



**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR BUNGA KARANG (*Acanthella cavernosa*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA IN-VITRO**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana pada Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang

**OLEH:  
DIAN ANDRIANI  
0210850017**

**Dosen Penguji I**

.....

**Tanggal :**

**Dosen Penguji II**

.....

**Tanggal :**

**Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I**

**DR. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS**

**Tanggal :**

**Dosen Pembimbing II**

**(Ir. ANIK MARTINAH, MSc)**

**Tanggal :**

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan**

**( Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS)**

**TANGGAL :**



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Komoditas udang windu telah dikenal sebagai andalan utama sub sektor perikanan dalam perolehan devisa. Hal ini terlihat dari program Peningkatan Ekspor Hasil Perikanan (Protekan) 2003 dari target perolehan devisa USD 10 milyar, perolehan dari udang adalah komponen terbesar yaitu sebesar 6,7 milyar USD (Rukyani, 2000).

Hingga akhir 2004, Indonesia memiliki potensi lahan tambak udang seluas 913.000 hektare. Lahan tersebut belum semuanya mampu dimanfaatkan secara optimal. Pada 2003, potensi luas tambak yang telah tergarap masih 478.847 hektare dengan volume produksi 191.723 ton atau 400 kilogram per hektare. Pada 2004, luas areal tambak yang berhasil dimanfaatkan meningkat menjadi 328.425 hektare dengan volume produksi 134.654 ton 410 kilogram per hektare. Produksi ini tentunya masih jauh dari target yang ditetapkan oleh Direktorat Jenderal (Dirjen) Perikanan Budidaya DKP sebesar 690 kilogram per hektare. Untuk itu, Dirjen Perikanan Budidaya DKP untuk tahun-tahun ke depan terus berusaha meningkatkan kapasitas produksi tambak udang. Tahun 2006, ditargetkan luas areal tergarap bisa mencapai 397.398 hektare dengan volume produksi 251.599 ton. Pada 2006 seluas 480.850 hektare dengan volume produksi 281.901 ton. Sedangkan, pada 2007 seluas 581.825 hektare dengan volume produksi 318.852 ton. Berturut-turut pada 2008 dan 2009 masing-masing ditargetkan luas areal 704.013 hektare dan 851.852 hektare dengan volume produksi masing-masing sebanyak 362.935 ton atau 510 kilogram dan 416.616 ton (Anonymous, 2005).

Menurut Ariyanto (2004), produktivitas budidaya udang terutama udang windu di Indonesia mencapai puncaknya pada tahun 1991-1994. Setelah periode tersebut

jumlah produksi udang budidaya semakin menurun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rukyani (2000), keragaan produksi udang secara nasional sejak 1994 sampai 2000 tidak menunjukkan peningkatan bahkan terjadi penurunan dari sekitar 100.000 ton/tahun menjadi hanya 70.000 ton/tahun. Berbagai kendala telah diketahui sebagai penghambat peningkatan produksi udang windu di tambak, namun penyakit dikenal sebagai penyebab utama.

Dari penelitian inventarisasi telah dilaporkan jenis-jenis penyakit yang sering menyerang udang windu seperti parasit protozoa (*Zoothamnium*, *Epystilis*, *Vorticella*), jamur (*Lagenidium*, *Fusarium*), bakteri (*Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*), dan virus (*Monodon Baculo Virus*) di Sulawesi Selatan, Bali dan Jawa (Atmomarsono *et al*, 1993 dalam Suryati *et al*, 1998). *Vibrio harveyi* diakui sebagai pathogen yang berbahaya dalam pembenihan larva udang di seluruh wilayah asia tenggara. Pada budidaya udang windu intensif, turunan *vibrio harveyi* yang ganas menyebabkan kematian yang efektif pada tingkatan hatchery. Fenomena penyakit yang disebabkan oleh strain ini pada umumnya dihubungkan sebagai penyakit “luminous bacterial” atau “luminous vibriosis” (Harris dan Owens, 1999).

Sampai saat ini penelitian penanggulangan penyakit masih terbatas pada pemakaian bahan-bahan kimia seperti formalin, *malachite green* serta beberapa jenis antibiotik seperti *chloramfenicol*, *oxytetracyclin* dan *prefuran* (Brown, 1998 dalam Suryati *et al*, 1998) yang dalam penggunaannya belum diperoleh hasil yang memuaskan karena pada umumnya bahan-bahan tersebut tidak selektif sehingga dikhawatirkan akan menurunkan mutu lingkungan (Suryati *et al*, 1998). Penggunaan antibiotik juga dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik serta mencemari lingkungan perairan

yang pada gilirannya akan menimbulkan masalah baru bagi usaha budidaya udang (Muliani *et al*, 1998 dalam Yahya *et al*, 2002).

Pemakaian obat-obatan yang berasal dari alam telah lama dikenal orang dan seringkali dijumpai bahan yang memiliki khasiat penyembuhan yang tinggi (Supriyono, 1999). Namun penggunaan bahan alami masih terbatas pada saponin dan rotenon (Suryati *et al*, 1998). Dengan ditemukannya spongouridin dan spongotimidin dari sponge *Cryptotethia crypta* serta diisolasinya turunan prostaglandin dari karang *Plexaura homomalla* maka penelitian bahan alam ini tidak hanya diarahkan pada tanaman darat saja, tetapi juga pada biota laut seperti sponge, *tunikate* dan *bryozoon* (Supriyono, 1999).

Diperkirakan 15.000 spesies sponge hidup di perairan laut dan danau (Wibowo *et al*, 2003). Bunga karang (sponge) merupakan salah satu invertebrata laut yang memiliki potensi besar dalam menghasilkan bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dan anti jamur ((Parenrengi, 2002). Sebagian besar senyawa-senyawa sponge dapat diklasifikasikan sebagai anti-inflammatory, antitumor, immuno atau neuro-suppressive, antiviral, antimalaria, antibiotik atau antifouling. Senyawa-senyawa yang telah ditemukan yaitu nukleosida, bioaktif terpenes, sterol, cyclic peptide, alkaloid, asam lemak, peroksida, dan derivasi dari asam amino (Tramper 1999 dalam Ravichandran *et al*, 2007). Salah satu jenis bunga karang yang memiliki senyawa bersifat antibakteri adalah *Acanthella cavernosa*.

*Acanthella cavernosa* termasuk dalam ordo Halichondrida, dimana mengandung senyawa Kalihinol-A (Miyaoaka *et al*, 1998 dalam Ravichandran *et al*, 2007) yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (Chang *et al*, 1984 dalam Paul *et al*, 2007).

## 1.2 Rumusan Masalah

Salah satu hambatan yang menyebabkan rendahnya tingkat kelulushidupan udang windu adalah masalah timbulnya penyakit (Yahya et al, 2002). Penyakit terjadi akibat adanya interaksi antara inang yang lemah, pathogen yang kuat, dan kualitas lingkungan yang menurun akibat berbagai bahan pencemar (Madeali et al, 2004). Permasalahan yang paling serius dalam penyediaan benih udang windu adalah kematian massal yang disebabkan oleh serangan penyakit terutama bakteri menyala (*luminescent vibriosis*) atau dikenal penyakit kunang-kunang (Rukyani *et al*, 1992) yang disebabkan oleh jenis bakteri *Vibrio harveyi* (Rukyani, 2000).

Menurut Zafran dan Ibnu (2004), infeksi bakteri di *hatchery* umumnya ditanggulangi menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat, jenis maupun dosisnya, dapat memicu timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik tersebut.

Untuk mengatasi hal tersebut, maka perlu dicari alternatif pengendalian penyakit vibriosis dengan memanfaatkan bioaktif (bahan-bahan aktif alami) yang berasal dari biota laut. Bunga karang (sponge) merupakan salah satu invertebrata laut yang memiliki potensi besar dalam menghasilkan bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dan anti jamur ((Parenrengi, 2002). Dijelaskan pula oleh Kelly *et al* (2003), bahwa metabolit sekunder dari sponge memiliki sifat antimikrobal, termasuk kemampuan bertahan melawan mikrobial pathogen. Produksi metabolit antimikrobal oleh sponge akan bermanfaat dalam mencegah infeksi oleh bakteri pathogen atau jamur (Reswig, 1973 dalam Kelly et al, 2003).

Sponge kaya akan senyawa kimia yang dikenal sebagai bioaktif atau biotoksin seperti karotin, asam amino, sterol, asam lemak, brominat phenol, derivat senyawa dibromotyrosine, dan bromophyrol (Parenrengi, 2002). Ditambahkan oleh Suryati et al. (1996) dalam Parenrengi (2002) bahwa senyawa bioaktif yang diperoleh dari sponge antara lain golongan asam fenolat, steroid, dan terpenoid menunjukkan aktivitas relatif lebih kuat terhadap bakteri dan jamur dibandingkan dengan bahan kimia atau antibiotik yang beredar dewasa ini seperti *kloramfenikol*, *malachite green* dan *frefuran* pada konsentrasi yang diperbolehkan.

*Acanthella cavernosa* termasuk dalam ordo Halichondrida, dimana pada umumnya mengandung senyawa isocyano terpenes (Paul et al., 2007). Senyawa diterpenes kalihinol A dan kalihinol F yang diisolasi dari *Acanthella cavernosa* dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* (Chang et al, 1984 dalam Paul et al, 2007).

Dari uraian di atas dapat diperoleh suatu informasi bahwa salah satu bunga karang (sponge) dari jenis *Acanthella cavernosa* dapat dijadikan sebagai alternatif pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri . Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang uji efektifitas ekstrak bunga karang *Acanthella cavernosa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* sehingga dapat dimanfaatkan secara tepat dalam penanggulangan penyakit.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

#### 1.4 Kegunaan Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh konsentrasi yang tepat dari ekstrak *Acanthella cavernosa* untuk menanggulangi penyakit vibriosis pada udang windu.

#### 1.5 Hipotesis

H0 : Diduga penggunaan ekstrak kasar bunga karang *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan bakteri *Vibrio harveyi*.

H1 : Diduga penggunaan ekstrak kasar bunga karang *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan bakteri *Vibrio harveyi*.

#### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan di laksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya pada bulan April-Mei 2008.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bakteri *Vibrio harveyi*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Salle (1961), klasifikasi dari bakteri *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

Phylum	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Spirillaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio harveyi</i>

Bakteri ini bersifat gram negatif, fakultatif anaerobik, fermentatif, bentuk sel batang dengan ukuran panjang antara 2-3  $\mu\text{m}$ , menghasilkan katalase dan oksidase, bergerak dengan satu flagella pada ujung sel (Austin, 1988 dalam Feliatra, 1999). *Vibrio* merupakan bakteri patogen oportunistis, artinya dalam kondisi udang tidak sehat maka bakteri ini akan berubah menjadi patogen (Rukyani *et al*, 1992). Ditambahkan pula oleh Winarsih *et al* (2003), bakteri ini bergerak aktif dengan flagella polar dan memberikan uji oksidase yang positif.

Pada isolasi bakteri, koloni akan terbentuk setelah isolasi selama 24 jam. Bentuk koloni halus, cembung, melingkar umumnya dengan garis permukaan yang teratur dan berdiameter kira-kira 2,5 mm. Dalam TCBSA koloni berwarna hijau atau kuning

tergantung kapasitas mengasamkan sukrosa. Dalam keadaan gelap dapat menimbulkan *fenomenon luminescence* (Anonymous, 2002).

### 2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Penyakit vibriosis ini mula-mula ditemukan oleh Canestrini pada tahun 1983 di Italia dan saat ini vibriosis merupakan penyakit yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius di seluruh usaha budidaya ikan di laut dan air payau di dunia (Prajitno, 2005).

*Vibrio* ditemukan di habitat-habitat aquatik dengan kisaran salinitas yang luas. Umumnya ditemukan di lingkungan estuarin dan laut serta terdapat pada permukaan intestinal hewan laut sedangkan beberapa spesies ditemukan di air tawar (Bauman dan Lee, 1984). Prajitno (2005) menyatakan bahwa pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati. Bakteri *Vibrio* termasuk jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi, secara optimum pada salinitas 20-30 ppt. Bakteri dapat tumbuh baik pada kondisi alkali pH optimum 7,5-8,5.

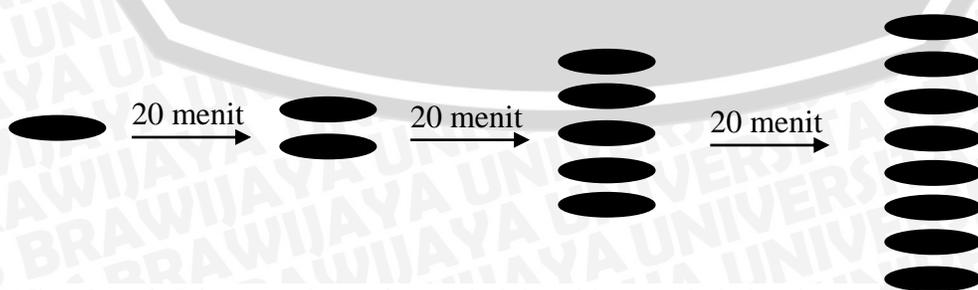
Dari hasil survei tahun 1992-1997 sepanjang pantai utara Jawa, mulai dari pantai Tuban (Bulu, Bancar, Jenu, Palang), Gresik (Sedayu, Manyar), Sidoarjo, Bangil (Raci), Probolinggo, Karang tekok, Banyuwangi (Suri Tani Pemuka) setiap muncul kasus *Vibrio* kondisi salinitasnya rata-rata > 25 ppt (Prajitno *et al*, 1998). Menurut Rukyani *et al.*, (1992), penyakit kunang-kunang hanya dikenal di daerah tropis seperti Philipina, Thailand, Indonesia dan Equador. Penyakit ini telah menyebar di seluruh Indonesia dan kasus serangannya dilaporkan terutama terjadi di daerah Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulsel, Bali dan Lampung.

### 2.2.3 Pertumbuhan

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik yang meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi, selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteriostatik (Prajitno *et al.*, 1998). Menurut Dwidjoseputro (1998), *Vibrio* termasuk kemoorganotropik, yaitu mikroba yang dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi. Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri.

Pada umumnya bakteri *Vibrio* tumbuh secara optimal pada suhu berkisar dari 18 sampai 37 °C (Peleczar dan Chan, 1988). Sedangkan menurut Lightner (1992) dalam Prajitno *dkk* (1998), pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tersebut tidak tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati dan kisaran salinitas yang baik untuk dapat berkembang yaitu antara 20-35 ppt. Serta pH optimumnya untuk dapat tumbuh berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman dan Lee, 1984).

Menurut Volk dan Wheeler (1993) pertumbuhan bakteri atau peningkatan jumlah bakteri terjadi dengan proses yang disebut pembelahan biner. Bakteri-bakteri tersebut membelah dengan cara memanjangkan sel diikuti dengan pembelahan sel yang membesar menjadi dua sel. Masing-masing sel ini kemudian membelah menjadi dua sel lagi dan seterusnya.



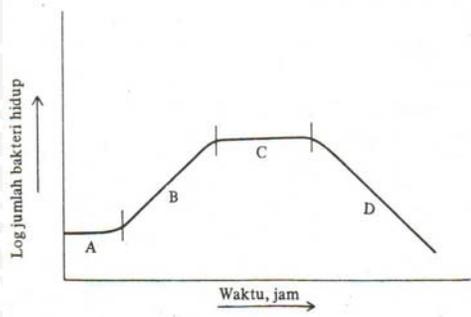
**Gambar 2.** Diagram skematis pembelahan biner pada bakteri

Beberapa ciri pertumbuhan bakteri pada setiap fase pertumbuhan menurut Pelczar dan Chan (1986) sebagai berikut:

- Fase Lamban : Tidak ada penambahan populasi  
Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukuran, substansi intraselular bertambah
- Fase Logaritma : Sel membelah dengan laju yang konstan  
Massa menjadi dua kali lipat dengan laju sama  
Aktivitas metabolik konstan  
Keadaan pertumbuhan seimbang
- Fase Statis : Penumpukan produk beracun dan kehabisan nutrisi  
Beberapa sel mati dan yang lain tumbuh dan membelah  
Jumlah sel hidup menjadi tetap
- Fase Kematian : Sel menjadi mati lebih cepat daripada terbentuknya sel baru  
Laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial  
Bergantung kepada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan.

Menurut Pelczar dan Chan (1986), pertumbuhan bakteri mengacu pada perubahan dalam populasi total dan bukan perubahan dalam suatu individu organisme saja. Pada kondisi pertumbuhan seimbang ada suatu penambahan semua komponen selular (RNA, DNA, protein) secara teratur. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.

Keterangan :



A :  
B :  
C :  
D :

**Gambar 3.** Kurva Pertumbuhan Bakteri (Pelczar dan Chan, 1986)

### 2.1.4 Reproduksi

Menurut Dwijoseputro (2003), pada umumnya bakteri hanya mengenal satu macam pembiakan saja, yaitu pembiakan secara aseksual atau vegetatif. Pembiakan ini berlangsung sangat cepat, jika faktor-faktor luar menguntungkan. Pelaksanaan pembiakan yaitu dengan pembelahan diri atau *devisio*. Pembelahan diri dapat dibagi menjadi 3 fase, yaitu:

- Fase pertama, dimana sitoplasma terbelah oleh sekat yang tumbuh tegak lurus pada arah memanjang.
- Sekat tersebut diikuti oleh suatu dinding yang melintang. Dinding melintang ini tidak selalu merupakan penyekat yang sempurna, di tengah-tengah sering ketinggalan suatu lubang kecil. Dimana protoplasma kedua sel baru masih tetap berhubungan. Hubungan protoplasma itu disebut *plasmodesmida*.
- Fase yang terakhir yaitu ditandai dengan terpisahnya kedua sel. Ada bakteri yang segera berpisah, yaitu yang satu terlepas sama sekali daripada yang lain, setelah dinding melintang menyekat secara sempurna. Bakteri yang semacam ini merupakan koloni yang merata, jika dipelihara pada medium padat. Sebaliknya,

bakteri-bakteri yang dindingnya lebih kokoh itu tetap bergandeng-gandengan setelah pembelahan. Bakteri merupakan koloni yang kasar.

### 2.1.5 Infeksi Bakteri dan tanda-tanda penyerangannya

Vibriosis adalah salah satu jenis penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri famili vibrinaceae (Afrianto dan Liviawati, 1992). Vibriosis sering pula dikatakan sebagai penyakit udang menyala, karena udang yang terinfeksi terlihat bercahaya pada malam hari (Tompo dan Susianingsih, 2004) dan merupakan penyakit yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius di seluruh usaha budidaya ikan di laut dan air payau di dunia (Prajitno, 2005).

Meskipun jenis-jenis bakteri *Vibrio* sp yang ditemukan sering mengakibatkan penyakit dan kerugian besar pada usaha budidaya udang, tetapi sifatnya sebagai bakteri patogen oportunistik yang hanya menyerang organisme budidaya bila kondisi lingkungan memungkinkan. Timbulnya penyakit pada udang sangat erat kaitannya dengan kondisi kesehatan udang, stress karena lingkungan yang kurang baik, nutrisi jelek, luka mekanis dapat mengakibatkan serangan penyakit yang ganas (Tompo dan Susianingsih, 2004). Bakteri *Vibrio* spp berbahaya pada budidaya air payau dan laut, karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder. Sebagai patogen primer, bakteri masuk ke dalam tubuh ikan melalui kontak langsung, sedangkan sebagai patogen sekunder, bakteri menginfeksi ikan yang telah terserang penyakit lain (Prajitno, 2005). Bakteri *Vibrio harveyi* pada umumnya menyerang larva udang pada stadia zoea, mysis dan awal post larva, sehingga merupakan kendala dalam penyediaan benih udang yang sehat dalam jumlah besar (Widanarni, 2002).

Vibriosis bersifat akut dan ganas, karena dapat memusnahkan populasi udang dalam tempo 1-3 hari sejak gejala awal tampak. Ugang yang terserang sangat sulit untuk diselamatkan sehingga seluruh udang yang ada terpaksa dibuang atau dimusnahkan. Penularannya dapat langsung melalui air atau kontak langsung antar ikan dan menyebar sangat cepat pada ikan yang dipelihara pada kepadatan tinggi (Prajitno, 2005).

Adapun sifat pathogenitas bakteri vibrio menurut Prajitno (2005) adalah :

- Serangan terjadi secara cepat dan menimbulkan kematian total.
- Ugang yang terserang biasanya hancur sehingga bangkainya tidak kelihatan.
- Bakteri ini dapat memusnahkan larva dalam waktu 1-2 hari sejak serangan awal.
- Bakteri ini mudah menular (melalui pakan, air, peralatan maupun aktivitas manusia).
- Bakteri ini dapat menyerang sepanjang tahun tetapi cenderung terjadi pada saat perubahan iklim atau suhu yang mendadak.

Menurut Afrianto dan Liviawati (1992), ciri-ciri ikan yang terserang penyakit vibriosis adalah :

- Ikan kehilangan nafsu makan (anorexia).
- Warna kulit serta tubuh ikan berubah menjadi lebih gelap sedangkan insangnya menjadi pucat.
- Sering terjadi pembengkakan pada kulit yang lama-kelamaan akan pecah menjadi luka dan mengeluarkan cairan nanah berwarna kuning kemerah-merahan.
- Pembengkakan pada hati, ginjal, dan limfa.
- Rongga perut dan permukaan jantung kadang-kadang dapat mengalami pendarahan.

## 2.2 Bunga Karang (Sponge) *Acanthella cavernosa*

### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Acanthella cavernosa* menurut Van Soest (2007) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Porifera
Kelas	: Demospongiae
Sub kelas	: Ceractinomorpha
Ordo	: Halichondrida
Famili	: Dictyonellidae
Genus	: <i>Acanthella</i>
Species	: <i>Acanthella cavernosa</i>



**Gambar 1. *Acanthella cavernosa***

Sponge yang merupakan phylum porifera termasuk dalam hewan multiseluler yang primitif. Semua anggota dari phylum ini hidup menetap dan sedikit melakukan pergerakan (Barnes, 1987). Tubuhnya tidak memiliki jaringan maupun organ yang

sesungguhnya. Hewan ini memiliki banyak lubang-lubang kecil atau disebut dengan hewan berpori (Kastawi et al, 2005). Bentuk-bentuk yang dimiliki sponge dapat agak beragam, namun tetap. Ukuran sponge juga beragam, mulai dari jenis berukuran sebesar kepala jarum pentul sampai ke jenis yang ukuran garis tengahnya 0,9 m dan tebalnya 30,5 cm (Romimohtarto dan Sri, 2001).

Menurut Kastawi *et al.* (2005) tubuh porifera (sponge) memiliki ciri-ciri khusus sebagai berikut:

1. Tubuh porifera memiliki banyak pori, yang merupakan awal dari sistem kanal (saluran air) yang menghubungkan lingkungan eksternal dengan lingkungan internal.
2. Tubuh porifera tidak dilengkapi dengan apa yang disebut apendiks (*appendages*) dan bagian tubuh yang dapat digerakkan.
3. Tubuh porifera belum memiliki sistem saluran pencernaan makanan, adapun pencernaannya berlangsung secara intrasellular.
4. Tubuh porifera dilengkapi dengan kerangka dalam yang tersusun atas bentuk kristal dan spikula-spikula atau bahan fiber yang terbuat dari bahan organik.

Morfologi sponge dipengaruhi oleh faktor fisik, kimiawi, dan biologis lingkungannya. Sponge yang tumbuh di perairan terbuka dan berombak besar cenderung lebih pendek dan merambat, sebaliknya pada perairan yang terlindung, agak dalam, dan tenang, tumbuh tegak, tinggi, dan cenderung simetris akibat lingkungannya yang stabil (Parenrengi *et al.*, 2002).

*Acanthella cavernosa* termasuk dalam kelas demospongia yang merupakan kelompok sponge terdominan di antara porifera masa kini. Sponge jenis ini berbentuk masif dan berwarna cerah dengan sistem saluran yang rumit, dihubungkan dengan

kamar-kamar bercambuk kecil yang bundar. Kerangkanya dapat terdiri dari spikula silikon, tetapi tidak berbentuk triakson seperti pada *Hexactinellida*. Spongin, suatu bahan sebangsa sutra, dapat merupakan bagian dari seluruh kerangka atau bercampur dengan spikula silikon. *Acanthella cavernosa* berwarna orange cerah dan liat (Romimohtarto dan Sri, 2001). Disebut juga sponge kaktus dan bagian permukaan tampak berbintik-bintik seperti duri (Anonymous, 2007).

### 2.3.3 Habitat dan Penyebaran

Habitat dari sponge ini berada pada perairan laut yang memiliki pergerakan arus yang kuat dan membutuhkan cukup area untuk tempat berteduh. Sering ditemukan pada daerah dekat gua dengan arus yang kuat. *Acanthella cavernosa* hidup pada temperatur 22,2 °C - 28,3 °C dan pada pH 8,1- 8,2 (Anonymous, 2007). Hewan sponge umumnya hidup menempel pada substrat dasar pantai yang berupa bebatuan, koral dari karang, potongan-potongan kayu yang terendam dan pada dasar pasir yang halus atau dasar yang berlumpur. Sebagian besar sponge berhabitat di laut dangkal, hanya beberapa yang hidup di laut dalam (Kastawi et al., 2005). Habitat dari sponge yaitu dimulai dari zona intertidal hingga kedalaman 6.000 meter (Anonymous, 2008).

Sponge pada umumnya menempati relung ekologi yang sangat spesifik di dasar perairan jernih yang masih memperoleh cukup cahaya matahari dan hidup berdampingan dengan biota lainnya seperti beberapa jenis ikan, krustacea, alga, teripang, dan beberapa bintang laut yang berasosiasi dengan terumbu karang (Parenrengi et al., 2002).

Untuk wilayah perairan Indonesia sponge tersebar di beberapa daerah diantaranya yaitu Ambon, Pulau Maisel, Sumbawa, Tukang Besi, Sumba, Komodo, Taka Bone Rate, dan Salayer. Sponge juga tersebar di 8 kawasan tropik yaitu Lautan Tengah

India, Lautan Barat India, Daerah Bagian Barat India, Indonesia, Pasifik Utara, Laut Merah, Pasifik Tengah, dan Bagian Timur dan Utara Australia (Van Soest, 1989).

#### **2.3.4 Sistem Reproduksi**

Hewan-hewan porifera (sponge) dapat berkembang biak secara seksual maupun aseksual. Perkembangbiakan secara aseksual dilakukan dengan membentuk kuncup "budding" atau benih "gemmulae". Kuncup itu setelah mengalami pertumbuhan ada yang masih tetap melekat pada tubuh induk, sehingga membentuk semacam koloni atau rumpun, tetapi ada yang memisahkan diri dengan tubuh induk. Perkembangbiakan secara seksual pada porifera belum ditunjang oleh alat reproduksi/kelamin khusus, baik ovum maupun spermatozoidnya berkembang dari amoebosit yang khusus yang disebut arkheosit. Arkheosit ini ditemukan di dalam kawasan mesoglea.

Ada jenis porifera yang bersifat monosius (hermaprodit/berumah satu), ada yang bersifat diosius (kelamin terpisah/berumah dua). Bagi yang bersifat hermaprodit perkawinannya dilakukan secara perkawinan silang, artinya ovum porifera yang satu dikawini oleh spermatozoid porifera yang lain.

#### **2.3.4 Senyawa Aktif Antimikroba *Acanthella cavernosa***

*Acanthella cavernosa* termasuk dalam ordo Halichondrida, dimana pada umumnya mengandung senyawa isocyano terpenes (Paul *et al.*, 2007). Terpenes merupakan senyawa yang paling banyak tersebar diantara bahan-bahan alami. Pada organisme laut senyawa ini dilaporkan telah diperoleh dari alga, coelenterate, moluska dan sponge. Sponge menghasilkan terpenes dalam jumlah yang besar, sebagian dari senyawa terpenes memiliki struktur yang unik (Felice, 1976).

Terpenes merupakan derivat biosintetis dari unit isoprene yang memiliki rumus molekul  $C_5H_8$ . Rumus molekul dasar dari terpenes adalah  $(C_5H_8)_n$  dimana  $n$  merupakan jumlah unit isoprene. Senyawa terpenes dapat diklasifikasikan berdasarkan ukuran yaitu hemiterpenes, monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sesterterpenes, triterpenes, and tetraterpenes (Anonymous, 2008). Senyawa diterpene kalihinol A dan kalihinol F yang diisolasi dari *Acanthella cavernosa* dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* (Chang *et al*, 1984 dalam Paul *et al*, 2007).

Hooper (2000) menyatakan bahwa sebagian besar bunga karang menghasilkan senyawa kimia yang bersifat toksik. Adapun kemungkinan yang menyebabkan bunga karang dapat menghasilkan senyawa kimia yaitu:

- a. Bunga karang tidak dapat bergerak bebas sehingga tidak dapat melepaskan diri dari predator (seperti ikan, kura-kura, gastropoda, echinodermata) yang akan memangsanya. Secara umum, bunga karang tidak dapat melindungi diri secara fisik.
- b. Bunga karang tidak memiliki lengan dan kaki sehingga tidak dapat memindahkan binatang atau tumbuhan yang bersifat parasit yang menempel di permukaan tubuh dan saluran air di tubuhnya.
- c. Bunga karang umumnya memiliki pertumbuhan lambat sehingga tidak dapat bersaing untuk mendapatkan ruangan hidup karena dikalahkan oleh binatang atau tumbuhan lain yang lebih cepat.
- d. Bunga karang seringkali dipenuhi oleh hewa-hewan kecil atau mikrobia yang melekat pada rongga tubuh dan sepanjang saluran airnya sehingga bunga karang

memproduksi suatu senyawa kimia sebagai antibiotik terhadap mikrobia maupun jamur.

- e. Bunga karang hidup di atas batu karang sehingga kemungkinan bunga karang mengeluarkan senyawa untuk bioerosi, memakan kalsium pada batu karang dan bergabung dengan batu karang untuk membentuk struktur karang yang kuat.

### 2.3.5 Mekanisme Kerja Antimikroba

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Apabila zat tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri disebut antibakteri (Pelczar *et al*, 1977).

Pada sponge mekanisme kerja antimikrobal pada umumnya menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel, menggumpalkan protein bakteri sehingga terjadi hidrolisis dan difusi cairan sel yang disebabkan karena perbedaan tekanan osmose (Parenrengi *et al*, 2002). Menurut Winarsih (2003), obat antimikroba yang menghambat pembentukan dinding sel efektif pada saat bakteri sedang aktif membelah.

Menurut Pelczar dan Chan (1988), cara kerja zat antimikrobal yaitu:

- ❖ Kerusakan pada dinding sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.

- ❖ Perubahan permeabilitas sel

Merusak membran yang berfungsi memelihara integritas komponen-komponen seluler sehingga mengakibatkan terhambatnya sel dan matinya sel.

- ❖ Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi), ireversibel (tidak dapat balik) komponen-komponen selular yang vital.

- Penghambatan kerja enzim

Penghambatan kerja enzim dilakukan dengan mengganggu reaksi biokimia.

Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme dan matinya sel.

- Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Mengganggu pembentukan atau fungsi zat-zat seperti DNA, RNA dan protein sehingga mengakibatkan kerusakan total pada sel

## 2.5 Uji Efektivitas Antimikroba In vitro

Sebelum zat anti mikroba digunakan untuk keperluan pengobatan, maka perlu diuji terlebih dahulu efeknya terhadap spesies bakteri tertentu. Aktivitas jasad renik diukur secara in vitro agar dapat ditentukan potensi suatu zat anti jasad renik dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan badan dan jaringan serta kepekaan suatu jasad renik terhadap konsentrasi obat-obatan yang diberikan (Edberg, 1986).

Menurut Lay (1994), bahan antimikrobia bersifat menghambat bila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan, oleh karena itu perlu diketahui MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) dan MKC (*Minimum Killing Concentration*) bahan antimikrobia terhadap mikroorganisme.

### 2.5.1 Cara Pengenceran Tabung

Cara pengenceran tabung pada dasarnya untuk menentukan secara kualitatif konsentrasi terkecil dari suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman. Pada prinsipnya cara pengenceran tabung ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam perbenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam perbenihan (Bonang dan Koeswardono, 1982). Menurut Lay dan Sugyo (1992), uji pengenceran dilakukan dengan mengencerkan antibiotik, kemudian ditambahkan bakteri penguji. Dengan cara ini dapat ditentukan jumlah terendah yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara *in vitro*, jumlah terendah ini disebut *minimal inhibitory concentration* (MIC).

### 2.5.1 Cara Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antimikrobal dengan mengukur daerah hambat yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antimikrobal sesuai dengan dosis perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986). Pada medium agar yang telah disebar bakteri diletakkan beberapa kepingan kertas masing-masing mengandung zat antimikroba dalam konsentrasi tertentu. Jika dalam 24 jam tidak tampak pertumbuhan bakteri di sekitar kertas (daerah kosong atau kelihatan bening), maka hal ini menunjukkan bahwa bakteri terhambat pertumbuhannya oleh zat antimikroba yang terdapat dalam kepingan kertas tersebut (Dwidjoseputro, 1989). Menurut Bonang dan Koeswardono (1982), bahwa hambatan akan terlihat sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan kuman di sekitar kertas cakram. Lebar daerah tergantung pada daya resap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut.



### 3. METODOLOGI

#### 3.1 Materi Penelitian

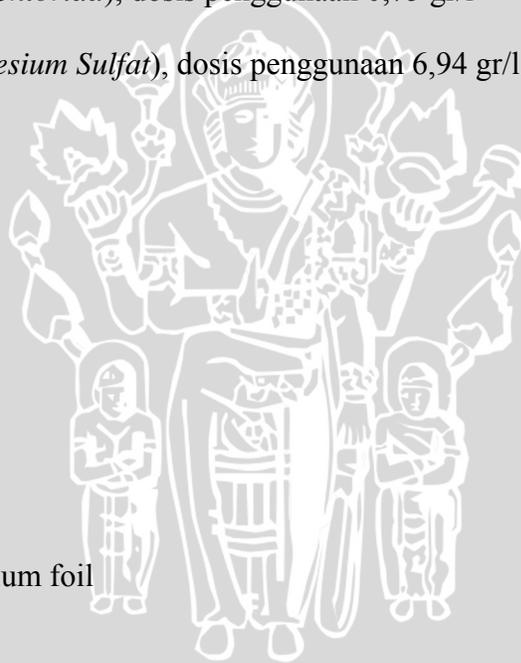
##### 3.1.1 Alat Penelitian

- *Autoclave*
- Lemari pendingin
- Inkubator
- Timbangan analitik
- Hot plate
- Vortex
- Blender
- Cawan petri
- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Bola hisap
- Korek api
- Kompor gas
- Bunsen
- Jarum ose
- Triangle
- Spatula
- Pinset
- Sprayer
- Jangka Sorong
- Botol film
- Rak tabung reaksi
- Corongan kecil
- Pisau
- Gunting
- Saringan
- Mikro pipet



### 3.1.2 Bahan Penelitian

- Ekstrak *Acanthella cavernosa*
- Biakan murni *Vibrio harveyi*
- TCBSA (*Thiosulfate Cytrat Bilesalt Sucrose Agar*) merek OXOID, dosis penggunaan 88 gr/l
- NB (*Nutrient Broth*) merek OXOID, dosis penggunaan 13 gr/l
- NA (*Nutrient Agar*) merek OXOID, dosis penggunaan 28 gr/l
- NaCl (*Natrium Chlorida*), dosis penggunaan 13,4 gr/l
- KCL (*Kalium Chlorida*), dosis penggunaan 0,75 gr/l
- MgSO<sub>4</sub> (*Magnesium Sulfat*), dosis penggunaan 6,94 gr/l
- Aquades
- Alkohol 70%
- Spirtus
- Tali
- Kain saring
- Kertas saring
- Kertas alumunium foil
- Kertas label
- Kapas
- Tissue
- Kain lap



## 3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

### 3.2.1 Metode Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan mengukur daerah hambatan di sekitar kertas cakram yang memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Menurut Nazir (1988), metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat hasil. Hasil yang didapat akan menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel - variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan.

### 3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana setiap perlakuan dilakukan sebagai satuan tersendiri, tidak ada hubungan pengelompokan. Rumus dari model RAL adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Dimana:

Y : Nilai pengamatan

$\mu$  : Nilai rata-rata harapan

T : Pengaruh perlakuan

$\varepsilon$  : Galat

Penelitian terdiri dari 6 perlakuan, 3 kali ulangan dan 1 kontrol. Sebagai perlakuan adalah pemberian ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi yang berbeda. Adapun perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

- A = Pemberian ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi 3 %

- B = Pemberian ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi 6 %
- C = Pemberian ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi 9 %
- D = Pemberian ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi 12 %
- E = Pemberian ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi 15 %
- F = Pemberian ekstrak *Acanthella cavernosa* dengan konsentrasi 18 %
- K = Kontrol (tanpa perlakuan)

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 18.

Denah percobaan:

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 18. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah percobaan seperti pada Gambar 4 berikut ini:

A1	D2	B3	E2	C1	F1	K1
F3	B1	C2	D1	E3	A2	K2
C3	F2	E1	A3	B2	D3	K3

**Gambar 7.** Denah percobaan

Keterangan:

A,B,C,D,E,F : Perlakuan

1,2,3 : Ulangan

K : Kontrol

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Sterilisasi alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen atau kertas koran, kemudian diikat dengan menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang.
- Kompor pemanas dinyalakan, setelah beberapa saat manometer akan menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan buka kran udara hingga manometer menunjukkan angka 1 atm kembali.
- Keadaan tekanan uap jenuh dapat terjadi berulang kali sampai suhu 121<sup>0</sup>C dan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit.
- Kompor dimatikan. Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara zig-zag.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

#### 3.3.2 Ekstraksi *Acanthella cavernosa*

Prosedur Ekstrak Bunga Karang *Acanthella cavernosa*:

- Sampel bunga karang yang masih segar dicuci dengan air tawar kemudian ditiriskan

- Dipotong kecil-kecil kemudian ditimbang dan ditambah aquades dengan perbandingan sampel dan aquades (1 : 1)
- Di blender hingga terlihat sampel telah larut
- Dilakukan perendaman selama 4 x 24 jam
- Disaring dengan menggunakan kain saring
- Disaring menggunakan kertas saring
- Hasil ekstrak ditaruh di erlenmeyer sedangkan endapannya direndam kembali dengan tambahan pelarut (1:1) selama 1 x 24 jam
- Seluruh hasil ekstraksi digabungkan
- Ekstrak yang tidak langsung digunakan dapat disimpan di lemari pendingin

### 3.3.3 Pembuatan Media

#### ➤ Pembuatan TCBSA (*Thiosulfate Citrat Bilesalt Sukrose Agar*)

Bahan-bahan :

- TCBSA : 8,8 gram.
- KCl : 0,075 gram.
- MgSO<sub>4</sub> : 0,694 gram.
- NaCl : 1,34 gram.
- Aquades : 100 ml.

Larutkan semua bahan-bahan, kemudian panaskan sampai mendidih. Tanpa disteril.

Dalam kondisi masih hangat tuang ke cawan petri steril.

#### ➤ Pembuatan *Nutrient Broth* (NB) :

Bahan-bahan :

- Nutrient Broth : 1,3 gram.

- KCl : 0,075 gram.
- MgSO<sub>4</sub> : 0,694 gram.
- NaCl : 1,34 gram.
- Aquades : 100 ml.

Larutkan semua bahan-bahan, kemudian panaskan sampai mendidih. Tuang ke dalam tabung reaksi. Disterilkan dalam *autoclave*. Setelah dingin baru bisa dipakai.

➤ **Pembuatan *Nutrient Agar* (NA) :**

Bahan-bahan:

- Nutrient agar : 2,8 gram.
- KCl : 0,075 gram.
- MgSO<sub>4</sub> : 0,694 gram.
- NaCl : 1,34 gram.
- Aquades : 100 ml.

Larutkan semua bahan-bahan, kemudian panaskan sampai mendidih. Tuang ke dalam tabung reaksi. Disterilkan dalam *autoclave*. Setelah steril, tabung reaksi diposisikan dalam keadaan miring dan tunggu hingga agar memadat. Setelah dingin baru bisa dipakai.

### 3.3.4 Pemiakan bakteri *Vibrio harveyi*

➤ **Media agar**

Menurut Pelczar dan Chan (1988) pembiakan bakteri *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

- Bakteri dari biakan murni diambil dengan jarum ose.
- Dilakukan inokulasi pada media TCBSA.

- Media TCBSA diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 35<sup>0</sup> C selama 24 jam.

➤ **Media cair**

- Menyiapkan media yang telah disterilkan dengan autoclave.
- Media yang telah dingin tersebut dimasukkan *Vibrio harveyi* dari biakan murni sebanyak 5 ose.
- Media yang telah mengandung *Vibrio harveyi* diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18-24 jam.
- Hasil biakan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4 °C.

### 3.3.5 Uji Efektivitas Ekstrak *Acanthella cavernosa*

#### 3.3.5.1 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Pengamatan kualitatif terhadap ada atau tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media cair (Nutrient Broth) dilakukan untuk mengetahui *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC), yaitu konsentrasi minimum suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol sebagai pembanding. Dalam hal ini yang digunakan sebagai kontrol adalah media cair (Nutrient Broth) yang tidak mengandung bakteri (Bonang dan Koeswardono, 1982 dalam Rochani, 2000). Selain menggunakan Nutrient Broth, konsentrasi 0 % juga digunakan sebagai pembanding. Penentuan MIC dilakukan sebagai berikut:

- 5 inokulum biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* ditanam dalam 4 ml media cair (Nutrient Broth) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan larutan Standart Mc Farland (10<sup>8</sup> sel/ml)
- Membuat stok larutan broth yang diinokulasi bakteri dengan cara mengambil 0,5 ml biakan bakteri dalam Nutrient Broth dan dimasukkan dalam 100 ml NB yang

sudah disterilkan. Jumlah bakteri dalam suspensi (stok larutan broth) adalah  $10^8$  sel/ml)

- Penentuan konsentrasi perlakuan ekstrak kasar *Acanthella cavernosa* dengan metode pengenceran. Konsentrasi yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1

**Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak *Acanthella cavernosa* untuk Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)**

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak kasar <i>Acanthella cavernosa</i> (ml)	Larutan stok broth yang dinokulasi bakteri (ml)
0	0	5,00
0,5	0,025	4,975
1	0,05	4,95
1,5	0,075	4,925
2	0,1	4,9
2,5	0,125	4,875
3	0,15	4,85
3,5	0,175	4,825
4	0,2	4,8
4,5	0,225	4,775
5	0,25	4,75

- Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$ .
- Diamati pertumbuhan bakteri di dalamnya. Apabila medium tampak keruh menandakan bahwa bakteri dapat tumbuh, hal ini berarti bahwa dosis yang digunakan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan sebaliknya.

### 3.3.5.2 Uji Cakram

Tahapan uji cakram meliputi :

- Ditanam isolat murni bakteri *Vibrio harveyi* sebanyak 1 inokulum ke dalam 5 ml Nutrient Broth (NB) sehingga terbentuk kekeruhan standar Mc Farland ( $10^8$  sel/ml)

- Disiapkan tabung reaksi steril untuk perlakuan konsentrasi ekstrak kasar *Acanthella cavernosa*. Konsentrasi minimum didapatkan berdasarkan hasil uji MIC.
- Untuk menentukan ekstrak kasar *Acanthella cavernosa* yang digunakan menggunakan rumus pengenceran:  $N_1 * V_1 = N_2 * V_2$

Keterangan:

$N_1$  = stok yang ada (%)

$V_1$  = ekstrak kasar yang dibutuhkan (ml)

$N_2$  = Konsentrasi ekstrak kasar *Acanthella cavernosa* yang dipakai (%)

$V_2$  = Volume aquades yang digunakan (ml)

- Penentuan konsentrasi ekstrak kasar *Acanthella cavernosa* untuk uji cakram dapat dilihat pada Tabel 2
- Direndam kertas cakram steril ke dalam ekstrak kasar *Acanthella cavernosa* selama 15 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan (Tabel 2).
- Diambil 0,1 ml bakteri ( $10^6$  sel/ml) dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media agar dengan ketebalan  $\pm 6$  mm.
- Diratakan bakteri dengan triangle
- Diletakkan kertas cakram yang telah ditiriskan pada permukaan lempeng agar
- Dilakukan pembacaan hasil setelah diinkubasi pada suhu ( $35^\circ\text{C}$ ) selama 18-24 jam dengan cara mengukur daerah hambat yang terbentuk
- Diukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

**Tabel 2. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Kasar *Acanthella cavernosa* untuk Uji Cakram**

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak kasar <i>Acanthella cavernosa</i> (ml)	Aquades (ml)
0	0	5
1	0,15	4,85
3	0,3	4,7
5	0,45	4,55
7	0,6	4,4
9	0,75	4,25
11	0,9	4,1

### 3.4 Parameter Uji

#### 3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama menggunakan parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengukuran daerah hambatan ekstrak kasar *Acanthella cavernosa* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada masing-masing perlakuan yang terlihat disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

#### 3.4.2 Parameter Penunjang

Sebagai parameter penunjang pada penelitian ini adalah suhu inkubator dan pH media, yang keduanya merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

### 3.5 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan analisis keragaman atau uji F dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95 %). Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil dilakukan perhitungan

analisis regresi yang tujuannya untuk mengetahui sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan tentang pengaruh respon terhadap perlakuan.

**Diagram Alir Pelaksanaan Penelitian**

Persiapan Alat dan Bahan (Sterilisasi dan Pembuatan Media)



Pembuatan Ekstrak Kasar *Acanthella cavernosa*



Pembiakan Bakteri



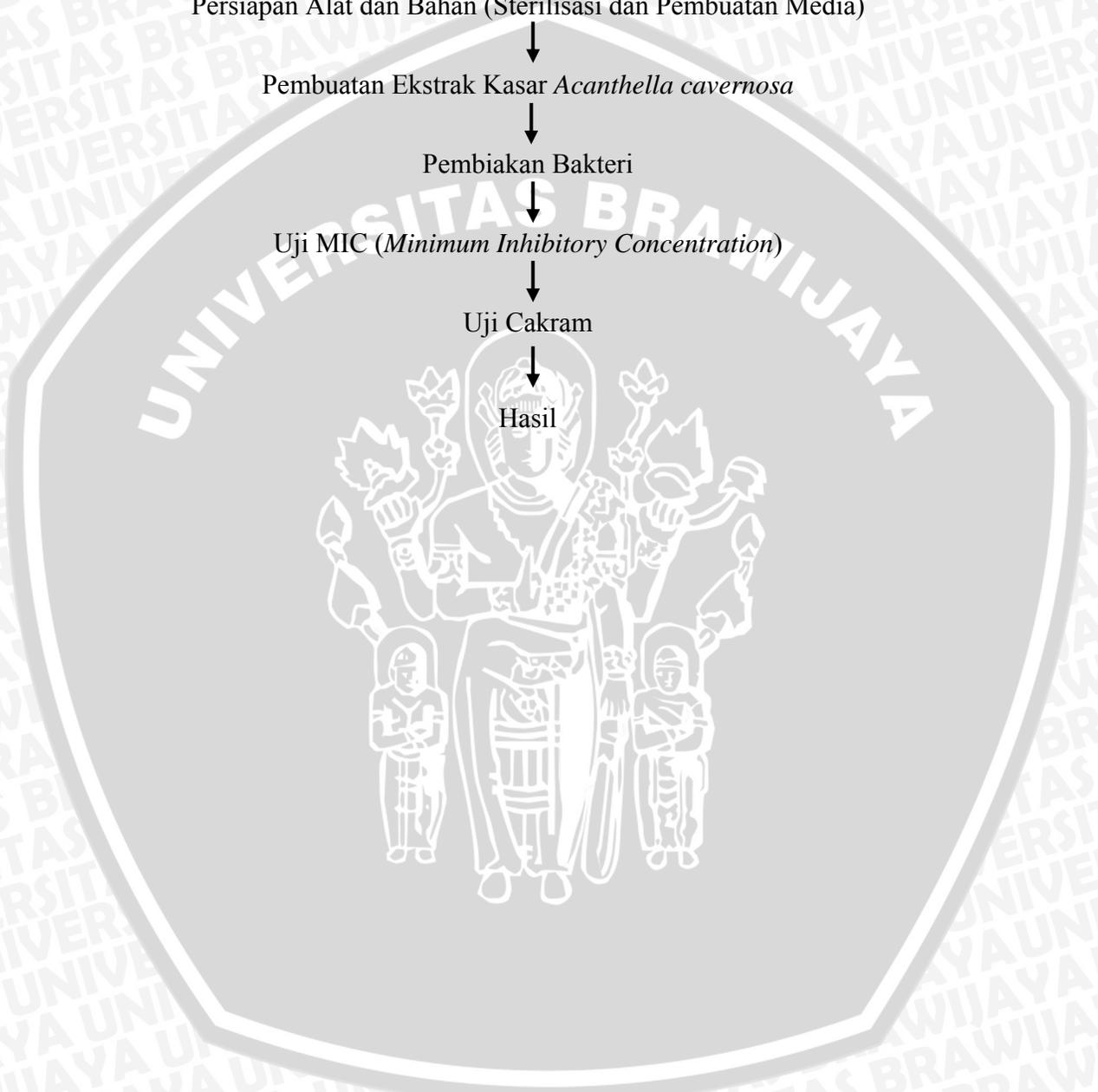
Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)



Uji Cakram



Hasil



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pembiakan Kultur Murni Bakteri *Vibrio Harveyi*

Bakteri *Vibrio harveyi* yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Laboratorium Hama Penyakit Ikan Dan Udang Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Vibrio harveyi* selama penelitian berupa media padat, yaitu NA (*Nutrient Agar*) dan TCBSA (*Thiosulfate Citrat Bilesalt Sukrose Agar*), dan media cair, yaitu NB (*Nutrient Borth*). Ketiga media yang digunakan tersebut dari OXOID. Komposisi media NA, TCBSA, NB dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Komposisi NA, TCBSA, NB dari OXOID**

NA	TCBSA	NB
Lab Lemco Powder, Yeast Extract, Peptone, Sodium Chloride, Agar	Yeast Extract Powder, Bacteriological Peptone, Sodium Thiosulphate, Sodium Citrate, Ox Bile, Sucrose, Sodium Chloride, Ferric Citrate, Bromothymol Blue, Thymol Blue, Agar	Lab Lemco Powder, Yeast Extract, Peptone, Sodium Chloride

Menurut Murachman, Yahya, dan Chamidah (1991), media padat digunakan untuk menumbuhkan mikroba pada permukaan sehingga membentuk koloni yang dapat dilihat, dihitung dan diisolasi. Media cair digunakan untuk uji cakram. Peremajaan bakteri dilakukan untuk memperbanyak stok biakan murni bakteri dengan pemindahan atau penanaman bakteri murni ke dalam media tumbuh secara aseptik untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Metode yang digunakan untuk pembiakan dalam media padat adalah metode gores (strik). Menurut Dwijoseputro (1998), metode pembiakan gores (strik) efektif dilakukan untuk pembiakan mikroorganisme karena membutuhkan waktu

yang singkat dan mudah untuk mendapatkan biakan. Strik dilakukan pada lempengan agar dan agar miring.

Digunakannya TCBSA sebagai media tumbuh, karena media TCBSA adalah media kultur selektif. Media TCBSA adalah media kultur selektif untuk vibrio. Berdasarkan hasil penelitian, bakteri yang ditumbuhkan pada media TCBSA membentuk koloni dengan warna kuning dan hijau (Anonymous, 2002). Hasil penelitian Murdjani (2002) menunjukkan bahwa *Vibrio harveyi* tumbuh pada media TCBSA dengan warna kuning. Hal ini berkaitan dengan kemampuan *Vibrio harveyi* untuk memanfaatkan sukrosa. Zafran (1994), menjelaskan bahwa *Vibrio harveyi* yang mampu menguraikan sukrosa, koloninya akan berwarna kuning pada media TCBSA dan yang tidak mampu menguraikan sukrosa maka koloninya akan berwarna hijau. Ditambahkan oleh Tompo dan Susianingsih (2004), bakteri *Vibrio harveyi* yang ditumbuhkan pada media TCBSA secara visual memiliki ciri-ciri : bentuk koloni bundar atau bulat, tumbuh menyebar dengan berbagai ukuran, permukaan cembung atau rata, berwarna kehijauan, kuning kehijauan, kuning, hijau dan ada yang bercahaya dalam gelap.

Media cair yang digunakan untuk pembiakan bakteri yang akan digunakan untuk uji cakram adalah NB (*Nutrient Broth*). Untuk membuat biakan bakteri *Vibrio harveyi* pada media cair, ditanam sebanyak 5 inokulum bakteri ke dalam 4 ml media cair (NB) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam hingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan standart Mc Farland ( $10^8$  sel/ ml) (Wattimena, *et al* (1991), dalam Yahya, 2001).

#### **4.2 Kadar Hambat Minimal (MIC) Ekstrak Kasar Sponge (*Acanthella cavernosa*)**

Dari hasil uji kadar hambat minimal (MIC) diketahui bahwa kadar hambat minimal ekstrak sponge *Acanthella cavernosa* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* adalah 1

% . Hal ini disebabkan ekstrak sponge 1 % merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi*. Dimana pada konsentrasi 1 % jumlah bakteri berkurang (hasil biakan mulai tampak jernih) setelah masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C, hal ini ditandai dengan penurunan derajat kekeruhan apabila dibandingkan dengan kontrol (media dan bakteri tanpa obat). Ekstrak kasar sponge pada konsentrasi 0,5 % tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang masih sama dengan kontrol. Hasil uji kadar hambat minimal ekstrak kasar sponge (*Acanthella cavernosa*) dapat dilihat pada Tabel 4, Gambar 8.

Kadar hambat minimal sangat penting untuk mengetahui resistensi mikroorganisme terhadap antimikroba dan juga untuk monitoring aktivitas antimikroba (Anonymous, 2008).

**Tabel 4. Kadar Hambat Minimal (MIC) Ekstrak Kasar sponge (*Acanthella cavernosa*) Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi***

Konsentrasi (%)	Hambatan Pertumbuhan Bakteri
0,5	-
1	+
1,5	+
2	+
2,5	+
3	+
3,5	+
4	+
4,5	+
5	+
K1	
K2	-

Keterangan : + : Ada Hambatan  
 - : Tidak Ada Hambatan  
 K1 : Kontrol Media  
 K2 : Kontrol Media dan Bakteri

### 4.3 Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Sponge (*Acanthella cavernosa*) Metode Cakram

Uji daya antibakteri ekstrak kasar sponge dengan metode cakram menunjukkan bahwa ekstrak sponge mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah hambatan di sekitar kertas cakram. Daerah hambatan yang terbentuk dari berbagai konsentrasi ekstrak sponge terhadap pertumbuhan *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 9.

Uji dilakukan dengan menggunakan kertas saring yang dicelupkan ke dalam antibiotik tertentu kemudian diletakkan pada kultur murni dari bakteri di plat agar. Setelah 24 jam akan tampak daerah bakteri yang tidak tumbuh di sekitar kertas cakram (Sutjiati, 1992). Cakram dari kertas cakram ini paling banyak dipakai untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai obat-obatan (Bonang dan Koeswardoyo, 1982). Kepekaan bakteri terhadap antibiotik dapat diketahui dari diameter daerah hambatan yang terbentuk pada uji cakram. Luas wilayah jernih merupakan petunjuk kepekaan mikroorganisme terhadap antibiotik. Untuk antibiotik. Terdapat standar untuk menentukan kepekaan suatu bakteri, apakah bakteri bersifat resisten, intermediet, ataupun sensitif terhadap antibiotik yang digunakan (Lay, 1994). Sedangkan untuk obat-obatan yang berasal dari alam belum memiliki interpretasi daerah hambatan yang dibakukan, karena belum ada standarnya. Termasuk ekstrak kasar sponge *Acanthella cavernosa*. Karena sejauh ini penelitian tentang resistensi bakteri terhadap rumput laut belum ada. Sehingga, pada penelitian ini tidak dapat dilakukan penggolongan tingkat kepekaan dan tingkat resistensi bakteri terhadap ekstrak kasar rumput laut. Yang dapat diberikan hanyalah informasi bahwa pemberian ekstrak kasar rumput laut dengan konsentrasi yang berbeda mempengaruhi lebar daerah hambatan yang terbentuk.

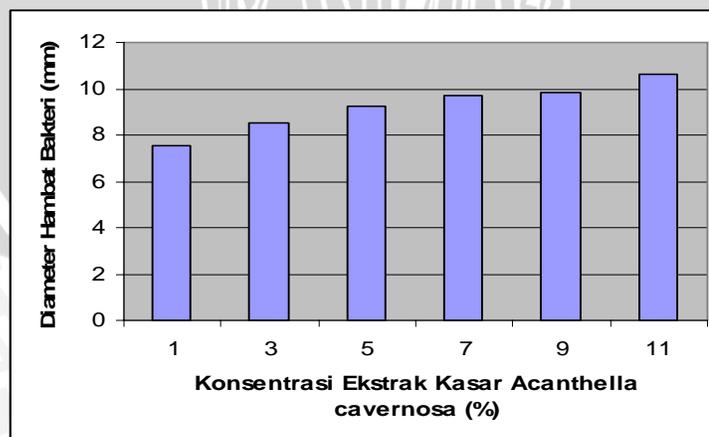
Berdasarkan hasil yang diperoleh, diameter daerah hambat (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri) yang terbentuk bervariasi pada masing-masing perlakuan. Daerah hambat hasil uji cakram yang terbentuk pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 5. Diameter Daerah Hambatan Pada Masing-Masing Perlakuan**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	I	II	III		
A = 1%	7,3	7,6	7,8	22,7	7,57
B = 3%	8,7	8,8	8,1	25,6	8,53
C = 5%	9,1	9,8	8,8	27,7	9,23
D = 7%	10,1	9,2	9,8	29,1	9,70
E = 9%	9,2	10,6	9,8	28,9	9,86
F = 11%	10,8	10,4	10,6	31,8	10,60
0 %	0	0	0	0	0

Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa rerata daerah hambat yang terbentuk pada konsentrasi 0% (kontrol) yaitu 0 mm. sedangkan konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* 15 % memberikan daerah hambat yang terbesar, yaitu 8,383 mm.

Untuk lebih memperjelas peningkatan daerah hambat dengan peningkatan diameter daerah hambat dengan konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* dapat digambarkan berupa diagram batang hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* dengan daerah hambat yang ditunjukkan pada Gambar 2.



**Gambar 9. Diagram Batang Hibungan Antara Konsentrasi Ekstrak Kasar *Acanthella cavernosa* (%) Dengan Diameter Daerah Hambat Rata-rata (mm)**

Gambar diagram batang tersebut menunjukkan adanya variasi diameter daerah hambatan pada setiap perlakuan konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. Untuk mengetahui pengaruh yang berbeda terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, maka dilakukan analisa keragaman atau sidik ragam. Berdasarkan hasil analisa sidik ragam, ternyata perlakuan konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* berpengaruh sangat nyata terhadap daerah hambatan, seperti yang terlihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil Analisa Sidik Ragam Dianeter Daerah Hambat**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	5,332519	1,066504	13,56689**	3,11	5,06
Acak	12	0,943329	0,078611			
Total	17	6,275848				

\*\* = berbeda sangat nyata

Dari hasil analisa sidik ragam, didapatkan hasil bahwa konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* berpengaruh sangat nyata terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, yang berarti menerima  $H_1$ .

Untuk mengetahui perbedan dari masing-masing perlakuan dan untuk mengetahui perlakuan terbaik, maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Dari hasil uji BNT, dapat diketahui perbedaan masing-masing perlakuan yang disimbolkan dengan notasi pada setiap perlakuan. Hasil uji BNT dapat dilihat pada tabel 6.

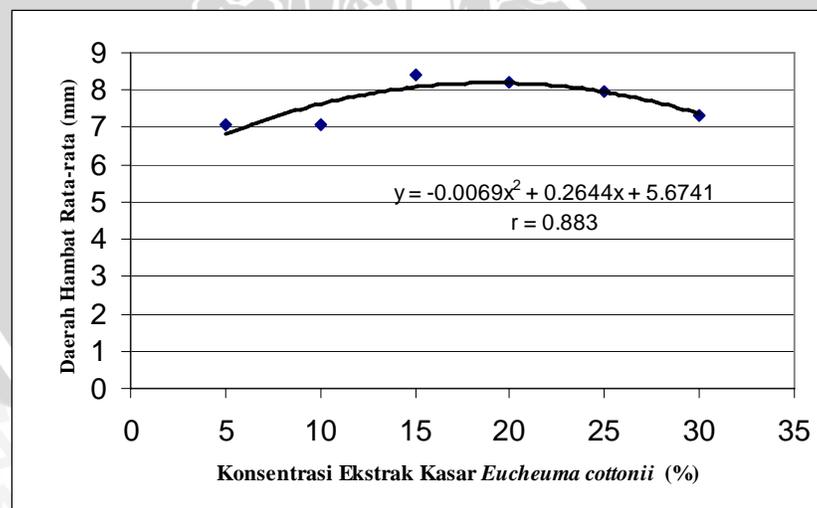
**Tabel 6. Hasil Uji BNT Daya Hambat Ekstrak Kasar *Eucheuma Cottonii* Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi***

Konsentrasi (%)	Rerata (mm)	Notasi
A = 1	7,055	a
B = 3	7,079	a

C = 5	7,308	ab
D = 7	7,975	ab
E = 9	8,233	ab
F = 11	8,383	b

Berdasarkan hasil uji BNT, terlihat bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, D, E dan F, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan C. sedangkan perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D, E dan F. perlakuan terbaik adalah perlakuan C (15 %) yang mampu memberikan daerah hambatan dengan rerata 8,383 mm. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* dengan diameter daerah hambatan yang diperoleh dari analisa regresi disajikan pada lampiran 1. Berdasarkan analisa regresi, didapatkan persamaan  $Y = 5,674 + 0,264X - 0,0069X^2$  dengan nilai  $r = 0,883$ . Titik puncak daerahambat sebesar 8,21 mm, didapatkan pada pemberian konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* sebesar 19 %.

Grafik hubungan konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* terhadap daerah hambatan perkembangan bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Kasar Rumpuk Laut *Eucheuma Cottonii* (%) Terhadap Daerah Hambat Rata-rata (mm)**

Dari hasil penelitian, diketahui bahwa pada konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* 5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro bersifat bakteristatik, yang artinya pada konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Sedangkan pada konsentrasi 10, 15, 20, 25, dan 30 % bersifat bakteriosidal, yang artinya bahwa ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* telah mampu membunuh bakteri *Vibrio harveyi*. Hal ini dapat diketahui dari daerah hambatan di sekitar kertas cakram yang tetap jernih (tidak ditumbuhi bakteri) dan lebar diameter daerah hambat yang tetap setelah diinkubasi selama 48 jam. Daerah bening yang teramati karena adanya kematian sel bakteri melalui suatu mekanisme. Menurut Pelczar, *et al.* (1988), mekanisme kerja zat antimikroba adalah kerusakan pada dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat dan penghambatan kerja enzim. Seperti yang dikatakan Volk dan Wheeler (1998), sel bakteri sebagian besar tersusun atas protein, selain itu semua reaksi metabolisme sel dikatalis oleh enzim yang terbuat dari protein. Jadi agen kimia yang manapun berkombinasi menghalangi protein untuk melakukan fungsinya. Agen-agen kimia yang merusak sel melalui efeknya pada protein mencakup asam, basa, fenol, kresol, alkohol, garam, logam berat, formaldehid dan halogen. Disebutkan dalam Prajitno (2005), bahwa karagenan, sulfur, iodium, garam Na, Cl, polyfenol serta senyawa brom yang terkandung dalam rumput laut merupakan bahan-bahan yang berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri. Kadar iodium dari sumber hayati ini bahkan sampai 2000 kali lebih tinggi dibanding yang terdapat di air laut. Iodium merupakan halogen yang paling luas penggunaannya sebagai zat antimikrobia (Anonymous, 2006). Iodium merupakan yang sangat efektif terhadap segala macam bakteri, spora, cendawan dan virus. Zat ini merupakan salah satu bahan germisidal yang

paling tua serta paling efektif. Iodium mematikan mikroba dengan cara menghalogenasi tirosin dan menginaktifkan enzim dan protein (Pelczar dan Chan, 1998).

Bahan-bahan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri mengakibatkan rusaknya membran sitoplasma (Prajitno, 2005). Membran sitoplasma merupakan membran semipermeabel yang mengatur lewatnya substansi ke dalam dan keluar sel. Kerusakan membran sitoplasma akan menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan pada membran ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar sel. Selain itu, kerusakan semacam ini dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel, karena membran sitoplasma yang mengendalikan pengangkutan sel aktif ke dalam sel. Hal ini menyebabkan kematian sel atau menghambat pertumbuhan bakteri (Volk dan Wheeler, 1998).

Pada konsentrasi ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* sebesar 20%, terjadi penurunan daerah hambat. Hal ini disebabkan oleh menurunnya daya kerja obat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Seperti yang dikatakan oleh Jawetz, *et al*, (1998), penurunan daya hambat obat dapat terjadi karena dua sebab, yaitu sebab yang ditimbulkan oleh obat dan yang disebabkan oleh bakteri. Penurunan yang disebabkan oleh obat mungkin terjadi karena suhu pengeringan. Beberapa obat anti jasada enik stabilitasnya terganggu, sehingga kehilangan daya kerjanya. Dijelaskan oleh Lay (1994), bahwa penurunan daya hambat juga dapat disebabkan oleh bahan pengencer, yaitu air. Dalam penelitian ini bahan pengencer yang digunakan adalah air. Karena air merupakan pelarut universal, bisa melarutkan hampir semua bahan, tetapi memiliki kekurangan, yaitu menyebabkan pemutusan secara hidrolisis dan fermentatif. Penurunan yang timbul pada bakteri dapat dibedakan menjadi dua hal, yaitu resistensi yang terjadi secara asal

genetik dan asal bukan genetik. Yang berasal dari genetik yaitu terjadinya perubahan struktur target yang berada dalam kromosom bakteri. Pada bakteri *Vibrio harveyi*, resistensi ini bisa dipindahkan dari satu sel bakteri pada sel bakteri yang lain, karena adanya plasmid. Yang berasal dari bukan genetik adalah suatu mekanisme pertahanan bakteri dalam waktu yang relatif singkat (sementara) karena adanya obat, dimana bakteri tersebut hidup (Anonymous, 2003).

Menurut Mc Kane dan Kandel (1986), resistensi yang terjadi pada bakteri disebabkan oleh beberapa hal, yaitu :

- Menginaktifkan obat

Misalnya dengan caramemutus rantai atau cincinnya sehingga menyebabkan obat tidak aktif menyerang bakteri.

- Mengubah permeabilitas membran selnya

Yaitu dengan cara mempersempit pori-pori sel, sehingga hanya zat-zat yang berukuran tertentu yang bisa masuk ke dalam sel.

- Mengembangkan reaksi metabolisme baru

Sebagai contohnya, bakteri yang resisten sulfonamid bisa mengambil asam folat dari luar tubuhnya, sedangkan bakteri lain tidak

- Mengubah sensitifitas terhadap obat

Obat yang diberikan dalam jangka waktu tertentu membuat bakteri dapat beradaptasi dengannya, sehingga bakteri tersebut menjadi kurang sensitif terhadap obat tertentu.

Setiap bakteri mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mekanisme resistensi. Bakteri yang resisten mungkin saja mempunyai satu atau bahkan lebih dalam mekanisme resistensi (Anonymous, 2003a).

#### 4.4 Lingkungan Hidup Bakteri

##### 4.4.1 pH

Berdasarkan hasil pengukuran pH media, didapatkan hasil sebesar 8,34. kondisi seperti ini pada umumnya baik untuk pertumbuhan bakteri. Menurut Prajitno (2005), bakteri *Vibrio harveyi* dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 7,5 – 8,5. dijelaskan oleh Volk dan Wheeler (1998), disamping nutrisi yang memadai, sejumlah kondisi lain harus dipenuhi untuk menumbuhkan bakteri. Media harus mempunyai pH yang tepat, yaitu tidak terlalu asam dan tidak terlalu basa. Pada dasarnya tidak ada satupun bakteri yang dapat tumbuh baik pada pH lebih dari 8. sebagian besar bakteri dapat tumbuh baik pada pH netral (pH = 7) atau pada pH yang sedikit basa (pH = 7,4).

##### 4.4.2 Suhu

Suhu yang diterapkan selama masa inkubasi dapat mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri, karena mempengaruhi laju semua reaksi seluler. Selain itu, suhu dapat juga mempengaruhi pola metabolisme, persyaratan nutrisi dan komposisi sel-sel bakteri (Dwijoseputro, 1998). suhu inkubator selama penelitian adalah 35 °C. menurut Prajitno (2005), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp berkisar antara 30-35 °C. sedangkan pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan

pada suhu 55 °C akan mati. Jadi, suhu inkubasi selama penelitian berada pada kisaran optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2002. *Vibrio harveyi*. <http://bacterio.cict.fr/bacdico/vv/harveyi.htm>, diakses tanggal 7 April 2008. 1 hal.
- Anonymous. 2005. Industri Perikanan Masih Kaya Protein. BEINEWS Edisi V. [http://www.bexi.co.id/images/\\_res/perbankan-.pdf](http://www.bexi.co.id/images/_res/perbankan-.pdf). 6 hal.
- Anonymous. 2007. *Acanthella cavernosa*. <http://www.aquariumwiki.org>. diakses tanggal 12 April 2008. 2 hal.
- Anonymous. 2008. *Sponge*. <http://www.wikipedia.org>. diakses tanggal 12 April 2008. 2 hal
- Afrianto, E dan E. Liviawati. 1992. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 82 hal.
- Ariyanto, D. 2004. **Dinamika Budidaya Udang di Indonesia**. Warta Penelitian Perikanan Indonesia. Loka Riset Pemuliaan dan Teknologi Budidaya Perikanan Air Tawar, Sukamandi. Hal 6-11.
- Barnes, R. D. 1987. **Invertebrate Zoology**. Fifth Edition. Saunders College Publishing. USA. 592 hal.
- Bauman, P.A.L., Furniss and I.V. Lee. 11984. **Facultative Anaerobic Gram Negative Rods : Genus I Vibrio**. In : Kreieg N. R. and Holt J.G (Ed). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Williams and Wilkins Baltimore. USA . p 518-538
- Bonang, G. Dan E.S. Koeswardono.1982. **Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik**. PT. Gramedia. Jakarta. 199 hal.
- Dwidjoseputro, D. 1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Edberg, S.C. 1986. **Tes Kerentanan Antimikroba**. Dalam: Antibiotika dan Infeksi. Alih Bahasa: Chandra Sanusi. CV EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 845 hal.
- Feliatra. 1999. **Identifikasi Bakteri Pathogen (*Vibrio sp*) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau**. Jurnal Natur Indonesia Volume II. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Riau. Hal 28-33. [www.unri.ac.id/jurnal/jurnal\\_natur/vol2/5.pdf](http://www.unri.ac.id/jurnal/jurnal_natur/vol2/5.pdf)
- Harris L. J. and Owens L. 1999. **Production of Exotoxin By Two Luminous *Vibrio harveyi* Strains Known To Be Primary Pathogens of *Penaeus monodon* Larvae**. Disease of Aquatic Organisms Vol. 38. Department Microbiology and

Immunology, James Cook University and The Cooperative Research Centre For Aquaculture. Australia. Hal 11-22. [cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=1987158](http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=1987158)

Hooper, J. N. A. 2000. **Sponguide. Guide To Sponge Collection and Identification.** <http://www.qmuseum.qld.gov.au/organisation/sections/SessileMarineInvertebrates/index.asp>. diakses tanggal 7 April 2008. 129 hal.

Kastawi, Y., Sri E. I., Ibrohim., Masjhudi., Sofia E. R. 2005. Zoologi Avertebrata. UM Press. Malang. 287 hal.

Kelly [www.int-res.com/articles/ame2003/31/a031p175.pdf](http://www.int-res.com/articles/ame2003/31/a031p175.pdf)

Lay, B.W. 1994. **Analisi Mikroba Di Laboratorium.** PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hal.

Madeali, M. I., Muharijadi A. dan Ahdiah H. 2004. **Efektivitas Pemberian Sel utuh (Whole Cell) Bakteri Vibrio Terhadap Peningkatan Kekebalan Tubuh Udang Windu (Penaeus monodon Fabr.) Dari Serangan White Spot Syndrome Virus (WSSV).** Jurnal Penelitian Indonesia Vol. 10 No. 2. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

Mayer, A. M. S. and Virginia K. B. L. 2000. **Marine pharmacology : Marine Compounds with Anthelmintic, Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti-inflammatory, Antimalarial, Antiplatelet, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting The Cardiovascular, Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms of Action.** The Pharmacologist Vol. 42 No. 2. Hal 62-69. [www.pharmacy.olemiss.edu/pharmacognosy/Hamann/Hamannpub.html](http://www.pharmacy.olemiss.edu/pharmacognosy/Hamann/Hamannpub.html)

Mayer A. M.S., Abimael D. R., Roberto G.S. B. and Mark T. H. 2007. **Marine pharmacology : Marine Compounds with Anthelmintic, Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti-inflammatory, Antimalarial, Antiplatelet, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting The Cardiovascular, Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms of Action.** National Institutes of Health. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. USA. Hal 553-581 [www.marinepharmacology.midwestern.edu/reviews.htm](http://www.marinepharmacology.midwestern.edu/reviews.htm)

Murniasih, T. 2005. **Substansi Kimia Untuk Pertahanan Diri Dari Hewan Laut Tak Bertulang Belakang.** Oseana, Vol. XXX No. 2. Hal 19-27.

Natzir, M. 1998. **Metode Penelitian.** Ghalia Indonesia. Jakarta. 212 hal.

Parenrengi, A., Emma S. dan Taufik A. 2002. **Potensi Sponge Penghasil Bakterisida dan Fungisida Alami Belum Banyak Dimanfaatkan.** Balai Penelitian Perikanan Pantai, Maros. Hal 10-15

Paul, V. J., Karen E. A, Raphael R. W., Cliff R, and Koty S. 2007. **Chemical Defenses: From Compounds to Communities**. Marine Biological Laboratory. Smithsonian Marine Station at Fort Pierce. Florida. Hal 226-251. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)

Pelczar, M. J and Chan E. C. S. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi jilid I**. Penerjemah: R.S Hadioetomo, Teja I, S. Sutarmi, S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta. 502 hal.

\_\_\_\_\_. 1988. **Dasar-dasar Mikrobiologi jilid II**. Penerjemah: R.S Hadioetomo, Teja I, S. Sutarmi, S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta. 502 hal.

Prajitno, A., Herawati, E.Y. dan Hariati, A.M. 1998. **Strategi Pengaturan Salinitas dan Pemberian Serbuk Jamur Merang sebagai Penanggulangan Penyakit Kunang-Kunang (*Vibrio spp*) pada Udang Windu di Mini Backyard**. Laporan Akhir Hasil Penelitian tidak diterbitkan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 40 hal.

Prajitno, A. 2005. **Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 104 hal.

Ravichandran S., Kathiresan K. and Hemalatha B. 2007. **Anti Malarials From Marine Sponges**. Biotechnology and Molecular Biology, Academic Journal. Centre of Advanced Study in Marine Biology (Annamalai University), Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research. India. [www.academicjournals.org/bmbr/PDF/pdf2007](http://www.academicjournals.org/bmbr/PDF/pdf2007)

Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi**. Edisi Keenam. Penerbit ITB. Bandung. 367 hal.

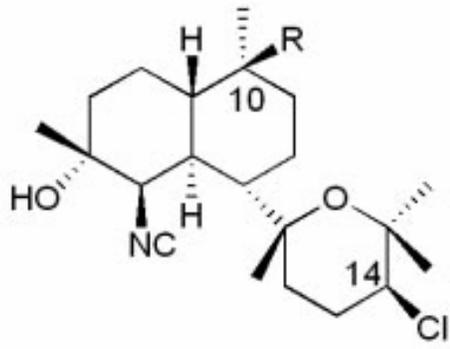
Rochani. 1999. **Pemanfaatan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Sebagai Alternatif Pengendalian Penyakit *Aeromonas hydrophila* Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)**. Tesis Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang. 66 hal.

Romimohtarto, K dan S. Juwana. 2001. **Biologi Laut: Ilmu Pengetahuan tentang Biota Laut**. Djambatan. Jakarta. 540hal.

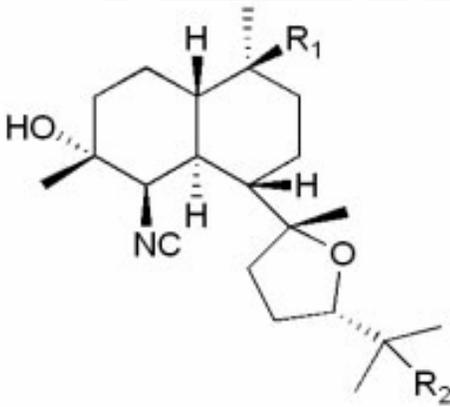
Rukyani A., P. Taufik, dan Taukhid. 1992. **Penyakit Kunang-Kunang (*Luminescent Vibriosis*) di Hatchery Udang Windu & Cara Penanggulangannya**. Primadona. Bendel Kedua. Edisi April. Jakarta. Hal 61.

Rukyani, A. 2000. **Penanganan Kematian Udang Windu di Tambak, Teknologi Penanggulangan Penyakit *White Spot***. Judul Tulisan yang Disampaikan pada Pertemuan Dialog Solusi dan Aksi 2000 tentang Kematian Udang di Tambak yang diselenggarakan pada tanggal 8 Mei 2000 di KRI Teluk Banten Surabaya. 13 hal.

- Salle, A. J. 1961. **Fundamental Principles of Bacteriology**. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. New York. 812 pp.
- Supriyono, A. 1999. **Sitotoksitas Senyawa Alkaloid Spons *Axinella carteri* Pada Uji In vitro Terhadap Sel Kanker Limfoma Tikus L5178y**. Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia Vol. 1 No. 5. Direktorat Teknologi Farmasi dan Medika. Jakarta. Hal 42-46.
- Suryati, E., Muliani dan Parenrengi. 1998. **Analisis serta Pemanfaatan Bioaktif Bunga Karang *Halichondria sp.* Yang Aktif Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio sp.* Pada Udang**. Prosiding Simposium Perikanan Indonesia II. Hal 192-194.
- Tompo, A, dan E.Susianingsih. 2004. **Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri *Vibrio* Pada Tambak Udang Yang Menggunakan Immunostimulan Untuk Pengendalian Penyakit**. Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan Dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang. Purwokerto. Hal 1-6.
- Yahya, Sukoso, Aulanni'am, Bagus S.B.U da J. Basmal. 2002. **Identifikasi dan Purifikasi Bioaktif Hasil Ekstrak Jaringan Tentakel Ubur-Ubur Laut sebagai Bakterisida Selektif untuk *Vibrio harveyi* Penyebab Penyakit pada Larva Udang**. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Vol. 14 –No.1. Hal 106-119.
- Wibowo, A. E., Agus. S., Subintoro dan Yudi R. 2007. **Studi Eksplorasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Biota Laut**. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika. Jakarta.
- Winarsih, S., Dzen S. M. dan Santoso S. 2003. **Bakteriologi Medik**. Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya. Malang. 373 hal.
- Widanarni. 2002. **Studi Mekanisme Pelekatan *Vibrio Sp* Pada Larva Udang Windu (*Penaeus Monodon*) Untuk Penapisan Bakteri Biokontrol**. [http://www.hayati-ipb.com/users/rudyc/PPs\\_702/widanarni.htm](http://www.hayati-ipb.com/users/rudyc/PPs_702/widanarni.htm). 7 hal.
- Scheuer, P. J. 1978. **Produk alami Lautan**. Jilid II. Academic Press. Inc. London. 547 hal.
- Van soest, R. W. M 2007. ***Acanthella cavernosa***. <http://www.marine-species.org>. 1 hal.
- \_\_\_\_\_. 1989. The Indonesian Sponge Fauna: Status Report. Netherlands Journal of Sea Research Vol. 23 No. 2. Hal 223-230. [www.marbef.org/modules.php](http://www.marbef.org/modules.php)
- Zafran dan Ibnu R. 2004. **Pengendalian Infeksi *Vibrio harveyi* Bercahaya Pada Larva Kepiting Bakau (*Scylla paramamosain*) Menggunakan Bakterin dan Antibiotik**. Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol. Bali. Hal 22-26



Kalihinol A



Kalihinol F

[http://www.wlbcenter.org/discoveries/diterpene\\_t.gif](http://www.wlbcenter.org/discoveries/diterpene_t.gif)

<http://www.ischool.utexas.edu/~cochine/html-paper/j-thurn-media/j-thurn-fig-2.jpg>