

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KAPANG LAUT *Nodulisporium* sp. KT29 TERHADAP *Vibrio harveyi*

**Sri Hariati^{1*}, Dinamella Wahjuningrum¹, Munti Yuhana¹, Kustiariyah Tarman^{2,3},
Irza Effendi^{1,3}, Fazril Saputra¹**

¹Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat
Telepon (0251)-8628755, Faks. (0251)-8622941

²Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat

³Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, Institut Pertanian Bogor, Jalan Raya Pajajaran 1, Kampus IPB Baranangsiang Bogor 16144

*korespondensi : srihariati03@gmail.com

Diterima: 6 November 2017/ Disetujui: 21 Juli 2018

Cara sitasi: Hariati S, Wahjuningrum D, Yuhana M, Tarman K, Effendi I, Saputra F. 2018. Aktivitas antibakteri ekstrak kapang laut *Nodulisporium* sp. KT29 terhadap *Vibrio harveyi*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1): 250-257.

Abstrak

Nodulisporium sp. KT29 merupakan salah satu kapang endofit yang diisolasi dari alga merah *Eucheuma edule*, tidak bersifat toksik, dan bersifat antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak kapang laut *Nodulisporium* sp. KT29 terhadap *Vibrio harveyi*. Penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu kultivasi kapang, ekstraksi senyawa aktif, pengujian aktivitas antibakteri, kromatografi lapis tipis (KLT), bioautografi, serta pengamatan kerusakan sel bakteri *Vibrio harveyi*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 diuji terhadap bakteri *Vibrio harveyi* pada konsentrasi 0,125; 0,25; 0,5; 1 dan 2 mg/disc. Ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 membentuk zona hambat tertinggi pada konsentrasi 2 mg yaitu $45,33 \pm 0,71$ mm. Hasil uji KLT ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 menunjukkan adanya 7 spot *retardation factor* (*Rf*) dengan tiga komponen warna yaitu cokelat, kuning dan ungu. Uji bioautografi menghasilkan 2 spot zona hambat yaitu 16 mm dan 13 mm pada *Rf* 0,94 dan 0,14. Pengamatan menggunakan SEM menunjukkan bahwa kerusakan pada morfologi sel *Vibrio harveyi* dengan pemberian ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 yang ditandai dengan lisis.

Kata kunci : bioautografi, kerusakan sel bakteri, kromatografi, senyawa aktif

Antibacterial activity metabolite extract of marine fungus Nodulisporium sp. KT29 against Vibrio harveyi

Abstract

Nodulisporium sp. KT29 is one of the endophytic fungus isolated from the red alga *Eucheuma edule* and is not toxic. The aim of this research was to evaluate the antibacterial activity on metabolite extract of marine fungus *Nodulisporium* sp. KT29 against *Vibrio harveyi*. The research was carried out with several stages of cultivation of fungal, extraction of active compounds, in vitro test of antibacterial activity, thin layer chromatography (TLC), bioautography, and observation of *Vibrio harveyi* cell damage. The extraction was performed by maceration method using ethyl acetate solvent and concentrated with rotary evaporator. Metabolite extract of *Nodulisporium* sp. KT29 was tested against *Vibrio harveyi* bacteria of concentration 0.125; 0.25; 0.5; 1 and 2 mg/disc. Metabolite extract of *Nodulisporium* sp. KT29 showed the highest inhibition zone at 2 mg concentration of 45.33 ± 0.71 mm. The result of TLC on *Nodulisporium* sp. KT29 metabolite extract showed the existence of 7 spots of retardation factor (*Rf*) with three color components namely brown, yellow and purple. Bioautographic tests yielded 2 inlet zone spots of 16 mm and 13 mm at *Rf* 0.94 and 0.14. Observation with scanning electron microscope also showed damage in cell morphology characterized by its lysis.

Keywords: active compound, bioautography, chromatography, sell damage

PENDAHULUAN

Kapang endofit adalah fungi mikroskopis yang hidup di jaringan mahluk hidup tanpa menyebabkan penyakit pada tumbuhan inangnya. Kapang endofit yang sudah berhasil diisolasi dari tumbuhan pesisir serta laut asal Indonesia antara lain yang diisolasi dari lamun, mangrove dan rumput laut. Kapang *Nodulisporium* sp. KT29 merupakan kapang endofityangdiisolasi dari algamerah *Eucheuma edule*, tidak bersifat toksik bagi organisme dan bersifat antibakteri (Tarman *et al.* 2011), yang menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri. Penggunaan bahan alami yang bersumber dari perairan sebagai antibakteri telah banyak dilaporkan, antara lain ekstrak etanol *G. coxans* memiliki zona hambat 25,05 pada konsentrasi 100 mg/mL terhadap *V. Parahaemolyticus* (Weliyadi *et al.* 2018), ekstrak kasar intraseluler *S. costatum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. 15,79-75,47% (pada konstertasi ekstrak 100-2.000 ppm), (Setyaningsih *et al.* 2006), ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dengan zona hambat bakteri *Vibrio* sp. (8,75 mm) pada konsentrasi ekstrak 2 mg (Imra *et al.* 2016), serta bakteriosin dari BAL yang diisolasi dari terasi dapat menghambat bakteri patogen dan pembusuk yaitu *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemiliticus*, dan *Staphylococcus aureus* (Romadhon *et al.* 2018).

Nodulisporium sp. KT29 belum pernah dimanfaatkan dalam dunia budidaya perikanan. *Nodulisporium* sp. KT29 dalam dunia farmasi sudah dimanfaatkan namun masih sangat sedikit. *Nodulisporium* sp. KT29 yang dikultivasi pada air tawar memiliki sifat antibakteri mengandung β -glukan 0,54%, fitosterol 121 ppm, polifenol 31 ppm dan saponin 23 ppm. Kandungan bahan aktif *Nodulisporum* sp. KT29 yang di kultivasi menggunakan air laut pada penelitian ini lebih tinggi yaitu β -glukan 0,66% dan bahan aktif fitosterol 125 ppm, polifenol 35 ppm dan saponin 25 ppm (Saputra *et al.* 2016). Ekstrak kasar *Nodulisporium* sp. KT29 yang di ekstrak menggunakan etil asetat memiliki kandungan senyawa aktif dengan nilai hambat

12 mm terhadap *V. harveyi* (Wahjuningrum *et al.* 2016). *V. harveyi* adalah bakteri yang sering menyerang pada budidaya udang vaname yang menyebabkan penyakit vibriosis pada pemberian maupun pembesaran (Soonthornchai *et al.* 2010).

Nodulisporium sp. KT29 mampu menghasilkan senyawa antimikroba yang berperan mengendalikan mikroorganisme patogen sehingga diharapkan penggunaan ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 dapat menjadi alternatif untuk sumber bahan baku antibakteri terhadap *V. harveyi*. Kajian tentang senyawa antibakteri untuk menanggulangi infeksi bakteri *V. harveyi* sangat diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak kapang laut *Nodulisporium* sp. KT29 terhadap bakteri *V. harveyi*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nodulisporium* sp. KT29 koleksi Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, THP-FPIK, IPB. Bakteri uji yang digunakan adalah *V. harveyi* koleksi Laboratorium Kesehatan Ikan, BDP-FPIK. Bahan lain yang digunakan meliputi media *potato dextrose agar* (PDA) (DifcoTM), *potato dextrose broth* (PDB) (DifcoTM), pelarut etil asetat (Merck), pelarut *phosfat buffer saline* (PBS), kertas cakram, antibiotik *oxytetracycline* (OTC), media agar *sea water complete* (SWC), aseton (Merck), etil asetat (Merck) dan n-heksana (Merck), pelat *KLT alumina oxide silica gelPF₂₅₄* 20x20 cm (Merck), pereaksi warna anisaldehida asam sulfat (Aldrich).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya adalah shaker (Heidolph VV2.000), peralatan gelas kimia (Pyrex), cawan petri (Pyrex), mikro pipet (Dragon), *clean bench* Thermo Scientific 1.300 Series A2 (USA), timbangan digital (Sartorius TE214S), *rotary evaporator* Buchi R-114, inkubator Yamato IS900, autoklaf Yamato SM52 (Santaclara, USA), dan spektrofotometer Shimadzu UV Vis UV-2500 (Shimadzu, Jepang).

Metode Penelitian

Kultivasi kapang

Kultivasi kapang terdiri dari dua tahap, yaitu prekultur dan kultur massal mengacu pada Wahjuningrum *et al.* (2016). *Nodulisporium* sp. KT29 ditumbuhkan pada media *potato dextrose agar* (PDA). Prekultur bertujuan agar kapang dapat beradaptasi terhadap media pertumbuhan, dilakukan dengan cara memindahkan isolat kapang ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 100 mL media *potato dextrose broth* (PDB) dan diinkubasi selama tujuh hari pada suhu ruang. Kultur massal dilakukan dengan mengambil inokulum kapang sebanyak 5% dari media prekultur kemudian dipindahkan ke dalam 250 mL media PDB dan diinkubasi dalam kondisi digoyang (*shaking*) pada kecepatan 120 rpm selama 14 hari. Pemanenan dilakukan dengan filtrasi menggunakan kertas saring sehingga diperoleh media kultur, hasil panen berupa media kultur ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 selanjutnya digunakan dalam perlakuan, kadar air (media kulur) dihilangkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga kadar air berkurang 80% dari total volume.

Ekstraksi senyawa aktif

Ekstraksi media kultur kapang dilakukan dengan metode maserasi yang mengacu pada (Tarman 2011). Ekstraksi dilakukan dengan mencampur sampel dan pelarut etil asetat perbandingan 1:2, kemudian dilakukan pengocokan atau pengadukan selama 3x24 jam tanpa proses pemanasan. Pemisahan media kultur dan hasil ekstrak etil asetat dilakukan dengan corong pisah dan didiamkan beberapa saat sampai fase antara media kultur dan ekstrak etil asetat memisah dengan jelas. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Suhu ini digunakan agar ekstrak tidak kehilangan senyawa aktif yang tidak tahan panas. Ekstrak media kultur yang diperoleh merupakan sampel yang akan digunakan pada tahap uji aktivitas antibakteri.

Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan metode Kirby-Bauer atau kertas cakram (Lay 1994) secara *in vitro* ekstrak *Nodulisporium* sp.

KT29 terhadap bakteri *V. harveyi*. Bakteri *V. harveyi* dipilih karena merupakan bakteri yang sering menyerang pada komoditas udang vaname. Ekstrak yang digunakan yaitu konsentrasi 0,125; 0,25; 0,5; 1 dan 2 mg/*disc*. Antibiotik *oxytetracycline* (OTC) 30 µg/*disc* digunakan sebagai kontrol positif dan kontrol negatif menggunakan pelarut ekstraksi yaitu etil asetat 20 µL/*disc*. Kertas cakram yang telah diberi ekstrak kapang pada berbagai konsentrasi diletakkan di atas media agar *sea water complete* (SWC) yang sudah disebar 50 µL bakteri *V. harveyi* yang telah mencapai OD 0,5-0,8. Bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong dengan cara mengurangi diameter zona hambat yang terbentuk dengan diameter kertas cakram.

Kromatografi lapis tipis

Ekstrak kapang yang memiliki zona hambat dilanjutkan proses fraksinasi dengan KLT. Eluen yang digunakan adalah campuran aseton, etil asetat dan n-heksana dengan perbandingan 1:6:4 mengacu pada metode (Tarman 2011). Ekstrak 0,5 mg yang dilarutkan pada 100 µL EA diambil sebanyak 10 µL ditotolkan pada pelat KLT *alumina oxide silica gelPF₂₅₄* 20x20 cm (Merck) untuk mendeteksi bercak, kemudian dielusi dengan perbandingan eluen terpilih. Pelat dikeringkan dan disemprot dengan pereaksi warna anisaldehida asam sulfat (0,5 mL anisaldehida, 10 mL asam asetat glacial, 85 mL methanol, 5 mL asam sulfat pekat). Pelat kemudian dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit. Bercak yang timbul diamati di bawah sinar UV 366 nm dan dihitung nilai *Retardation factor* (*Rf*).

Uji bioautografi

Uji bioautografi dilakukan setelah ekstrak difraksinasi menggunakan KLT, sebanyak 20 µL ekstrak ditotolkan pada pelat KLT, kemudian dielusi dengan eluen pada uji KLT. Pelat KLT yang sudah dielusi ditempelkan pada media agar SWC yang sudah bercampur suspensi bakteri *V. harveyi*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan pengukuran zona hambat.

Kerusakan sel *Vibrio harveyi*

Pengamatan dengan *scanning electron microscope* (SEM) dilakukan untuk mempelajari kerusakan morfologi sel *V. harveyi* akibat pemberian ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29. Pengujian suspensi bakteri dilakukan dengan cara bakteri dikontakkan dengan ekstrak selama 4 jam. Preparasi pengambilan bakteri mengacu pada metode Goldstein *et al.* (2003), suspensi bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 20 menit, cairan dibuang untuk mendapatkan sel bakteri berupa pelet, selanjutnya pelet dicuci dengan *buffer* sebanyak 2 kali. Pelet direndam dengan glutaraldehid 2% selama 24 jam, lalu ditambahkan *chocodylate buffer*, dan direndam selama 20 menit. Larutan uji di sentrifugasi dan supernatan dipisahkan. Pelet ditambahkan osmium tetroksida 1% dan direndam selama 1 jam, selanjutnya dikeringkan dengan alkohol berturut-turut 70%, 80%, 95% dan alkohol absolut selama 20 menit. Pelet disuspensikan dengan penambahan butanol, kemudian suspensi diletakkan diatas *cover slip* yang telah mengering kemudian dilapisi dengan emas melalui proses vakum selama 20 menit dan diamati dengan SEM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antibakteri

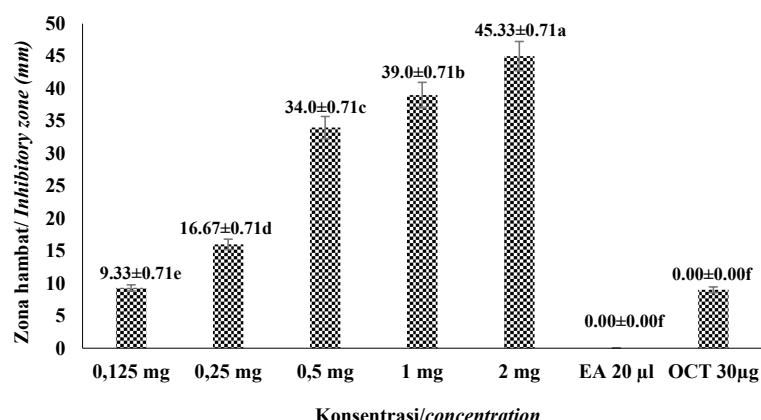
Hasil uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* dari ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 terhadap bakteri *V. harveyi* menunjukkan

adanya zona hambat di sekitar kertas cakram (Gambar 1). Zona hambat tertinggi teramat pada konsentrasi ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 2 mg, diikuti dengan konsentrasi 1; 0,5; 0,25 dan 0,125 mg. Antibiotik OTC 30 $\mu\text{g}/\text{disc}$ sebagai kontrol positif dan pelarut etil asetat (EA 20 μl) sebagai kontrol negatif.

Hasil uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* menunjukkan konsentrasi ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Konsentrasi yang meningkat akan menyebabkan peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Ariyanti *et al.* (2012), semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya akan semakin kuat. Pelczar and Chan (2008) menjelaskan bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri yaitu dengan adanya kerusakan dinding sel oleh senyawa antibakteri, perubahan molekul protein atau asam nukleat, penghambatan kerja enzim yang akan mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel serta penghambatan sintesis asam nukleat dan protein sehingga menyebabkan kerusakan total.

Fraksi Hasil Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode pemisahan senyawa kimia secara kimia-fisika berdasarkan kecepatan migrasi atau rasio distribusi dari komponen campuran fase diam dan fase gerak.



Gambar 1 Diameter zona hambat berbagai konsentrasi ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 terhadap *V. Harveyi*.

(Figure 1 Inhibitory zones diameters of *Nodulisporium* sp. KT29 metabolite extract at various doses against *V. Harveyi*).

KLT merupakan metode kromatografi yang relatif sederhana, cepat dan umum digunakan untuk mengidentifikasi zat farmasi (Hancu et al. 2011). Fraksi hasil KLT ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 berupa bercak senyawa pada lempeng KLT yang dideteksi secara fisik (lampa UV) dan kimia (pewarnaan reagen) disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan jenis eluen yang digunakan, diperoleh sejumlah fraksi yang ditandai adanya spot/bercak dengan nilai *retardation factor* (*Rf*) yang berbeda pada kromatogram. Metabolit *Nodulisporium* sp. KT29 yang diekstraksi dengan pelarut etil asetat dan disemprot dengan reagen anisaldehida-asam sulfat menunjukkan adanya tujuh spot dengan tiga komponen warna yaitu warna cokelat, kuning dan ungu (Tabel 1). Warna cokelat dan kuning merupakan senyawa fenol sedangkan ungu senyawa steroid. Hal ini sesuai dengan acuan dalam penentuan senyawa oleh Wagner dan Bladt (1996) yaitu jika timbul warna cokelat kuning setelah penyemprotan pereaksi anisaldehida-asam sulfat menunjukkan adanya senyawa fenol dalam ekstrak, dan ungu adanya senyawa steroid.

Bioautografi

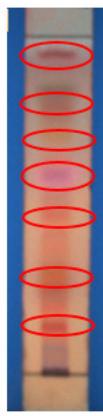
Hasil uji bioautografi ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 berupa zona hambat sekitar fraksi pada lempeng KLT yang

menunjukkan adanya senyawa antimikroba. Zona hambat yang dihasilkan sebanyak duah buah dengan diameter hambat 16 dan 13 mm pada *Rf* 0,94 dan 0,14 yang disajikan pada Gambar 2.

Bioautografi adalah suatu metode untuk mendeteksi senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Bioautografi merupakan teknik yang cepat dan sederhana dengan menggabungkan kelebihan dari pemisahan pada KLT dengan deteksi pada uji aktivitas antimikroba, teknik ini menampilkan fraksi yang berfungsi sebagai antimikroba secara langsung (Colorado et al. 2007). Fraksi aktif hasil uji bioautografi menunjukkan fraksi ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* dengan zona hambat 16 dan 13 mm pada *Rf* 0,94 dan 0,14. Berdasarkan spot zona hambat pada bioautogram dan kromatogram, diketahui bahwa senyawa yang aktif sebagai antibakteri pada semua kromatogram terdapat pada spot zona yang berwarna cokelat. Warna tersebut mengindikasikan senyawa fenol. Menurut Pelczar dan Chan (2008) senyawa fenol dan turunannya dapat merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

Tabel 1 Kromatogram ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29.
(Table 1 Chromatogram of *Nodulisporium* sp. KT29 metabolite extract)

Faktor retardasi / <i>Retardation factor (Rf)</i>	Warna/ Color	Deteksi Senyawa (Wagner dan Bladt 1996)
0.94	Coklat	Fenol
0.79	Coklat	Fenol
0.70	Kuning	Fenol
0.59	Ungu	Steroid
0.46	Kuning	Fenol
0.27	Kuning	Fenol
0.14	Coklat	Fenol



Jawetz *et al.* (2001) menyatakan bahwa mekanisme penghambatan tersebut terjadi karena senyawa fenol dapat berikatan dengan gugus sulfidrin dari protein. Hal tersebut menyebabkan perubahan konformasi protein membran sel target. Ketidakstabilan pada struktur protein tersebut akan menyebabkan terganggunya fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dan sel bakteri sehingga sel kehilangan bentuk dan lisis.

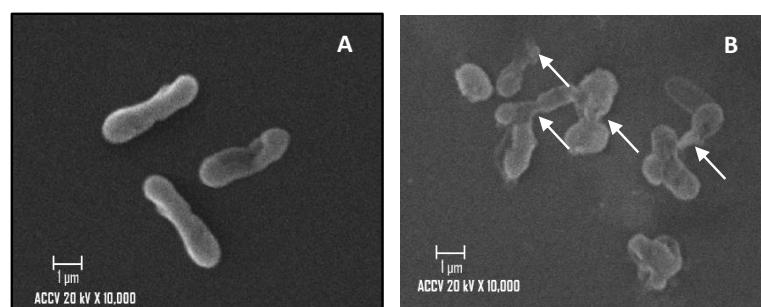
Kerusakan Sel *Vibrio harveyi*

Hasil pengamatan menggunakan SEM menunjukkan adanya perbedaan pada sel *V. harveyi* perlakuan kontrol dibandingkan dengan perlakuan yang diberi ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 (Gambar 3). Sel *V. harveyi* pada perlakuan yang diberi ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 pada pengamatan SEM menunjukkan adanya kerusakan sel.

Pengamatan dengan SEM juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 pada *V. harveyi* mengakibatkan kerusakan pada morfologi sel dengan ditandainya sel lisis atau pecah dibandingkan dengan kontrol. Madigan *et al.* (2015) menyatakan bahwa senyawa antibakteri mempunyai beberapa macam efek terhadap pertumbuhan bakteri, di antaranya memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis atau pecah, tetapi ada juga yang menyebabkan sel lisis atau pecah. Sel yang pecah atau lisis dalam penelitian ini ditunjukkan dengan tanda panah (Gambar 3). Mangoni *et al.* (2004) melaporkan sel yang lisis pada pengamatan morfologi menggunakan SEM adalah sel yang terlihat pecah atau sobek dan mengeluarkan molekul-molekul penyusun bakteri. Asriani *et al.* (2007) menyatakan bahwa dinding sel yang lisis mengakibatkan



Gambar 2 Bioautogram ekstrak *Nodulisporium* sp.KT29 terhadap *V. Harveyi*.
(Figure 2 Bioautogram of *Nodulisporium* sp. KT29 metabolite extract against *V. Harveyi*).



Gambar 3 Morfologi sel *V. harveyi* pada pengamatan SEM perbesaran 10.000x. (A) sel normal; (B) sel dengan pemberian ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29.
(Figure 3 The morphology of *V. harveyi* cells in SEM observations at a magnification of 10.000x. (A) normal cells (B) cells with the administration of *Nodulisporium* sp. KT29 metabolite extract).

keluarnya cairan dalam jumlah besar dan menyebabkan dinding sel mengerut dan mati.

KESIMPULAN

Ekstrak kapang laut *Nodulisporium* sp. KT29 memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada uji *in vitro*, uji KLT ditunjukkan dengan adanya senyawa fitokimia, uji bioautografi, serta kerusakan morfologi sel pada pengamatan dengan SEM. Ekstrak *Nodulisporium* sp. KT29 mengandung steroid yang merupakan senyawa yang dapat melisikkan bakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui Proyek Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi dalam rangka pelaksanaan kegiatan Penelitian Strategis Unggulan tahun anggaran 2016 atas nama Dr. Dinamella Wahjuningrum dengan Nomor Kontrak : 079/SP2H/LT/DRPM/II/2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanti NK, Darmayasa IBG, Sudirga SK. 2012. Daya hambat ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe barbadensis Miller*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi*. 16(1): 1-4.
- Asriani, Laksmi BS, Yasni S, Sudirman I. 2007. Mekanisme antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa terhadap bakteri patogen pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 18: 126-133.
- Colorado JR, Galeano EJ, Martinez AM. 2007. Development of direct bioautography as reference method for testing antimicrobial activity of gentamicin against *Escherichia coli*. *Vitae*. 14(1): 67-71.
- Goldstein J, Newbury D, Joy D, Lyman C, Echlin P, Lifshin E, Sawyer L, Michael J. 2003. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis 3th ed.* United States of America (USA): Springer.
- Hancu G, Fulop E, Rusu A, Mircia E, Gyeresi A. 2011. Thin layer chromatographic separation of benzodiazepine derivates. *Analele Universitatii din Bucuresti*. 20: 181-188.
- Imra, Tarman K, Desniar. 2016. Aktivitas antioksidan dan antibakteri nipah (*Nypafruticans*) terhadap *Vibrio* sp. isolat kepiting bakau (*Scylla* sp.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(3): 241-250.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Nani W, penerjemah. Jakarta (ID): Salemba Medika.
- Lay BW. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta (ID): PT. Raja Grafindo Persada.
- Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. 2015. *Brock Biology of Microorgnisms 14th edition*. New Jersey (US): Pearson Prentice Hall.
- Mangoni ML, Papo N, Barra D, Simmaco M, Bozzi A, Giulio A, Rinaldi C. 2004. Effects of antimicrobial peptide temporin L on cell morphology, membrane permeability and viability of *Escherichia coli*. *Biochemical Journal*. 380: 859-865.
- Pelczar MJ, Chan ESC. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, Penerjemah. Jakarta (ID): UI-Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Romadhon, Rianingsih L, Anggo AD. Aktivitas antibakteri dari beberapa tingkatan mutu terasi udang rebon. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1): 68-76.
- Saputra F, Wahjuningrum D, Tarman K, Effendi I. 2016. Pemanfaatan metabolit jamur laut *Nodulisporium* sp. KT29 untuk meningkatkan kinerja produksi budidaya udang vaname di laut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 8: 747-755.
- Setyaningsih I, Panggabean LM, Riyanto B, Nugraheni N. 2006. Potensi antibakteri diatom laut *Skeletonema costatum* terhadap bakteri *Vibrio* sp. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 10(1): 61-71.
- Soonthornchai W, Rungrassamee W, Karoonuthaisiri N, Jarayabhand P,

- Klinbunga S, Soderhall K, Jiravanichpaisal P. 2010. Expression of immune-related genes in the digestive organ of shrimp, *Penaeus monodon*, after an oral infection by *Vibrio harveyi*. *Developmental and Comparative Immunology*. 34(1): 19-28.
- Tarman K. 2011. Biological and chemical investigations of Indonesian marine derived fungi and their secondary metabolites [Disertasi]. Departement of Pharmaceutical Biology. Greifswald (DE): Ernst-Moritz-Arndt-University Greifswald.
- Tarman K, Lindequist U, Wende K, Porzel A, Arnold N, Wessjohann LA. 2011. Isolation of a new product and cytotoxic and antimicrobial activities of extracts from fungi of Indonesian marine habitats. *Marine Drugs*. 9(3): 294-306.
- Wagner H, Bladt S. 1996. *Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas*. Ed ke-2. Germany (DE): Berlin Heidelberg- Springer.
- Wahjuningrum D, Tarman K, Effendi I. 2016. Feeding duration of dietary *Nodulisporium* sp. KT29 to prevent the infection of *Vibrio harveyi* on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation Bioflux*. 9(6): 1265-1277.
- Weliyadi E, Awaludin, Imra, Maulianawati D. 2018. Aktivitas antibakteri ekstrak daging kerang bakau (*Geloina coaxans*) dari kawasan mangrove Tarakan terhadap *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1): 35-41.