

**BIOPROSPEK AKTIVITAS METABOLIT SEKUNDER
DARI LAMUN (*Seagrass*) DAN BEBERAPA JENIS MAKROALGA (*Seaweeds*)
SEBAGAI KANDIDAT AGEN ANTIBAKTERI PATOGEN *Vibrio harveyi* YANG
MENYERANG UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)
(*Studi in-vitro*)**

Mochamad Untung Kurnia Agung, Yuniar Mulyani, dan Indah Riyantini

*Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan, Universitas Padjadjaran (UNPAD),
Bandung*

Jalan Jatinangor-Sumedang Km.21 Bandung

HP. 081575094241 / Email : m.untung@unpad.ac.id / mochamad.untung@gmail.com

ABSTRACT

*Bacterial diseases are seriousness problem in aquaculture. The uncontrolled of quality degradation of pond sites because of wastes and organic matters decomposition and also global climate changes has been predicted affect triggered the bacterial infections. *Vibrio harveyi* is one of pathogenic bacteria which againts Tiger shrimp (*Penaeus monodon*). The recovery strategies has been applied both in the rehabilitation of pond sanitary and also it has been focussed in curative methods to overcome infection activities. The usage of synthetic antibiotics has been reported gift any negative effects, either for environment and rised pathogenic resintance because of uncontrolled exposure.*

*Environmental friendly and based on biological methods has been promoted to overcome this problem. The usage of antibacterial agents derived from natural compounds has been recommended as an effective method. Several marine resources has been predicted as candidates of antibacterial agents againts *Vibrio harveyi*. Several seaweeds (macroalga) and seagrass has been explored in this research at in-vitro level of study to inhibit the activity of *Vibrio harveyi*. The result showed that all of the crude extracts derived from seagrass (*Thalassia sp*) and several kinds of seaweeds (*Padina sp*, *Gracilaria sp* and *Sargassum sp*) could inhibit the growth of *Vibrio harveyi* from the lowest concentration level (10 µg/mL). The highest inhibition activity has been showed from the antibacterial sensitivity test of crude extract of *Thalassia sp* at the concentration level of 10.000 µg/mL.*

Keywords : *macroalgae, seagrass, secondary metabolite, antibacteria, *Vibrio harveyi**

PENDAHULUAN

Penyakit bakterial merupakan salah satu ancaman yang saat ini masih dikhawatirkan oleh para pembudidaya udang di Indonesia. Beberapa spesies *Vibrio* sp diketahui telah menyerang komoditas udang windu, sehingga dikenal dengan penyakit Vibriosis. Setiap spesies vibrio memiliki intensitas parasitas yang berbeda-beda. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini dapat menyebabkan

kematian larva udang sampai 100% dalam waktu 1-2 hari.

Kondisi ini tentunya sangat merugikan kegiatan budidaya udang, yang selama ini menjadi primadona ekspor non migas di Indonesia. Permintaan konsumen dunia terhadap udang rata-rata naik 11,5% per tahun. Secara khusus, udang windu (*Panaeus monodon* FAB) merupakan salah satu produk unggulan perikanan Indonesia yang paling banyak diminati konsumen. Permintaan pasar terhadap udang windu

sangat tinggi, baik di dalam negeri maupun dari luar negeri.

Namun demikian, pada saat permintaan udang dunia terus meningkat, terjadi penurunan produksi udang di Indonesia dari 133,836 ton tahun 2003, dan 127,119 ton tahun 2004 menjadi 100,000 ton pada tahun 2005 (Dirjen Perikanan Budidaya 2006). Penurunan produksi udang di Indonesia mulai tahun 2003 hingga sekarang terutama disebabkan oleh serangan infeksi virus dan bakteri akibat buruknya kondisi perairan (Purnomo 1997).

Beberapa bahan alam yang dapat diprediksi sebagai kandidat bahan dapat mengatasi serangan penyakit vibriosis ini adalah beberapa makroalga laut (*seaweed*) dan lamun (*seagrass*). Penggunaan bahan-bahan alam dalam mengatasi serangan penyakit vibriosis lebih efektif dibandingkan dengan menggunakan bahan-bahan kimia sintetis, karena selain tidak menimbulkan efek samping juga mudah untuk didapatkan.

Lamun (*seagrass*) telah diketahui memiliki kandungan alkaloid dan terpenoid yang tinggi (Angka dan Suhartono 2000), yang berpotensi sebagai antibakteri, antijamur dan antiinflamasi (Kristanti 2008). Sementara itu, beberapa jenis makroalgae (*seaweed*) juga telah dieksplorasi potensi fitokimianya yang kaya akan alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol dan beberapa jenis terpenoid (Angka dan Suhartono 2000) dan terbukti mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen (Agung 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioprospek dari lamun (*Thalassia* sp) dan beberapa jenis makroalga *Gracillaria* sp, *Padina* sp dan *Sargassum* sp yang dikoleksi dari perairan Pantai Pangandaran sebagai sumber metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* yang menyebabkan penyakit vibriosis pada udang windu, dalam lingkup

studi *in-vitro* sehingga dapat dijadikan kandidat Agen Antibakteri Patogen *Vibrio harveyi*

BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel lamun dan makroalga dilakukan di Perairan Pantai Pangandaran, Kabupaten Ciamis. Proses ekstraksi dan uji sensitivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran Bandung. Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung. Isolat bakteri *Vibrio harveyi* didapatkan dari Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan di BBPBAP Kabupaten Jepara.

Prosedur Pengambilan Sampel Lamun dan Makroalga

Sampel lamun (*Thalassia* sp) dan makroalga yaitu *Gracillaria* sp, *Padina* sp dan *Sargassum* sp) dikoleksi dari perairan Pantai Pangandaran, Kabupaten Ciamis. Masing-masing jenis lamun dan makroalga diambil dari lingkungan perairan, dibersihkan dari kotoran dan substrat yang menempel kemudian dimasukkan ke dalam plastik berlabel untuk dicatat lokasi dan waktu pengambilannya setelah terlebih dahulu diidentifikasi dengan bantuan Buku Identifikasi Lamun dan Makroalga (Edward 1987). Sampel kemudian di simpan di dalam *cool box* untuk dibawa ke laboratorium.

Prosedur Uji Fitokimia Lamun dan Makroalga

Potensi fitokimia lamun dan makroalga diterminasi untuk beberapa senyawa meliputi : *Alkaloid, Flavonoid, Polifenol, Saponin, Steroid* dan *Terpenoid*. Pengujian fitokimia dilakukan dengan reagen spesifik menurut panduan yang dikembangkan oleh Kristanti dkk. (2008)

Prosedur Ekstraksi Lamun dan Makroalga

Ekstraksi daun lamun dan *thallus* makroalga dari masing-masing jenis dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 1 kg sampel (untuk setiap jenis lamun dan makroalga) yang telah dikeringanginkan selama 48 jam hari, dicacah halus kemudian direndam dengan pelarut methanol (MeOH) dalam erlenmeyer hingga seluruh bagian sampel terendam. Maserasi dilakukan selama 72 jam dengan pengambilan filtrat dan penggantian pelarut dilakukan setiap 24 jam.

Filtrat disaring dengan menggunakan kertas saring *Whattman* No 1, kemudian filtrat ditampung dalam gelas becker dan diukur volumenya. Filtrat yang sudah dipisahkan kemudian diuapkan dengan *Rotary Evapourator* (*Rotavapour*) pada suhu 60°C hingga terbentuk ekstrak kasar dalam bentuk pasta di dinding *flash*. Ekstrak kasar (pasta) yang didapat kemudian ditimbang beratnya dan ditempatkan di dalam *vial* (Burgess *et al.* 2003).

Prosedur Elusidasi Ekstrak Lamun dan Makroalga

Ekstrak kasar dari masing-masing sampel lamun dan makroalga difraksinasi melalui Kromatografi Kolom Terbuka (KKT) dengan *adsorbent* Silika Gel dengan *eluen* yang digunakan adalah campuran Kloroform-Methanol yang ditingkatkan kepolarnya yakni dengan perbandingan Kloroform : Methanol berturut-turut (4 : 1), (3 : 1), (2 : 1), dan (1 : 1). Fraksinasi dengan menggunakan eluen yang ditingkatkan kepolarnya ini dimaksudkan agar senyawa yang terkandung dalam ekstrak dapat terpisah dengan baik berdasarkan kepolarnya.

Setiap 20 mL *eluat* atau fraksi yang

keluar ditampung dalam gelas-gelas vial. Setiap fraksi dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), kemudian noda yang muncul divisualisasi dengan cara mencelupkan plate KLT pada larutan *Vanilin Sulfat* kemudian dibakar di atas *Hot Plate*. Fraksi yang menunjukkan pola spot dan nilai *Rf* yang sama digabung. (Burgess *et al.* 2003).

Prosedur Uji In-Vitro (Uji Sensitivitas Antibakteri)

Uji sensitivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode Difusi Lempeng Agar (*Agar Disk-Diffusion Assay*) yang mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh Laboratorium Hama dan Penyakit BBPBAP Jepara dengan 5 (lima) variasi konsentrasi ekstrak uji yaitu 10 µg/mL, 100 µg/mL, 1000 µg/mL dan 10.000 µg/mL untuk masing-masing sampel lamun dan makroalga, dengan uji kontrol pelarut menggunakan Methanol. Adapun pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali.

Adapun Uji Sensitivitas Antibakteri menurut prosedur Laboratorium Hama dan Penyakit BBPBAP Jepara yaitu diawali dengan penyiapan isolat bakteri uji (*Vibrio harveyi*) dalam media *Nutrient Broth* (NB) dengan kepadatan 10⁷. Suspensi biakan kemudian dioleskan secara merata pada permukaan media *Nutrient Agar* (NA) pada cawan petri dengan menggunakan lidi kapas steril. Sebanyak 20 µL ekstrak kemudian diteteskan pada kertas disk dengan menggunakan pipet mikro, selanjutnya kertas disk yang telah mengandung ekstrak diletakkan pada permukaan media inokulasi dengan menggunakan pinset steril. Biakan selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu inkubator 37°C. Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel lamun (*seagrass*) dan makroalga (*seaweed*) dilakukan di perairan Pantai Pangandaran, Kabupaten Ciamis (Pantai Timur dan

Pantai Karapyak). Pengambilan sampel dilakukan melalui *purposive random sampling*.

Adapun jenis lamun dan makroalga yang berhasil didapatkan disajikan dalam Tabel 1 sebagai berikut :

Tabel 1. Jenis sampel lamun (*seagrass*) dan makroalga (*seaweed*) yang terambil

| No | Jenis | Jumlah Terambil | Lokasi |
|----|-----------------------|-----------------|-----------------|
| 1 | <i>Sargassum sp</i> | 750 gram | Pantai Karapyak |
| 2 | <i>Padina sp</i> | 500 gram | Pantai Karapyak |
| 3 | <i>Gracillaria sp</i> | 500 gram | Pantai Timur |
| 4 | <i>Thalassia sp</i> | 3000 gram | Pantai Karapyak |

Sampel yang telah didapat kemudian dikeringanginkan di laboratorium selama 5 (lima) hari hingga siap untuk dilakukannya ekstraksi.

Uji Fitokimia *Thalassia sp* dan *Sargassum sp*

Hasil pengujian kandungan fitokimia lamun (*Thalassia sp*) dan makroalga (*Sargassum sp*) memberikan hasil sebagai berikut :

Tabel 2. Uji Fitokimia *Thalassia sp* dan *Sargassum sp*

| No | Golongan Senyawa | Pereaksi | Hasil | |
|----|------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | | | <i>Thalassia sp</i> | <i>Sargassum sp</i> |
| 1 | Alkaloid | Dragendorf | + | - |
| 2 | Flavonoid | HCl+Mg+Amylalkohol | + | + |
| 3 | Saponin | Aquades | + | + |
| 4 | Steroid | Lieberman Burchard | + | + |
| 5 | Triterpenoid | Lieberman Burchard | - | - |
| 6 | Polifenol | Fe(III) Cholride | - | - |

Dari hasil di atas diketahui bahwa, pada *Thalassia sp* (sebagai tumbuhan kelompok *angiospermae*) ditemukan keberadaan alkaloid, sedangkan pada makroalga *Sargassum sp* tidak terdeteksi keberadaan alkaloid. Triterpenoid dan Polifenol juga tidak terdeteksi dari kedua jenis bahan tersebut. Sementara itu, Flavonoid, Saponin dan Steroid ditemukan pada lamun (*Thalassia sp*) maupun pada makroalga (*Sargassum sp*).

Maserasi dan Ekstraksi

Proses maserasi sampel lamun

(*seagrass*) dan makroalga (*seaweed*) dilakukan dengan menggunakan pelarut Methanol (MeOH) dengan perbandingan sampel : pelarut (1 : 3). Proses maserasi dilakukan selama 72 jam, dengan pengambilan filtrat dan penggantian pelarut dilakukan setiap 24 jam.

Filtrat yang tersaring kemudian dikisatkan untuk mendapatkan ekstrak pasta dengan menggunakan *rotary evaporator*. Adapun hasil ekstrak pasta yang dihasilkan disajikan dalam tabel 3 sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil ekstraksi sampel lamun (*seagrass*) dan makroalga (*seaweed*)

| No | Maserasi | Volume Filtrat | Ekstrak didapat |
|----|-----------------------|----------------|-----------------|
| 1 | <i>Sargassum sp</i> | 500 mL | 1,20 gram |
| 2 | <i>Padina sp</i> | 450 mL | 0,94 gram |
| 3 | <i>Gracillaria sp</i> | 400 mL | 0,72 gram |
| 4 | <i>Thalassia sp</i> | 1000 mL | 2,7 gram |

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak yang dihasilkan rata-rata 1 gram untuk 500 mL filtrat.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui sebaran polaritas dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak hasil evaporasi.

KLT dilakukan dengan *mobile phase* berupa campuran Chloroform : Methanol (4 :1) yang telah diuji memiliki kemampuan untuk menarik fraksi senyawa dengan baik pada *plate* Silica Gel, yang menjadi *stationer phase* nya.

Adapun hasil visualisasi KLT tersaji dalam tabel 4 sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil visualisasi KLT dari ekstrak sampel lamun (*seagrass*) dan makroalga (*seaweed*) dengan *mobile phase* Chloroform : Methanol (4:1)

| Ekstrak | Jumlah Noda |
|----------------------|-------------|
| <i>Sargassum sp</i> | 5 |
| <i>Padina sp</i> | 3 |
| <i>Gracilaria sp</i> | 3 |
| <i>Thalassia sp</i> | 4 |

Berdasarkan data tabel 4 di atas terlihat bahwa ekstrak *Sargassum sp* (*seaweed*) dan *Thalassia sp* (*seagrass*) memiliki jumlah noda yang terbanyak dibandingkan dengan dua sampel yang lainnya. Banyaknya jumlah noda (spot) pada TLC dapat mengindikasikan banyaknya sebaran polaritas metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak kasar.

Uji In Vitro Ekstrak Kasar Lamun (*seagrass*) dan Makroalga (*seaweeds*) terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

Ekstrak lamun (*seagrass*) dan makroalga (*seaweed*) selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Vibrio harveyi* dengan 5 (lima) variasi konsentrasi ekstrak uji yaitu 10 µg/mL, 100 µg/mL, 1000 µg/mL dan 10.000 µg/mL dan dengan uji kontrol pelarut menggunakan Methanol. Adapun hasil uji sensitivitas antibakteri ekstrak kasar ini dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini :

Tabel 5. Rerata Diameter Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* yang Terbentuk dari Uji Sensitivitas Antibakteri terhadap Ekstrak Lamun (*Seagrass*) dan Beberapa Jenis Makroalga (*Seaweeds*)

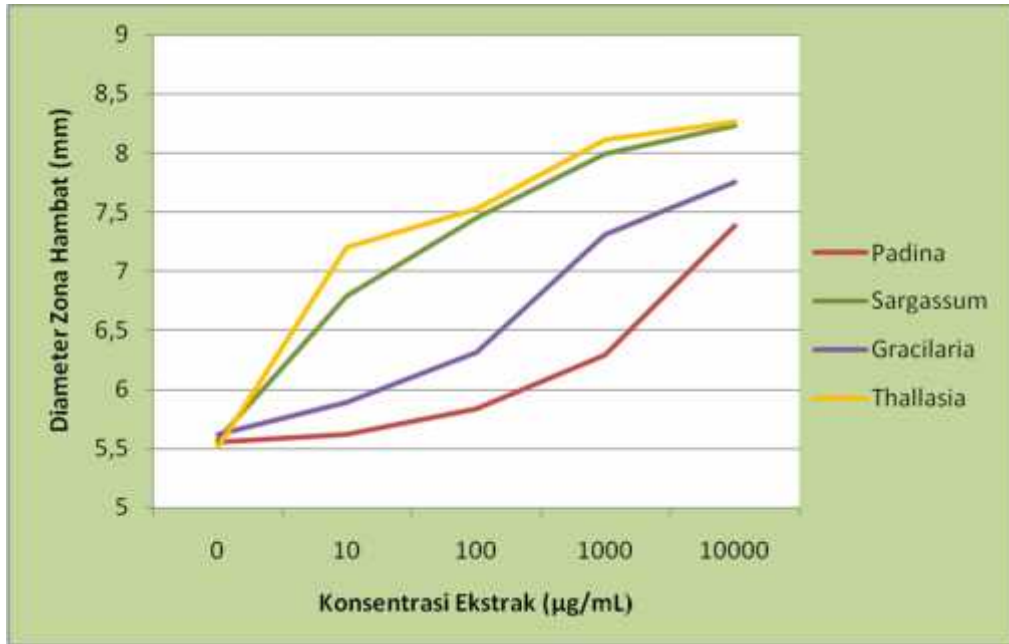
| Jenis Ekstrak | Kons. Ekstrak ($\mu\text{g/mL}$) | Diameter Zona Hambatan (mm) | | | Rata-rata (mm) | ISD |
|----------------------|------------------------------------|-----------------------------|------|------|----------------|------|
| | | (1) | (2) | (3) | | |
| <i>Padina sp</i> | 10000 | 7,14 | 7,77 | 7,27 | 7,39 | 0,33 |
| | 1000 | 5,99 | 7,23 | 5,64 | 6,29 | 0,84 |
| | 100 | 5,89 | 6,09 | 5,54 | 5,84 | 0,28 |
| | 10 | 5,49 | 5,86 | 5,52 | 5,62 | 0,21 |
| | 0 (Methanol) | 5,38 | 5,47 | 5,82 | 5,56 | 0,23 |
| <i>Sargassum sp</i> | 10000 | 8,04 | 8,19 | 8,47 | 8,23 | 0,22 |
| | 1000 | 8,17 | 8,03 | 7,78 | 7,99 | 0,20 |
| | 100 | 7,58 | 7,32 | 7,44 | 7,45 | 0,13 |
| | 10 | 7,30 | 6,53 | 6,55 | 6,79 | 0,44 |
| | 0 (Methanol) | 5,57 | 5,62 | 5,56 | 5,58 | 0,03 |
| <i>Gracilaria sp</i> | 10000 | 8,20 | 7,47 | 7,62 | 7,76 | 0,39 |
| | 1000 | 7,47 | 7,03 | 7,44 | 7,31 | 0,25 |
| | 100 | 6,34 | 6,12 | 6,47 | 6,31 | 0,18 |
| | 10 | 5,91 | 5,83 | 5,93 | 5,89 | 0,05 |
| | 0 (Methanol) | 5,68 | 5,67 | 5,52 | 5,62 | 0,09 |
| <i>Thalassia sp</i> | 10000 | 8,25 | 8,24 | 8,26 | 8,26 | 0,01 |
| | 1000 | 8,11 | 8,07 | 8,14 | 8,11 | 0,04 |
| | 100 | 7,53 | 7,50 | 7,56 | 7,53 | 0,03 |
| | 10 | 7,19 | 7,20 | 7,21 | 7,20 | 0,01 |
| | 0 (Methanol) | 5,50 | 5,53 | 5,50 | 5,51 | 0,02 |

ISD = Indeks Standar Deviasi

Berdasarkan data rerata diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* yang terbentuk dari hasil uji sensitivitas antibakteri terhadap ekstrak lamun (*seagrass*) dan beberapa jenis makroalga (*seaweed*) pada Tabel 5 di atas dapat diketahui bahwa diameter rata-rata zona hambatan yang terbesar diperoleh dari uji ekstrak *Thalassia sp* pada konsentrasi 10.000 $\mu\text{g/mL}$ yaitu sebesar 8,26 mm, sedangkan diameter rata-rata zona hambatan yang terkecil diperoleh dari uji ekstrak *Padina sp* pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ yaitu sebesar 5,62 mm. Sementara

itu, untuk kontrol uji negatif yaitu Methanol, diameter rata-rata zona hambatan yang terbesar diperoleh dari uji ekstrak *Gracilaria sp* yaitu sebesar 5,62 mm, sedangkan diameter rata-rata zona hambatan yang terkecil diperoleh dari uji ekstrak *Thalassia sp* yaitu sebesar 5,51 mm.

Hubungan antara pembentukan diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* hasil uji sensitivitas antibakteri ekstrak beberapa jenis lamun (*seagrass*) dan makroalga (*seaweed*) tertera pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Grafik pembentukan diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* hasil uji sensitivitas antibakteri ekstrak lamun (*seagrass*) dan beberapa jenis makroalga (*seaweed*)

Diameter zona hambatan (Gambar. 1) yang terbentuk untuk semua jenis ekstrak akan tampak semakin besar seiring dengan kenaikan konsentrasi ekstrak yang diujikan. Informasi ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak apa?? maka semakin tinggi pula kandungan bahan bioaktifnya, yang berarti pula semakin kuat kemampuan antibakterinya. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Prijono (1994) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi kandungan bahan aktifnya yang dapat meningkatkan kemampuan bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Data yang ada juga menunjukkan bahwa ekstrak lamun (*seagrass*) dan beberapa jenis makroalga (*seaweeds*) telah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada konsentrasi uji yang terendah yaitu 10 µg/mL. Menurut Sammes (1978), suatu bahan dapat dikatakan memiliki potensi antibakteri bila mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bahkan

sanggup untuk membunuh bakteri pada konsentrasi yang rendah. Keberadaan senyawa alkaloid pada lamun (*Thallasia* sp) (hasil Uji Fitokimia Tabel 2) memberikan pengaruh terhadap besarnya daya hambat ekstrak kasarnya terhadap bakteri *Vibrio harveyi* bila dibandingkan dengan jenis bahan penelitian lain yang diujikan. Hal ini dapat dijelaskan bahwa alkaloid merupakan bahan alam yang telah diketahui memiliki kemampuan sebagai agen antibakteri (Angka dan Suhartono 2000).

KESIMPULAN

Ekstrak lamun (*Thallasia* sp) dan beberapa jenis makroalga (*Padina* sp, *Gracilaria* sp dan *Sargassum* sp) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* mulai dari konsentrasi yang paling rendah (10 µg/mL) dengan konsentrasi penghambatan tertinggi diperoleh dari uji sensitivitas antibakteri *Vibrio harveyi* oleh ekstrak lamun *Thallasia* sp pada konsentrasi uji 10.000 µg/mL.

Ekstrak lamun (*Thalassia* sp) dan beberapa jenis makroalga (*Padina* sp, *Gracilaria* sp dan *Sargassum* sp) dapat dijadikan sebagai kandidat bahan antibakteri patogen *Vibrio harveyi*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada LPPM Universitas Padjadjaran yang telah membantu pembiayaan penelitian ini melalui Hibah Penelitian Peneliti Muda (Litmud) Dana DIPA Universitas Padjadjaran Tahun Anggaran 2010, juga kepada asisten riset kami : Dedi Hidayat, S.Pi. dan Karina Beiby Yulian, S.Pi.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1995. *Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Etnobotani*. Yogyakarta
- Agung, M. U. K. 2007. *Isolasi Fraksi Gabungan Aktif Agen Antibakteri dari Ekstrak Klorofom Bakteri Photobacterium phosphoreum yang Bersimbiosis pada Organ Cahaya Cumi-cumi Loligo duvauceli*. Prosiding Seminar Nasional Moluska. BRKP-DKP - Jurusan Ilmu Kelautan FPIK. Universitas Diponegoro : Semarang. Hal 54-62
- Agung, M. U. K. 2007. *Penelusuran Efektifitas Beberapa Bahan Alam Sebagai Kandidat Antibakteri dalam Mengatasi Penyakit Vibriosis pada Udang Windu*. Makalah. Fakultas Perikanan dan Biofouling. Volume 19. Taylor & Francis Ltd.
- Cahyono, M.S. dan Lia, D.Y. 1996. *Senyawa Bioaktif dalam Daun Pace Alas : Suatu Uji Biologis dengan Brine Shrimp Lethally* Ilmu Kelautan : Universitas Padjadjaran. 36 Hal..
- Anggadiredja, J. T., Achmad Zatnika, Heri Purwoto, Sri Istini. 2006. *Rumput Laut*. Penebar Swadaya. Jakarta. 147 Hal.
- Angka, Sri Lestari dan Suhartono, Maggy T. 2000. *Bioteknologi Hasil Laut*. PKSPL. IPB. Hal 79-98.
- Angkasa, Wisman Indra., Purwoto, Heri., dan Anggadiredja, Jana. *Teknik Budidaya Rumput Laut*. Blog diambil dari <http://kenshuseidesu.tripod.com/id49.html> (diakses pada tanggal 26 April 2010).
- Anonim. 1998. *Teknik Pemisahan Kimia : Teknik Pemisahan Antibiotika*. Kursus Singkat Teknik Pemisahan Kimia. Yogyakarta
- Bonang, G. dan Koeswardono, E.S. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan klinik*. PT. Gramedia. Jakarta. 199 hlm.
- Bradley, S.M. 1999. *Biosynthesis of Marine Natural Product : Microorganisms and Macroalgae*. University of Washington. Seattle, USA. 143 pp.
- Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Hitchens, A.P. 1948. *Antimicrobial and Cytotoxic Terpenoid from Tropical Green Algae of Family Udoteacea*. Hydrobiologia. 18 : 135 – 170.
- Burgess, J.G., Boyd, K.G., Amstrong, E., Zhong Jiang, Liming Yan, Matz, B., May, U., Pisacane, T., Granmo, A. and Adam, D.R. 2003. *The Development of Marine Natural Product based Antifouling Paint Test*. Fakultas MIPA Universitas Diponegoro. Semarang. 47 hlm.
- Dahuri, R. 2005. *Kelautan, Potensi Memakmurkan Rakyat*. Harian Kompas, Senin 20 Juni 2005.

- Dwidjoseputro, D. 1987. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hlm.
- Egidius, E. 1987. *Vibriosis : Pathogenicity and Pathology*. Aquaculture (Review). 27 : 15-28
- Fardiaz, S. 1989. Analisis Mikrobiologi Pangan. Edisi Pertama. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 127 hlm.
- Farkas, J. dan Malik, S.E. 1986. *Vibrio Disease of Sheatfish (Silurus sp)*. Aquaculture. 24 : 81-88
- Fenical, W. and Paul, V.J. 1984. *Antimicrobial and Cytotoxic Terpenoid from Tropical Green Algae of Family Udoteacea*. Hydrobiologia. 17 : 135-170
- Fessenden and Fessenden. 1983. *The Technique and Experiments of Organic Chemistry*. PWS Publisher. USA
- Harborne, J.W. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung
- Helianti, Is. 2005. *Metagenomik, Era Baru Bioteknologi*. Harian Kompas, Senin 6 Juni 2005
- <http://www.dio.davidson.edu/course/anphysis/1999/cody/definition.htm>
- Jawestz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. 1984. *Review of Medical Microbiology*. Lange Medical Publication. California. 34 : 56-67
- Kadi, Achmad. 2004. *Potensi Rumput Laut Dibeberapa Perairan Pantai Indonesia*. OSEANA. Vol 29 (4). Hal 25-36.
- Kadi, Achmad. 2005. *Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di perairan Indonesia*. Oseana. Vol 30 (4). Hal 19-29.
- Kristanti, Alfinda Novi., Aminah, Nanik Siti., Tanjung, Mulyadi., dan Kurniadi, Bambang. 2008. *Buku Ajar fitokimia*. Penerbit Airlangga University Press : Surabaya. 174 Hal.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Rajagrafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Lightner, D.V. 1983. *Disease of Cultured Penaeid Shrimp in J.P. Mc Very. CRC Handbook of Mariculture*. Vol. I. CRC Press. Florida. 1 : 289-298
- Manitto, P. 1981. *Biosynthesis of Natural Product*. Ellis Harwood Ltd. England. 211 pp.
- Mariam, A. dan Mintarjo, K. 1987. *Preliminary Study on Bacteria Isolated from Shrimp Larvae Infected with Shrimp Disease*. Bulletin Brackish Water Aquaculture Development Center. 8 : 71-80
- Nybakken, J.W. 1992. *Biologi Laut : Suatu Pendekatan Ekologis*. PT Pustaka Utama Gramedia. Jakarta
- Pelczar, M.A., Chan, J.E.C.S., dan Kreig, H.R. 1993. *Microbiology : Concept and Application*. Mc. Graw Hill Inc. 952 pp
- Romimohtarto, K. dan Juwana, S. 1999. *Biologi Laut : Ilmu Pengetahuan tentang Biologi Laut*. Puslitbang Oseanologi LIPI. Jakarta. 527 hlm
- Rukyani, A. 1999. *Pengenalan Jenis-Jenis Penyakit Utama pada Udang Windu serta Cara Penanggulangannya*. BALITKANWAR. Puslitbang Perikanan. 10 : 1-6
- Samways, M.J. 1981. *Biological Control of Pest and Weeds*. Mc Millan India Ltd. Bangalore, India
- Soemadihardjo, S., Romimohtarto, K., dan Suhardjono. 1999. *Prosiding Seminar VI Ekosistem*. Pekanbaru, 15-18 September 1998. LIPI. Jakarta. 326 hlm.
- Sudiro, I. 1998. *Produk Alam Hayati Laut dan Prospek Pemanfaatannya di Bidang Kesehatan dan Kosmetika*

- dalam Soemadihardjo et al., (Ed.).
Prosiding Seminar Bioteknologi
Kelautan Indonesia I. LIPI. Jakarta
- Sumaryono, W. 1994. *Fenomena
Metabolit Sekunder Tanaman dan
Pengembangan Fitofarmako.*
Buletin Ristek Dewan Riset
Nasional. 28 : 25-30
- Suryabrata, S. 2003. *Metodologi
Penelitian.* Edisi Kedua. PT Raja
Grafindo Persada. Jakarta
- Taslihan, A. 1988. *Penyakit Udang dan
Cara Penanggulangannya.* BPAP.
Jepara
- Taslihan, A. 1992. *Vibriosis pada Udang
Windu.* BPAP. Jepara. (Tidak
dipublikasikan)