

UJI POTENSI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN SPONS ASAL PULAU NGGE (SIBOLGA) SEBAGAI SUMBER ANTIBAKTERI

Martina Restuati¹ dan Endang Sulistyarini Gultom²

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan, Jln. Willem Iskandar Pasar V, Medan 20221

²Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan, Jln. Willem Iskandar Pasar V, Medan 20221

Abstract Telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan Spons dari perairan Pulau Ngge Sibolga. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *B. Subtilis* serta mengetahui sifat biokimia dari bakteri yang memiliki aktivitas antibakteri tersebut. Pengambilan sampel spons dilakukan dengan teknik scuba diving pada kedalaman 5 meter. Bakteri yang berasosiasi dengan spons diisolasi dengan metode pengenceran bertingkat dan pour plate pada media NA. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan paper disk. Isolat yang memiliki aktivitas antibakteri diuji sifat biokimianya. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan 6 isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons, dan dari 6 isolat tersebut didapat 3 isolat yang memiliki aktivitas antibakteri (*Sp1* dan *Sp2* terhadap *S. aureus* dan *Sp4* terhadap *E. coli*). Ketiga isolat bakteri ini merupakan bakteri gram negatif dan motil. Pada uji katalase, oksidase, urea, sitrat dan fermentasi karbohidrat, ketiga isolat bakteri baik *Sp1*, *Sp2* maupun *Sp4* sama-sama menunjukkan reaksi yang positif. Uji MR ketiga isolat sama-sama menunjukkan reaksi negatif. Sedangkan pada uji gelatin isolat *Sp1* dan *Sp2* menunjukkan reaksi negatif dan *Sp4* menunjukkan reaksi)

Kata kunci:
spons, bakteri
symbion, antibakteri,
uji biokimia

PENDAHULUAN

Sebagai Negara kepulauan yang besar di dunia yang memiliki wilayah laut sangat luas, dua pertiganya merupakan wilayah laut, Indonesia memiliki sumberdaya alam hayati laut yang besar. Salah satu sumber daya alam tersebut adalah ekosistem terumbu karang. Ekosistem terumbu karang merupakan bagian dari ekosistem laut yang menjadi sumber kehidupan bagi beraneka ragam biota laut. Di dalam ekosistem terumbu karang bisa hidup lebih dari 300 jenis karang, lebih dari 200 jenis ikan dan berpuluh-puluh jenis moluska, krustasea, sponge, algae, lamun dan biota lainnya. Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentase

keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 1999). Beberapa senyawa aktif yang diisolasi dalam spons juga ditemukan dalam bakteri yang bersimbiosis dengannya, oleh sebab itu beberapa peneliti berpendapat bahwa bakteri terlibat sebagian maupun keseluruhan dalam biosintesa senyawa aktif tertentu dalam spons (BEWLEY et al. 1996; FLOWERS et al. 1998). Untuk membuktikan hipotesa tersebut, maka beberapa peneliti bahan alam laut melakukan penelitian tentang pencarian substansi bioaktif dari mikroba yang bersimbiosis dengan spons. Beberapa senyawa baru yang mempunyai aktivitas farmakologi telah ditemukan (JAYATILAKE et al. 1996; MITOVA et al. 2003; SUZUMURA et al. 2003). Salah satu senyawa antimikroba norharman telah diisolasi dari

bakteri *Pseudoalteromonas piscicida* yang berasosiasi dengan spons *Hymeniacida* perleve (ZHENG et al. 2005). Senyawa tersebut sebelumnya telah diisolasi dari spons di Indonesia, Komunitas bakteri yang berasosiasi dengan spons sebagian besar adalah proteobacteria, bacteroidetes, firmicutes dan actinomycetes (TAYLOR et al. 2007). Mikroba yang potensial sebagai target penghasil senyawa aktif adalah cyanobacteria, jamur dan actinomycetes. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh Actinomycetes micromonospora dari spons adalah senyawa antimalaria manzamine (ANG et al. 2000). Senyawa peptida antibakteri telah diisolasi dari spons *Hyatella* sp. dan bakteri simbiosis *Vibrio* sp. (OCLARIT et al. 1994). Beberapa senyawa antibakteri jenis quinolone juga diisolasi dari bakteri simbiosis spon *Homoplysia* sp. yaitu bakteri *Pseudomonas* (BULTEL et al. 1999). Adanya hubungan antara produksi antibakteri oleh mikroba simbiosis dengan spons telah diteliti oleh NARSINHA & ANIL 2000, yang melaporkan bahwa senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis spons (α proteobacterium MBIC 3368, *Idiomarina* sp dan *Pseudomonas* sp.) sangat dipengaruhi oleh like-protein rekombinan yang terdapat pada biota inang *Suberites domuncula*. Penelitian tersebut memperkuat adanya hubungan kerjasama dalam biosintesa metabolit sekunder antara mikroba simbiosis dengan spons.

Indonesia yang mempunyai megadiversitas jenis spons, sangat potensial bersimbiosis dengan mikroorganisme penghasil senyawa aktif. Melihat potensi tersebut, maka kelompok peneliti produk alam laut mulai melakukan penelitian substansi bioaktif dari mikroba yang bersimbiosis dengan spons. Sebelumnya (th 1997-2007) telah dilakukan penelitian substansi aktif dari spons Indonesia (RACHMANIAR et al. 1997; RACHMANIAR et al. 1998; RACHMANIAR et al. 2001; RACHMANIAR et al. 2004, RACHMANIAR et al. 2005; RACHMANIAR et al. 2006; RACHMANIAR et al. 2007). Berdasarkan data tersebut didapatkan jenis-jenis spons potensial penghasil senyawa aktif.

Spons potensial tersebut akan dipilih sebagai biota inang dalam penelitian ini.

Pulau Ngge (Sibolga) sebagai salah satu daerah konservasi terumbu karang yang tentunya memiliki keanekaragaman biota laut (spons, alga) yang dilakukan COREMAP (Coral Reef Rehabilitation and Management Program) sebuah lembaga yang dinaungi oleh LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan) dan Dinas Kelautan dan Perikanan untuk menjaga kelestarian terumbu karang dengan luas sekitar lebih kurang 8.000 Ha. Berdasarkan berbagai hasil penelitian diatas, maka sangat perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri yang berasosiasi dengan spons yang berasal dari Pulau Ngge (Sibolga) sebagai sumber substansi aktif antibakteri yang mudah dikulturkan.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel bakteri yang bersimbiosis dengan spons potensial dilakukan di Pulau Ngge Sibolga, Sumatera Utara dengan teknik *scuba diving*. Sampel spons diambil dan kemudian dimasukkan kedalam kantong plastik yang telah diisi dengan air laut steril sebelum diisolasi mikroba.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi UNIMED Medan, selama empat (4) bulan dimulai dari bulan Mei– Oktober 2012.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan selama penelitian ini adalah kantong plastik, kapas, sentrifuge, petry disk, jarum ose, hot plate, mortir, stamper, timbangan, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet volumetri, autoklaf, pipet serologi, pisau, cotton bud dan inkubator.

Bahan kimia yang digunakan untuk isolasi bakteri dalam spons diantaranya adalah media nutrisi-agar yang mengandung beef ekstrak (3 g), pepton (5 g), agar (15 g) dan air laut, Muller hinton agar, alcohol sedangkan bakteri bioindikator uji antibakteri digunakan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan

Eschericia coli yang didapatkan dari Laboratorium Biologi USU Medan.

Teknik Pengkoleksian Sampel

Sebelum sampel dikoleksi, terlebih dahulu diukur kondisi lingkungan air laut yang meliputi pengukuran pH, salinitas air laut dan posisi pengambilan sampel dengan GPS. Pengambilan sampel bakteri yang bersimbiosis dengan spons potensial dilakukan di pinggiran perairan Pulau Ngge Sibolga di kedalaman 2-10 m dengan teknik *scuba diving*. Sesudah diangkat dari permukaan laut, segera dilakukan pemotretan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik yang telah diisi air laut dan oksigen.

Isolasi Bakteri Simbion

Sampel spons dihaluskan sebanyak 1 gram dengan menggunakan mortir dan stamper secara aseptik. Sampel yang telah halus dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut steril. Sebelum dilakukan isolasi dilakukan pengenceran terhadap suspensi sampel bakteri untuk mendapatkan sampel koloni bakteri yang baik. Pengenceran yang dilakukan adalah dengan menggunakan teknik pengenceran bertingkat dari 10^1 , 10^2 , 10^3 dan 10^4 (Irianto, 2008). Kemudian sampel diambil sebanyak 1 ml dari hasil pengenceran (10^4) untuk diinokulasi pada media nutrient agar secara aseptik. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C di dalam inkubator selama 2 x 24 jam.

Pemurnian bakteri simbion

Bakteri yang bersimbiosis dengan spons yang telah ditumbuhkan dalam media nutrient agar diinokulasi pada media nutrient agar sampai diperoleh koloni tunggal (murni). Koloni murni adalah koloni yang memiliki morfologi sama karena berasal dari pembelahan satu sel (Waluyo, 2005, dalam Mayasari, 2010).

Skrining aktivitas antimikroba

Setelah diperoleh isolat murni kemudian dilakukan uji aktivitas terhadap bakteri patogen *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* (bakteri gram negatif) dan

Staphilococcus aureus (bakteri gram positif). Untuk melakukan uji aktivitas terlebih dahulu harus disiapkan suspensi biakan bakteri penguji *E. coli* dan *S. aureus* dalam media Nutrient Broth. Kemudian pada isolat bakteri uji yang telah homogen tersebut dimasukkan masing-masing dua kertas uji (paper disk) pada setiap suspensi isolat. Metode uji aktivitas antimikroba yang digunakan adalah metode difusi agar (BAUER *et al*, 1996 dalam Murniasih & Rasyid, 2009) dengan modifikasi. Uji aktivitas dilakukan dengan menginokulasikan suspensi bakteri penguji (*E. Coli*, *B. Substilis* dan *S. aureus*) kedalam media NA. Sebanyak 200 μl suspensi bakteri penguji dinokulasikan ke dalam 20 ml media NA dan diratakan dengan hockey stick agar suspensi bakteri penguji tercampur merata pada permukaan media. Kemudian biarkan beberapa saat agar suspensi bakteri menyatu dengan media. Setelah itu masukan paper disk yang telah direndam dalam isolat bakteri uji pada masing-masing petri disk yang telah diinokulasikan bakteri *E. Coli*, *B. Substilis* dan *S. aureus*.

Identifikasi bakteri simbiosis dengan Spons

Isolat bakteri yang memiliki aktivitas antibakteri dikarakterisasi melalui dua tahap yaitu (1) pengamatan (a) gram dan (b) motilitas dan (2) uji biokimia. Pengamatan gram dilakukan dengan menggunakan 3% KOH dan uji motilitas dengan menggunakan *water pepton*. Uji biokimia yang dilakukan meliputi uji katalase, oksidase, hidrolisis urea, hidrolisis gelatin, sitrat dan fermentasi karbohidrat

Kode Bakteri	Warna	Bentuk koloni	Tepi koloni	Elevasi
Sp1	Kuning	Bulat	Entire	Cembung
Sp2	Krem	Irreguler	Berlekuk	Flat (rata)
Sp3	Kuning	Bulat kecil	Entire	Cembung
Sp4	Krem	Irreguler	Berlekuk	Flat (rata)
Sp5	Krem	Bulat besar	Entire	Cembung
Sp6	Krem	Bulat kecil	Entire	Flat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan Kondisi Lingkungan sampel

Pengukuran pH dengan menggunakan pH-meter menunjukkan bahwa pH air laut pada lokasi pengambilan sampel adalah 3,5 dan salinitasnya sebesar 30 %. Posisi lokasi pengkoleksian sampel berdasarkan data GPS adalah N .01. 39. 001 E. 098. 47. 661. Pengukuran kondisi lingkungan air laut yang merupakan lokasi pengambilan sampel bertujuan untuk mengkondisikan lingkungan yang sesuai pada pengujian bakteri simbion sehingga bakteri simbion dapat bertahan hidup.

Identifikasi Bakteri simbion

Hasil penginokulasian berdasarkan metode pengenceran bertingkat, pengenceran 10^4 merupakan sampel isolat yang cukup untuk mewakili semua koloni bakteri yang tumbuh karena jumlah koloni yang tumbuh tidak terlalu padat namun bervariasi. Dari pengenceran 10^4 diambil enam isolat koloni bakteri yang berbeda untuk diisolasi. Enam isolat tersebut diisolasi berdasarkan warna dan bentuk koloni serta jumlahnya yang representatif. Bakteri yang diisolasi tersebut ditumbuhkan pada media agar dan diinkubasi selama 24 jam. Berikut adalah tabel 1 morfologi keenam isolat bakteri yang diisolasi berdasarkan warna dan bentuk koloni.

Uji Aktifitas Antibakteri

Dari hasil pengukuran, kode isolat Sp1 dan Sp2, terhadap *Staphylococcus* masing-masing besar zona bening yang terbentuk adalah 10 mm dan 10,5 mm; sedangkan terhadap *B.Subtilis* dan *E.Coli* tidak membentuk zona hambat bening.. Kode isolat Sp4 membentuk zona hambat bening 9 mm terhadap *E.Coli* sedangkan terhadap *S.Aureus* dan *B.Subtilis* tidak membentuk zona hambat bening. Kode Isolat Sp3, Sp5 dan SP6 tidak membentuk zona hambat bening terhadap *S.Aureus*, *B.Subtilis* dan *E.Coli*.. Aktifitas antibakteri ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat bening (+) disekitar paper disk (Gambar 1). Menurut Nofiani att all (2009), bakteri menunjukkan aktifitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zoba bening

disekitar koloni. Berikut htabel hasil pengujian Antibakteri.

Tabel 2 Hasil pengujian aktifitas antimikroba

Kode Bakteri	S.Aureus	Bacillus Subtilis	E.Coli
Sp1	+	-	-
Sp2	+	-	-
Sp3	-	-	-
Sp4	-	-	+
Sp5	-	-	-
Sp6	-	-	-

Keterangan + : terbentuk zona hambat bening

- : tidak terbentuk zona hambat bening

Hasil Karakterisasi Bakteri yang memiliki Aktifitas Antibakteri

Dari hasil karakteririsasi isolat bakteri dengan kode Sp1, Sp2 dan Sp4 adalah bakteri gram negatif. Hal ini dapat diketahui dengan uji KOH 3% yang ditunjukkan dengan terbentuknya lendir pada kaca objek yang telah diletakkan satu ose bakteri dan ditetesi dengan KOH 3%. Menurut Suwanda (2008) apabila suspensi berubah menjadi berlendir lengket dan terangkat seperti benang bersama jarum ose, berarti bakteri gram negatif (-). Apabila suspensi tetap encer, tidak terangkat dengan jarum ose, berarti bakteri Gram positif (+).

Uji fermentasi menggunakan enam jenis karbohidrat yaitu glukosa, galaktosa, sakarosa, laktosa, fruktosa dan maltosa. Hasil dari fermentasi kabohidrat (galaktosa, sakarosa, laktosa, fruktosa dan maltosa) ini menunjukkan reaksi yang positif untuk ketiga isolat (Sp1, Sp2 dan Sp4). Uji positif ini ditandai dengan adanya perubahan warna pada masing-masing media cair yang mengandung karbohidrat (glukosa, galaktosa, sakarosa, laktosa, fruktosa dan maltosa) dari merah menjadi kuning. Menurut lay (1994 : 82) dalam proses fermentasi, bakteri yang ditumbuhkan dalam media cair yang

mengandung karbohidrat, maka hasil fermentasi berupa asam.

Uji oksidase, ketiga isolat Sp1 dan Sp2 dan Sp4 mampu memberikan perubahan warna pada kertas tetrametil dari putih menjadi ungu pada saat isolat bakteri di oleskan pada kertas tersebut. Perubahan warna ini terjadi karena bakteri Sp1, Sp2 dan Sp4 mensekresikan enzim oksidase sehingga mampu menguraikan zat tetrametil yang ada pada kertas. Menurut Lay (1994), bakteri yang bersifat positif pada uji oksidasi ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki enzim oksidase.

Uji Methyl Red, ketiga isolat (Sp1, Sp2 dan Sp4) yang telah diuji menunjukkan hasil yang negatif, hal ini mengindikasikan bahwa seluruh isolat bakteri dalam fermentasi glukosa tidak menghasilkan asam dengan konsentrasi tinggi karena pada uji ini tidak terbentuk warna merah pada medium setelah ditetesi methyl red. Penambahan indikator pH methyl red dapat menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam. Methyl red berwarna merah pada lingkungan dengan pH 4,4 dan berwarna kuning dalam lingkungan dengan pH 6,2. Menurut Lay (1994: 83) beberapa bakteri memfermentasikan glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam dengan konsentrasi yang besar sehingga akan menurunkan pH media pertumbuhannya menjadi 5,0 atau lebih rendah

Uji katalase, semua isolat bakteri bereaksi positif setelah ditetesi H₂O₂ 3%, hal ini di tandai dengan adanya pembentukan gelembung udara pada ketiga isolat (Sp1, Sp2 dan Sp4). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki enzim katalase yang dapat mendegradasi hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan O₂. Menurut Capuchino & Sherman (1992: 171) selama respirasi aerobik mikroorganisme aerob, anaerob fakultatif, dan mikroaerofil menghasilkan hidrogen peroksida. Penumpukan hidrogen peroksida ini akan mengakibatkan kematian pada mikroorganisme kecuali mereka dapat mendegradasi hidrogen peroksida secara

enzimatik. Organisme yang menghasilkan enzim katalase dengan cepat mendegradasi hidrogen peroksida. Lay (1994: 87), menyatakan bahwa katalase adalah enzim yang mengkatalisasikan penguraian hidrogen peroksida menjadi air dan O₂. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktivasi enzim dalam sel, oleh sebab itu mikroorganisme yang hidup dalam sel harus menguraikannya.

Uji sitrat, semua isolat (Sp1, Sp2 dan Sp4) menunjukkan reaksi yang positif. Adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru, hal ini menandakan bahwa semua isolat mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Perubahan warna ini terjadi karena di dalam media *Simon's Citrat* terdapat pH indikator *brom thymol blue*. Menurut Lay (1994) bila mikroorganisme mampu menguraikan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru.

Uji gelatin, isolat Sp1 dan Sp2 tidak mampu untuk menguraikan gelatin sehingga media gelatin tetap membentuk gel setelah didinginkan dalam lemari es. Sedangkan isolat Sp4 mampu menguraikan media gelatin, hal ini terjadi karena bakteri isolat Sp4 mempunyai enzim gelatinase (Lay, 1994), sehingga media gelatin tetap cair meskipun telah didinginkan.

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, ketiga isolat (Sp1, Sp2 dan Sp4) mampu menghidrolisis urea. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua isolat tersebut memiliki enzim urease. Sejalan dengan pendapat lay (1994:101) bahwa beberapa mikroorganisme menghasilkan enzim urease yang menguraikan urea menjadi ammonium dan CO₂. Aktivitas enzim urease ini dapat diamati dengan menumbuhkan mikroorganisme kedalam media biakan yang mengandung urea dan pH indikator *phenol red*. Urease adalah enzim yang memecah nitrogen dan ikatan karbon dalam senyawa amida seperti urea dan membentuk akhir ammonia. Adanya ammonia membentuk lingkungan menjadi alkali yang menyebabkan

pH media menjadi basa sehingga terjadi perubahan warna dari warna kuning menjadi merah keunguan (Cappuccino & Sherman, 1987: 157).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Dari enam isolat bakteri yang diisolasi dari spons, hanya tiga isolat bakteri yaitu Sp1, Sp2 dan Sp4 yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri yaitu isolat bakteri Sp1 dan Sp2 bersifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan Sp4 bersifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*.
2. Ketiga isolat bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dan motil. Pada uji katalase, oksidase, urea, sitrat dan fermentasi karbohidrat, ketiga isolat bakteri baik Sp1, Sp2 maupun Sp4 sama-sama menunjukkan reaksi yang positif. Dalam uji Methyl Red ketiga isolat juga sama-sama menunjukkan reaksi negatif. Sebaliknya, pada uji gelatin isolat Sp1 dan Sp2 menunjukkan reaksi negatif dan Sp4 menunjukkan reaksi positif.

Saran

Peneliti menyarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang jenis bakteri lain yang bersimbiosis dengan spons jenis yang lain.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Rektor dan Ketua Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan yang telah menyediakan dana sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

Daftar Pustaka

- Bauer, a.w., w.m. Kirby, j.c. Sherris and M. Turek 1996. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493-498.
- Bewley, c.a., n.p. Holland and d.j. Faulkner. 1996. Two classes of metabolites from *Theonella swinhoei* are localized in distinct

populations of bacterial symbionts. *Experientia* 52: 716-722.

- Bultel, p.v., j.p. Berge, c. Debitus, j.l. Nicolas and m. Guyot 1999. Metabolites from the sponge-associated bacterium *Pseudomonas* *Species. Mar. Biotechnol.* 1: 384-390.

- Hooper, J. 1997. Guide to Sponge Collection and Identification. Queensland Museum South Brisbane Australia : 26-29

- Jayatilake, g.s., m.p. Thornton, a.c. Lenard, j.e. Grinwade and B.J. BAKER. 1996. Metabolites from an Antarctic sponge-associated bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Natural Products* 59: 293-296.

- Mapstone, g.m. 1990. Reef corals and sponges of Indonesia a video-based learning module. Printed by United Nations Educational, Scientific and cultural Organization, Paris France : 10-20.

- . Meyers, P. 2001. Porifera, Animal Diversity Web. Accessed February 01, 2005 at [Http:// Animaldiversity. Ummz. Umich. Edu/ site?accounts/ information/poritera.html](http://Animaldiversity.Ummz.Umich.Edu/site?accounts/information/poritera.html).

- Muliani, Suryati E, Tompo A, Parenrengi A, Rosmiati. 1998. Isolasi Bioaktif Bunga Karang Sebagai Fungisida pad Benih Udang Windu *Penaeus monodon*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vo.IV No. 2 Tahun 1998*.

- Muniarsih T, dan Rasyid, A . Potensi Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons Asal Barrang Lompo (Makassar) Sebagai Sumber Bahan Antibakteri. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia* (2010) 36(3): 281-292 ISSN 0125-9830

- Narsinha, l.t. And a.c. Anil. 2000. Antibacterial activity of the sponge *Ircinia ramose*: Importance of its surface-associated Bacteria. *Journal of Chemical Ecology.* 26(1):57-71.

- Rachmaniar R. 1996. Penelitian Produk Alam Laut Skreening Substansi Bioaktif. Laporan Penelitian Tahun Anggaran

- 1995/1996. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Puslitbang Oseanologi.
- Rachmaniar, r., t. Murniasih dan f. Untari 1997. Laporan Penelitian screening substansi bioaktif dari spons dan karang lunak. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia : 4-5.
- Rachmaniar, r., t. Murniasih, a. Rasyid dan f. Untari 1998. Laporan Penelitian Substansi bioaktif dari Spons. Pusat Penelitian Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia: 3-7.
- Rachmaniar, r., t. Murniasih, a. Rasyid dan f. Untari 2001. Laporan Penelitian Substansi antiinfeksi dari spons dan makroalga. Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia : 4-10.
- Rachmaniar, r., t. Murniasih, a. Rasyid dan f. Untari 2004. Laporan Penelitian Sensus Biota Laut dari spons dan karang Lunak dalam hubungannya dengan potensi bioprospekting. Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia:3-5.
- Rachmaniar, r., t. Murniasih, a. Rasyid dan f. Untari 2005. Laporan Penelitian Sensus Biota Laut dari spons dan karang lunak dalam hubungannya dengan potensi bioprospekting. Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia :4-8.
- Rachmaniar, r., a. Rasyid dan f. Untari 2006. Laporan Penelitian Sensus Biota Laut dari spons dan karang Lunak dalam hubungannya dengan potensi bioprospekting. Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia : 3-10.
- Rachmaniar, r., a. Rasyid dan f. Untari 2007. Laporan Penelitian Sensus Biota Laut dari spons dan karang Lunak dalam hubungannya dengan potensi bioprospekting. Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.: 4-20.
- Ruppert EE, and Barnes RD. 1991. Invertebrates Zoology. Sixth Edition. Saunders College Publishing. Philadelphia, New York, Chicago, San Fransisco, Montreal, Toronto, London, Sidney, Tokyo. hlm 68 - 91.
- Suryati E, Parenrengi A, dan Rosmiati. 2000. Penapisan Serta Analisis Kandungan Bioaktif Sponge *Clathria* sp. yang efektif sebagai Antibiofouling pada teritif (*Balanus amphitrit*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vo.V No. 3 Tahun 1999*.
- Silberhorn, a.m., v. Thiel and j.f. Imhoff 2007. Abundance and bioactivity of cultured sponge-associated bacteria from the Mediterranean Sea. *Microbial Ecology* 55: 94-106.
- Suzumura, k., t. Yoko, m. Funatsu, k. Nayai, k. Tanaka, h. Zhang and k. Suzuki 2003. YM-266183 and YM-266184, novel thiopeptide antibiotics produced by *Bacillus aureus* isolated from a marine sponge . Structure elucidation. *Journal of Antibiotics* (Tokyo) 56: 129-134.
- Taylor, m.w., r. Radax, d. Steger and m. Wagner 2007. Sponge-associated microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential. *Microbiol.*