates that inhibit the growth of *V. parahaemolyticus*. The objectives of the study were to isolate and test the ability of sponge symbiont bacterial isolates to inhibit *V. parahaemolyticus*, and to characterize sponge symbiont bacterial isolates capable of inhibiting the growth of *V. parahaemolyticus*. The study used a survey method and sampling was done by purposive sampling. The results of the study found two bacterial isolates BSA1 and BSA2 that symbiont with *Aplysina aerophoba* and isolates BSX1 and BSX2 that symbiont with *Axinella dissimilis* sponge. Three of the four isolates of sponge symbiont bacteria indicated to have antibiotic activity. The largest inhibition zone was found in isolate BSA 1 with inhibition zone reaching 7.25 mm. Characterization of sponge symbiont bacterial isolates capable of inhibiting *Vibrio parahaemolyticus* obtained one gram-positive coccus bacterial isolate and two gram-negative coccus bacterial isolates, as well as three catalase-positive bacterial isolates and three motile bacterial isolates.

Keywords: Antibacterial, symbiont, sponge, inhibition zone, *Vibrio parahaemolyticus*

PENDAHULUAN

Wilayah Indonesia terdiri dari 70% lautan dan 30% daratan, dan memiliki lebih dari 17.000 pulau dengan garis pantai lebih dari 99.00 km. Wilayah laut yang luas, memposisikan Indonesia menjadi salahsatu negara yang berpotensi di bidang kelautan dan perikanan, yang mendorong masyarakat budidaya udang dan ikan. Masalah utama pada kegiatan budidaya adalah serangan penyakit Vibriosis oleh bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus* penyebab kematian pada budidaya ikan dan udang yang sangat tinggi dalam waktu singkat. Vibriosis terutama menyerang pada stadia lava dan juvenil atau ikan yang berukuran 6-7 cm dalam waktu 1-2 minggu paska infeksi (Mahardika dan Indah, 2013).

Gejala klinis penyakit vibriosis pada udang terjadi perubahan pada tubuh dan perilaku, hepatopankreas kecoklatan, terdapat bercak merah pada pleopod, uropod dan abdominal, insang merah kecoklatan, berenang lambat (Ramesh *et al.*, 2014), penurunan nafsu makan dan gangguan keseimbangan (Chandrakala & Priya, 2017). Sedangkan pada ikan, gejalanya sering berenang dipermukaan air dan terlihat terengah-engah, penurunan nafsu makan, selalu menyendiri, lendir berkurang tidak merata, serta terdapatnya luka dipermukaan kulit (Sarjito *et al.*, 2015). Bakteri *Vibrio* sp., pernah dilaporkan menyerang udang vaname, udang windu (Tran, *et al.*, 2013), dan ikan kerapu macan (Hastari *et al.*, 2014).

Upaya pengendalian penyakit vibriosis telah dilakukan dengan menggunakan antibiotik sintetis. Namun pemakaian jangka panjang dapat menimbulkan dampak negatif berupa munculnya strain-strain bakteri resisten terhadap antibiotik (Nurjanah *et al.*, 2014; Febria, *et al.*, 2021).

Hal ini mendorong peneliti untuk mengeksplorasi bakteri yang mampu menghasilkan senyawa antibakteri yang mampu mengendalikan patogen *V.parahaemolyticus*.

Organisme laut kelompok invertebrata dari terumbu karang adalah sumber yang sangat menarik untuk produk kimia bahan alam, karena dapat menghasilkan metabolit sekunder.

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh spons seperti alkaloid, tanin, steroid, saponin dan flavonoid (Abdel-Lateff *et al.*, (2014) yang memiliki aktivitas farmakologis seperti antitumor, antioksidan, antibakteri, antijamur, antivirus dan antiinflamasi (Rhandour *et al.*, 2016).

Spons merupakan Filum Porifera, yang menjadi inang beberapa jenis mikroorganisme seperti bakteri. Mikroorganisme tersebut menyumbang 40% dari biomassa spons. Bakteri simbiosis spons yang beragam dan melimpah dapat dijadikan sebagai sumber senyawa aktif secara biologis (Liempepas *et al.*, 2019). Senyawa bioaktif menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan antifungi (Wewengkang *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2021). Bakteri simbiosis spons diyakini memiliki kandungan senyawa aktif yang sama dengan inangnya (Judianti *et al.*, 2014). Bakteri laut yang berhasil diisolasi dari spons *Aaptos* sp. dan *Hyrtios* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus* (Rini, 2016).

Sejumlah bakteri laut juga telah berhasil diisolasi dari spons *Jaspis* sp. yang mampu menghambat *Staphylococcus aureus*, *V. harveyi*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan EPEC K-11 serta khamir *Candida albicans* dan *C. tropicalis* (Abubakar *et al.*, 2011). Hal menunjukkan hubungan bakteri dengan inangnya (Pastra & Surbakti, 2012).

Berdasarkan uraian di atas, maka diketahui bakteri simbiosis spons memiliki potensi sebagai antibakteri, untuk itu dilakukan penelitian ini dengan tujuan menemukan isolat bakteri yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* patogen yang mematikan pada kegiatan budidaya.

MATERI DAN METODE

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan metode survei dan teknik pengambilan sampel *purposive sampling*. Sampel diambil di kawasan perairan laut Pulau Pasumpahan dengan kedalaman 0-5 Meter. Bahan dan alat yang

digunakan tertera pada Tabel 1. Tahapan penelitian terdiri dari isolasi dan pemurnian isolat bakteri simbiosis spons, dilanjutkan dengan pengujian daya hambat bakteri

simbiosis spons terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*, serta mengkarakterisasi isolat bakteri potensial penghambat *V. parahaemolyticus*.

Tabel 1. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Bahan	Fungsi/Kegunaan
1.	Medium <i>Marine Agar</i> (MA)	Medium untuk isolasi bakteri simbiosis spons
2.	Medium <i>Marin Broth</i> (MB)	Uji kemampuan isolat bakteri simbiosis spons menghambat pertumbuhan <i>V. parahaemolyticus</i>
3.	Larutan NaCl 0,9%	Untuk pengenceran serta membuat suspensi bakteri uji
4.	Medium Produksi	Untuk menginduksi senyawa bioaktif pada isolat bakteri simbiosis spons
5.	Medium <i>Sulfit Indol Motility</i> (SIM)	Medium untuk uji motilitas
6.	Medium <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA)	Medium untuk uji daya hambat bakteri simbiosis spons terhadap <i>V. parahaemolyticus</i>
7.	Mc. Farland 0,5	Menyetarakan bakteri uji
8.	Kristal Violet, Iodin, Safranin dan Alkohol 96%	Pewarnaan gram isolat bakteri simbiosis spons
9.	H ₂ O ₂ 3%	Uji Katalase

Isolasi Bakteri Simbiosis Spons

Isolasi bakteri simbiosis spons dilakukan dengan cara; potongan spons digerus menggunakan mortar. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} . Selanjutnya 1 ml suspensi diinokulasikan pada medium *marine agar* (MA) secara *pour plate* dan diinkubasi selama 1X24 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh selanjutnya dimurnikan pada medium MA secara *streak plate* hingga diperoleh kultur tunggal. (Isnaeni dan Rahmawati, 2016).

Persiapan Bakteri *V. parahaemolyticus*

Bakteri *V. parahaemolyticus* direkulturasi pada medium *marine agar* (MA) secara *streak plate* kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 1X24 jam. Kemudian disiapkan kultur *V. parahaemolyticus* disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9% dihomogenkan lalu dicocokkan dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland 0.5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml).

Produksi Antibakteri

Penyiapan isolat bakteri simbiosis spons dengan cara menginokulasikan 1 ose bakteri simbiosis kedalam 10 mL media MB lalu diinkubasi selama 1x24 jam dengan *rotary shaker incubator* dengan kecepatan perputaran 120 rpm selama 24 jam. Kemudian diambil 1,5 ml suspensi diinokulasikan kedalam 23,5 ml medium produksi diinkubasi diatas shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 48 jam. Koloni bakteri simbiosis dalam media produksi masing-masing dipindahkan ke dalam tabung sentrifus. Lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh akan dilanjutkan untuk uji daya hambat bakteri simbiosis spons terhadap *V. parahaemolyticus* (Naid *et al.*, 2013).

Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Simbiosis Spons terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Uji aktivitas isolat bakteri simbiosis spons menggunakan metode difusi agar. Dengan

cara inokulasi suspensi bakteri *V. parahaemolyticus* pada medium MHA secara merata lalu diletakkan kertas cakram yang telah dicelupkan ke supernatan isolat bakteri simbion spons. Kemudian inkubasi selama 2X24 jam dengan suhu 37°C (Rahmadeni, et al., 2019). Diukur zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Zona hambat yang ditentukan dengan cara: (Zaunit, 2019).

$$R = \frac{p + q}{2}$$

Keterangan:

r : Diameter Zona Penghambat (mm)

p : Diameter Zona Penghambat terpanjang (mm)

q : Diameter Zona Penghambat terpendek (mm)
Karakterisasi Makroskopis dan Mikroskopis Isolat bakteri Simbion Spons
 Pengamatan Makroskopis meliputi bentuk koloni, elevasi, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni.

Pengamatan Mikroskopis meliputi perwarnaan gram, bentuk sel, serta dilakukan uji katalase dan uji motilitas

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi dan Pemurnian Bakteri Simbion Spons

Hasil Isolasi isolat bakteri simbion spons dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil Isolasi Bakteri Simbion Spons

No	Sampel Spons	Jumlah Isolat yang ditemukan	Kode Isolat bakteri simbion spons
1.	<i>Aplysina aerophoba</i>	2	BSA 1 BSA 2
2.	<i>Axinella dissimilis</i>	2	BSX 1 BSX 2

Isolat bakteri yang ditemukan pada spons *Aplysina aerophoba* dan *Axinella dissimilis* masing-masing sebanyak dua isolat. Penelitian serupa, Wantania *et al.* (2016) menemukan isolat bakteri pada spons *Facaplysinopsis* sp. dan *Agelas* sp dari perairan Tonkeina, Sulawesi Utara, dan Judianti *et al.*, (2014) menemukan isolat bakteri simbion pada spons *Demospongia* dari pesisir pantai Paciran Lamongan. Hasil isolasi menunjukkan bahwa spons merupakan habitat yang baik bagi bakteri.

Hasil Daya Hambat Isolat Bakteri Simbion Spons Terhadap Bakteri *V. parahaemolyticus*

Keempat isolat bakteri yang ditemukan dari hasil isolasi, menunjukkan tiga diantaranya memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. Parahaemolyticus*. Kemampuan bakteri simbion spon dalam menghambat bakteri *V. Parahaemolyticus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kemampuan daya hambat bakteri simbion terhadap *V. parahaemolyticus*

No	Kode Isolat	Kemampuan Zona Hambat	Rata-rata Diameter Zona Hambat terhadap Bakteri Uji (mm)
1.	BSA 1	+	6,85
2.	BSA 2	-	Tidak Ada
3.	BSX 1	+	7,25
4.	BSX 2	+	7,15

Keterangan: (-) tidak terdapat zona hambat

Tabel 3. menunjukkan tiga dari empat isolat bakteri simbiosis spons *A. aerophoba* dan *A. dissimilis* mampu menghambat pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram.

Diameter zona hambat terbesar ditemukan pada isolat BSX1 sebesar 7,25 mm dan diameter terkecil ditemukan pada isolat BSA 1 sebesar 6,85 mm. Diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa isolat bakteri simbiosis spons dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat oleh isolat BSA 1, BSX 1 dan BSX 2 menunjukkan aktivitas antibakteri dengan kriteria sedang. Sedangkan isolat BSA 2 tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk dikarenakan beragamnya jenis bakteri, dengan kemampuan menghasilkan zat bioaktif yang beragam pula, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk tidak sama. Hal ini sesuai dengan Kusumawati *et al.*, (2014), menyatakan perbedaan zona hambat

disebabkan oleh perbedaan jenis dan kemampuannya dalam menghasilkan senyawa bioaktif berupa antibakteri.

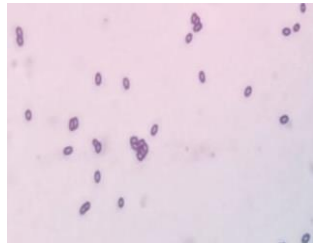
Zona hambat menunjukkan isolat bakteri dalam menghasilkan senyawa antibakteri. Semakin besar diameter zona hambat, menunjukkan semakin baik kemampuan isolat menghasilkan antibakteri. Aktivitas antibakteri terbagi menjadi 4 tingkat, yaitu; lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat. Aktivitas bakteri kategori lemah jika diameter zona hambat <5 mm, katagori sedang antara 5-10 mm, katagori kuat antara 10-20 mm dan sangat kuat jika >20 mm (Kumowal, 2019).

Karakterisasi Isolat Bakteri Simbiosis Spons

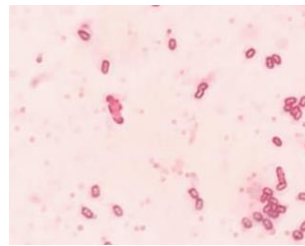
Karakterisasi isolat bakteri simbiosis spon berupa karakter makroskopis meliputi bagian dari mikroorganisme yang tampak dari bentuk, warna, margin dan elevasi koloni. Karakter mikroskopis berupa bentuk sel, dimana sebelum pengamatan mikroskopis dilakukan pewarnaan Gram terlebih dahulu. Dilanjutkan dengan uji katalase dan uji motilitas (Tabel 4)

Tabel 4. Karakterisasi Isolat bakteri simbiosis spons

Karakter	Kode Isolat		
	BSA 1	BSX 1	BSX 2
Makroskopis			
Bentuk	Circular	Irreguler	Irreguler
Warna	Putih	Putih	Putih
Elevasi	Convex	Convex	Raised
Margin	Undulate	Undulate	Irreguler
Mikroskopis			
Pewarnaan Gram	Negatif	Positif	Negatif
Bentuk sel	Coccus	Coccus	Coccus
Uji lainnya			
Katalase	Positif	Positif	Positif
Motilitas	Positif	Positif	Positif



(a)



(b)

Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram (a). Isolat BSX 1 (Positif-Coccus), (b). Isolat BSA 1 (Negatif-Coccus) pada perbesaran 100x

Perbedaan Gram positif dan gram negatif disebabkan karena susunan dinding sel dan kemampuannya dalam mengikat zat warna. Pada bakteri gram positif berwarna ungu karena bakteri tersebut mampu mempertahankan zat warna gentian violet sebagai pewarna utama. Hal ini disebabkan karena dinding sel bakteri gram positif sebagian besar tersusun oleh peptidoglikan yang kuat. Sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah, hal ini disebabkan karena struktur dinding selnya mengandung lipid. Saat dibilas dengan alkohol, lipid akan rusak dan mengakibatkan gentian violet sebagai pewarna utama meluruh bersama lemak. Pada saat diberi pewarna safranin, bakteri dapat mengikat dengan baik sehingga sel berwarna merah.

Uji Katalase

Berdasarkan hasil uji katalase, isolat bakteri bersifat positif katalase setelah ditetesin H_2O_2 3%, hal ini ditandai dengan pembentukan gelembung udara. Hasil uji katalase dari 3 isolat yang diujikan (Gambar 2) semua isolat menunjukkan positif katalase. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri memiliki enzim katalase yang dapat mendegradasi H_2O_2 menjadi O_2 .



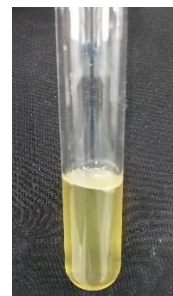
Gambar 2. Hasil Uji Katalase. Isolat bakteri (BSP 1) bersifat positif

Menurut (Capuchino dan Welsh, 2017) selama respirasi secara aerob, mikroorganisme anaerob fakultatif, aerob, dan mikroaerofil akan menghasilkan hidrogen peroksida. Penumpukan hidrogen peroksida ini bersifat racun yang nantinya akan mengakibatkan kematian mikroorganisme kecuali mereka dapat mendegradasi hidrogen peroksida secara enzimatik. H_2O_2 akan dipecah oleh bakteri aerob dengan bantuan enzim superoxide timustase menjadi oksigen dan air.

Berdasarkan hasil uji katalase terlihat bahwa terbentuk gelembung udara pada objek glass. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri spon bersifit aerob. Sedangkan jika tidak terbentuk gelembung udara maka isolat bakteri spon tersebut tergolong ke dalam bakteri anaerob (Brown,2012).

Uji Motilitas

Hasil uji motilitas diperoleh semua isolat bersifat motil bergerak (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil Uji Motilitas (Positif)

Isolat Bakteri bersifat non motil ditandai dengan koloni bakteri hanya tumbuh disekitaran tusukan saja tidak menyebar, dikarenakan pada isolat bakteri ini tidak memiliki alat pergerakan seperti flagela atau *gliding motility*. Menurut Sarah *et al.*, (2014) bakteri bersifat non motil dimana pertumbuhan bakteri tidak dapat menyebar dan hanya tumbuh di daerah bekas tusukan. Sedangkan bersifat positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar, yang artinya isolat bakteri ini memiliki flagela atau *gliding motility*.

Berdasarkan hasil menunjukkan bahwa banyak isolat bakteri bersifat motil dimana isolat tersebut memungkinkan untuk melarikan diri dari kondisi yang tidak menguntungkan dan memanfaatkan sumber daya pada lingkungan baru. Isolat bakteri mempunyai kemampuan untuk merasakan gradien kimia, dikombinasikan dengan kemotaksis dan

gerakan langsung yang membuat bakteri mampu mengejar nutrisi dan mencapai tempat tertentu. Selain itu, motilitas juga terlibat dalam interaksiantara mikroorganisme dan inangnya, khususnya dalam proses kolonisasi atau patogen menular. Bakteri yang bersifat motil akan mengalami gangguan atau ketidakmampuan untuk berkoloni dan dapat menyebabkan penyakit (Madigan *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Diperoleh empat isolat bakteri dari dua jenis spons yaitu *A. aerophoba* dan *A. dissimilis*. Tiga dari empat isolat bakteri simbiosis berpotensi menekan pertumbuhan *V. parahaemolyticus* Zona hambat terbesar ditemukan pada Isolat BSA 1 yaitu 7,25 mm, dengan karakter isolat Gram negatif, bentuk sel *coccus*, bersifat positif katalase dan motil.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Lateff, A., Alarif, W. M., Asfour, H. Z., Ayyad, S. E. N., Khedr, A., Badria, F. A., & Al-lihaibi, S. S. (2014). Cytotoxic effects of three new metabolites from Red Sea marine sponge, *Petrosia* sp. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(3), 928–935. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.03.005>
- Abubakar, H., A.T. Wahyudi, & M. Yuhana. (2011). *Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Jaspis sp. sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba*. Ilmu Kelautan. 16 (1): 35-40.
- Brown, A. E. (2012). *Benson's Microbiology Application: Laboratory Manual in General Microbiology*. McGraw-Hill Inc., Nw York.
- Chandrakala, N., & Priya, S. (2017). Vibriosis in Shrimp Aquaculture A Review. *IJSRSET*, 3(2), 27-33.
- Febria, F. A., Rahmadeni, Y., & Bachtiar, A. (2021). Antibacterial Potential Ethanol Extract Of Kayu Racun Leaf (*Rhinacanthus nasutus*) Against *Staphylococcus aureus* And Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pendidikan Matematika dan IPA*, 12(2), 180-188.
- Ginting, E. L., Rangian, L., Wantania, L. L., & Wullur, S. (2019). Isolation of symbiotic bacteria with red algae from Tongkaina waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2), 394-400.
- Hastari, I. F.; Sarjito; S. B. Prayitno. (2014). Karakterisasi Agensia Penyebab Vibriosis dan Gambaran Histologi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari Karamba Jaring Apung Teluk Hurun Lampung. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(3): 86-94.
- Judianti, O. W., Fiqri, M. M., Ansyori-KM, M. K., & Trimulyono, G. (2014). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Demospongiae dari Pantai Paciran Lamongan. *Sains dan Matematika*, 2(2).
- Kumowal, S., Fatimawali, F., & Jayanto, I. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas



- Putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *PHARMACON*, 8(4), 781-790.
- Kusumawati, D. E., Pasaribu, F. H., & Bintang, M. (2014). Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry*, 1(1), 45-50.
- Liempepas, A. G., W. A. Lolo, dan P. Yamlean. 2019. Isolasi dan Uji Antibakteri dari Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Callyspongia Aerizusa* serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacoon*. 8(2): 380-387. Available at: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacoon/article/view/29304/0>. diakses tanggal 14 Januari 2021.
- Madigan MT, Clark DP, Stahl D., Martinko JM *Brock Biologi Mikroorganisme*. edisi ke-13. Balai Pearson Prentice; Upper Saddle River, NJ, USA: 2010. Prinsip Dasar Mikrobiologi; hal.1-84.
- Mahardika, K dan. I. Mastuti. 2013. *Studi histopatologi: pembentukan sel-sel membesar pada organ ikan kerapu setelah terinfeksi Megalocytivirus*. Konferensi Akuakultur. 132-138
- Naid, T., Syaharuddin, K., Asnah, M. dan Sumarheni. 2013. Produksi Antibiotika Secara Fermentasi dari Biakan Mikroorganisme Symbion Rumput Laut *Eucheuma cottonii*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi Laboratorium Kimia Farmasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar. 17(3): 61-68
- Nurjanah, S; S. B. Prayitno; Sarjito. 2014. Sensitivitas Bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang Diisolasi dari Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sakit terhadap Berbagai Macam Obat Beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(4): 308-316.
- Pastra, D. A., & Surbakti, H. (2012). Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. *Maspari Journal: Marine Science Research*, 4(1), 77-82.
- Rahmadeni, Y., Febria, F. A., & Bakhtiar, A. (2019). Potential of Pakih Sipasan (*Blechnum orientale*) as Antibacterial Against *Staphylococcus aureus* and Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*.
- Ramesh, K; M. Natarajan; H. Sridhar; S. Umamaheswari. 2014. *Virulence Determination Among Vibrio harveyi Hatchery Isolates Through Haemolysis and Growth Constraint*. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*. 3(1): 109-114
- Rhandour, Z., M. Tarbaoui, M. Oumam, B. El-Amraoui, A. Bennamara & A. Abourriche. 2016. Extraction and recovery of bioactive metabolites from marine sponge "*Ircinia spinulosa*". *World Journal of Innovative Research*, 1(2): 9-13.
- Sarjito., Haditomo, Alfabetian. H. Condro, dan Prayitno S B., (2015). *Causative Agent Vibriosis pada Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus) yang Dibudidayakan di Kolam Beralinitas Rendah*. Seminar Nasional Ke-IV Hasil-hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro.
- Tran, L; L. Nunan; R. M. Redman; L. L. Mohny; C. R. Pantoja; K. Fitzsimmons; D. V. Lightner. 2013. *Determination of the*



- Infectious Nature of the Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome Affecting Peneid Shrimp. Diseases of Aquatic Organisms.* 105: 45-55.
- Wantania, L. L., Ginting, E. L., & Wullur, S. (2016). Isolasi bakteri simbiosis dengan spons dari Perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 3(1), 57-65.
- Wewengkang, D.S., Sumilat, D.A. & Rotinsulu, H. 2014. Karakterisasi Dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons *Haliclona* Sp. Dari Teluk Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi.*, 1(1):71-86.
- Xie, Y., Peng, Q., Ji, Y., Xie, A., Yang, L., Mu, S., Li, Z., He, T., Xiao, Y., Zhao, J. & Zhang, Q., 2021. Isolation and Identification of Antibacterial Bioactive Compounds From *Bacillus megaterium* L2. *Frontiers in Microbiology*, 12: p.645484
- Zaunit, M. M., Febria, F. A., & Bakhtiar, A. (2019). Pengendalian *Staphylococcus Aereus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus Aereus* Menggunakan Ramuan Obat Diare Masyarakat Maek. *Jurnal Metamorfosa*, 7(11), 14-