

Bioprospeksi Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Lamun *Enhalus acoroides* dan *Syringodium isoetifolium* Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri

Luthfy AN, Endang Kusdiyantini¹, Anto Budiharjo²

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang, Semarang
50275 Telepon (024)7474754; Fax. (024)76480690

Email : luthfy711@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri dapat tumbuh di berbagai lingkungan, termasuk yang berasosiasi dengan organisme laut seperti lamun, sponge, alga dan karang lunak. Bakteri asosiasi memiliki kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai pertahanan terhadap patogen dan inangnya dengan menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* dan *Syringodium isoetifolium* sebagai penghasil senyawa antibakteri. Penelitian dilakukan dengan isolasi bakteri dari lamun *E. acoroides* dan *S. isoetifolium*, karakterisasi isolat bakteri secara morfologi, uji anti bakteri, dan uji aktivitas biokimia. Hasil penelitian diperoleh empat isolat bakteri, dua isolat dari *S. isoetifolium* dan dua isolat dari *Enhalus acoroides*. Dua isolat yang berasal dari *Syringodium isoetifolium* memiliki kemampuan zona hambat terhadap *P. aeruginosa* (5,7 mm) dan terhadap *E. coli* (6,65 mm).

Kata Kunci : Senyawa Antibakteri, *Enhalus acoroides*, *Syringodium isoetifolium*, *Vibrio*

Bioprospecting of Bacteria Associated With Seagrass *Enhalus acoroides* and *Syringodium isoetifolium* As Antibacterial Compounds Producer

ABSTRACT

Bacteria can grow in variety of environments including those associated with marine organisms such as seagrasses, sponge, algae and soft corals. Bacteria association has the ability to produce bioactive compounds that can be used as a defense against pathogens and their hosts by producing secondary metabolites such as antibacteria compounds. This study aimed to asses the potential of bacteria associated with seagrasses *Enhalus acoroides* and *Syringodium isoetifolium*. This study was conducted with bacterial isolation from seagrass *E. acoroides* and *S. isoetifolium*, characterization of bacterial isolates in morphology, antibacterial test, and biochemical activity test. The result obtained four bacterial isolates, two isolates of *Syringodium isoetifolium* and two isolates of *Enhalus acoroides*. Two isolates from *Syringodium isoetifolium* had the largest ability inhibitory zone of inhibition against the bacteria *P. Aeruginosa* (5.7mm) and against the bacteria *E. coli* (6.65mm).

Key word : Antibacterial Compound, Seagrass-Associated Bacteria, *Vibrio*, *Enhalus acoroides*, *Syringodium isoetifolium*

PENDAHULUAN

Lamun berperan penting dalam siklus ekologi pada perairan dangkal pantai tropis dan subtropis (Kurniawan, 2010). Fungsi ekologi lamun diantaranya adalah sebagai daerah asuhan, daerah pemijahan, daerah mencari makan dan daerah untuk mencari perlindungan berbagai jenis biota laut (Philips, 1998;

Thomascik *et al.*, 1997). Bioprospeksi lautan didefinisikan sebagai kegiatan riset senyawa bioaktif dan organisme lautan untuk tujuan farmakologi (Macilwain, 1998; Dhillion & Amundsen, 2000; Teixeira *et al.*, 2006). Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh berbagai sumber daya genetik merupakan obyek utama kegiatan bioprospeksi.

Bakteri dapat berasosiasi dengan berbagai organisme, termasuk dengan lamun. Ada beberapa bakteri asosiasi yang menguntungkan, yaitu bakteri dapat memberikan kontribusi untuk mempertahankan inangnya dengan menghasilkan metabolit sekunder untuk melawan hewan-hewan pemangsa dan perlekatan dari mikroorganisme patogenik. Asosiasi mikroorganisme seperti halnya beberapa bakteri dengan organisme laut yang diduga juga mensintesa metabolit sekunder seperti organisme inangnya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh asosiasi mikroba dengan organisme laut tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat sama dengan yang dihasilkan oleh organisme inangnya (Watermann, 1999; Burgess *et al.*, 2003).

Metabolit sekunder umumnya banyak digunakan untuk keperluan manusia, salah satunya pemanfaatan senyawa antibakteri yang dihasilkan dalam industri farmasi. Dzehaet *al.* (2003) menyatakan sebuah senyawa bioaktif yang disebut klonasterol, sebuah triterpenoid dilaporkan terdapat pada *Halimeda macroloba*. Terpenoid berperan sebagai senyawa antibakteri yang bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin.

Penelitian bakteri pada lingkungan laut telah banyak dilakukan seperti isolasi dan identifikasi bakteri yang berasosiasi sponge *Axinellasp.* (Abdullah, 2006). Mulianiet *al.* (2003) mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu. Ravikumaret *al.* (2010) melakukan penelitian mengenai potensi bioaktif dari bakteri lamun sebagai antibakteri dari bakteri patogen manusia. Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari jenis lamun *Cymodocea serrulata* yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*,

Klebsiella sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumonia* dan *Streptococcus aeruginosa*.

Pentingnya peran lamun dan bakteri yang berasosiasi dalam menghasilkan metabolit sekunder memungkinkan untuk mendapatkan senyawa alternatif sebagai antibakteri. Untuk mengetahui potensi antibakteri dari isolat bakteri hasil isolasi dari lamun *Enhalus acoroides* dan *Syringodium isoetifolium*, kemudian dianalisis secara mikrobiologi dengan isolasi, identifikasi, uji potensi antibakteri dan aktivitas biokimianya.

METODE

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *sampling* purposif (Arikunto, 1993). Sampel lamun diambil dari perairan Kepulauan Karimunjawa yaitu di Pulau Karimun dan Pulau Menjangan Besar dan Menjangan Kecil pada kedalaman 25 meter, dengan cara memotong ujung thallus dan atau daun, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas dengan sedikit air laut, diberi label sesuai dengan stasiun, waktu dan tanggal pengambilan. Sampel kemudian di tempatkan pada *cool box*.

Isolasi Bakteri

Lamun yang akan digunakan terlebih dahulu dibersihkan menggunakan air laut steril. sampel lamun dipotong-potong kecil, selanjutnya 1 g lamun dimasukkan ke dalam 9 mL air laut steril dan diperoleh pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan dengan cara diambil 0.5 mL sampel dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4.5 mL air laut steril dan akan diperoleh pengenceran 10^{-2} . Demikian selanjutnya sehingga diperoleh pengenceran sampel 10^{-4} (Radjasa *et al.*, 2007). Dari seri pengenceran 10^{-4} , dan 10^{-5} tersebut selanjutnya diambil 100 μ L sampel dan

disebarkan ke dalam cawan petri steril berisi media NA (*Nutrient Agar*) yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 26°C selama 2x24 jam (suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri) (Pelczar dan Chan, 2005). Setelah inkubasi, koloni yang tumbuh pada masing-masing cawan diamati. Koloni-koloni dengan bentuk, warna, elevasi, dan tepian koloni berbeda diisolasi dan dilakukan pengamatan bentuk sel dan pewarnaan gram isolasi bakteri dilakukan dengan metode goresan. Bakteri yang telah murni disimpan pada media agar miring.

Uji Antibakteri

Bakteri uji dan seluruh hasil isolat bakteri lamun dipersiapkan dahulu yaitu dengan memindahkan satu ose isolat *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* beserta masing-masing isolat lamun ke dalam medium NA kemudian diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu ruang. Masing-masing diinokulasikan ke dalam media NB diinkubasi pada suhu kamar dengan kecepatan 150 rpm selama 10-24 jam. Kultur diukur kekeruhannya dengan membandingkan dengan tabung standar McFarlands.

Pada uji aktivitas antimikroba digunakan isolat bakteri lamun dengan kekeruhan Standar McFarland no 1 sampai 3, sedangkan bakteri uji dengan kekeruhan McFarland lebih dari no. 7. Pada uji aktivitas antibakteri digunakan bakteri dengan OD_{550 nm}. Metode yang digunakan adalah metode difusi agar (Conception *et al.*, 1994 dalam Radjasa *et al.*, 2003) dengan menyiapkan cawan petri steril berisi 20 mL media cair. Kemudian sebanyak 0,1 mL kultur bakteri uji dalam media cair yang telah diinkubasi selama 1 hari diinokulasikan pada cawan petri tersebut dengan metode *spread* sampai merata dan didiamkan sekitar tiga menit supaya bakteri uji meresap pada media (Majid, 2008).

Bakteri yang digunakan sebagai uji antibakteri adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening sekitar *blank/paper disk* (diameter 6 mm) steril yang diletakkan aseptis pada permukaan agar lalu ditetesi 20 µL isolat bakteri *Seagrasses* yang telah dihomogenkan dan dikultur pada media NB. Media tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 2 x 24 jam. Diameter zona bening diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,1 mm. Sebagai kontrol positif maka digunakan antibiotik ampicillin sigma konsentrasi 100 ppm sebanyak 20 µL. Diamati perbandingan zona bening sekitar *paper disk* antara bakteri uji dan kontrol.

Uji Aktivitas Biokimia

Uji biokimia identifikasi bakteri dilakukan dengan standar yang ada di laboratorium mikrobiologi di Balai Besar Perikanan dan Air Payau (BBPBAP) Jepara, adapun beberapa uji yang dilakukan didalamnya seperti, Uji Hidrolisis Pati, Uji Fermentasi Karbohidrat (fruktosa, glukosa, sukrosa, dan arabinosa), Uji Katalase, dan Uji Produksi Nitrat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan melakukan isolasi bakteri yang berasosiasi dengan dua spesies lamun yaitu *Syringodium isoetifolium* dan *Enhalus acoroides* yang berasal dari perairan Kepulauan Karimunjawa. Teknik yang digunakan dalam perlakuan isolasi bakteri yang berasosiasi dengan dua spesies tersebut menggunakan teknik maserasi. Kurnia (2012) menjelaskan bahwa teknik maserasi adalah teknik yang dilakukan dengan cara menghancurkan sampel yang berbentuk padat dengan menemukannya menggunakan mortar dan pastel, sehingga mikroba yang ada di permukaan atau di

dalam sampel dapat terlepas, kemudian dilanjutkan dengan pengenceran bertingkat menggunakan air laut steril. Hasil pengenceran selanjutnya menggunakan metode spread di medium nutrisi agar (NA).

Hasil isolasi bakteri dari dua spesies lamun diperoleh empat isolat dengan karakteristik morfologi koloni diperoleh bentuk bakteri batang, mempunyai kenampakan elevasi datar dan tepian yang rata. berdasarkan Cappucino (1987) yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Morfologi Koloni isolat bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* dan *Syringodium isoetifolium*

Isolat Bakteri	Bentuk Bakteri	Warna	Elevasi	Tepian	Ukuran
ME-2	Batang	Cream	Datar	Rata	Kecil
Msy-1	Batang	PutihSusu	Datar	Rata	Melebar
KE-2	Batang	Cream	Datar	Rata	Kecil
Ksy-2	Batang	PutihSusu	Datar	Rata	Swam

Empat isolat yang berasosiasi dengan lamun tersebut kemudian diuji untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung meliputi uji antibakteri. Uji antibakteri dilakukan terlebih dahulu dengan tujuan mengetahui aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen. Efek multifungsi dari zat bioaktif yang

terkandung memungkinkan senyawa tersebut berinteraksi dengan proses *antifouling* (Fenical & Pawlik, 1990). Hasil uji aktivitas antibakteri antara isolat terhadap bakteri uji *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* ditunjukkan pada Tabel 2

Tabel 2. Aktivitas antibakteri isolat bakteri asosiatif lamun

No	Kode Bakteri	Diameter Zona Hambat (mm)		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	ME2	-	3,3 mm	-
2	MSy1	-	5,7 mm	-
3	KE2	-	-	3,7 mm
4	KSy2	-	-	6,65 mm

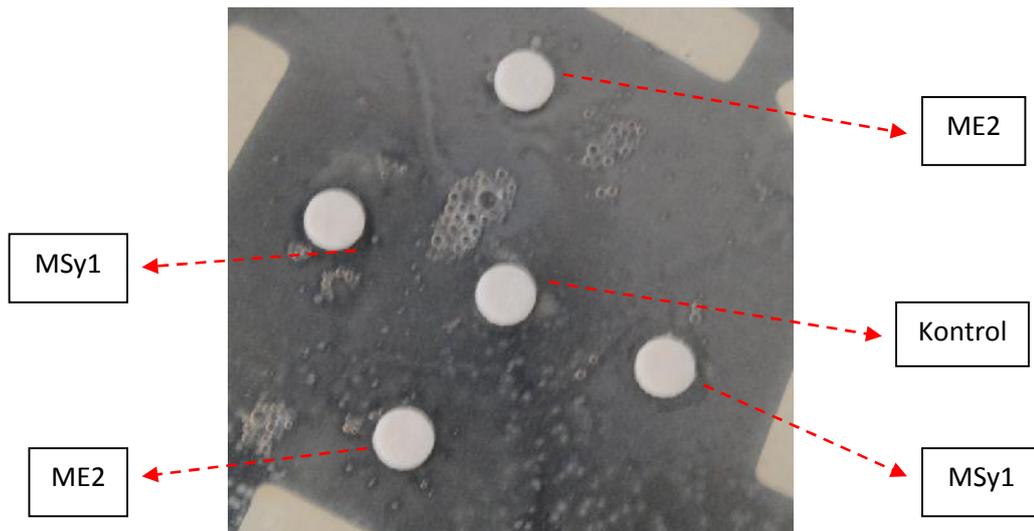
Tabel 2 menunjukkan kemampuan zona hambat yang dimiliki masing-masing isolat bakteri asosiatif lamun terhadap bakteri uji. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan pada pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Isolat

bakteri ME2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *E. coli* 3,3 mm. Isolat MSy1, mampu menghambat pertumbuhan *E.coli* 5,7 mm, Isolat KE2 mampu menghambat 3,7 mm, Isolat KSy2 mampu menghambat *E. coli* 6,65 mm. Zona hambatan isolat MSy1 pada *E. coli*

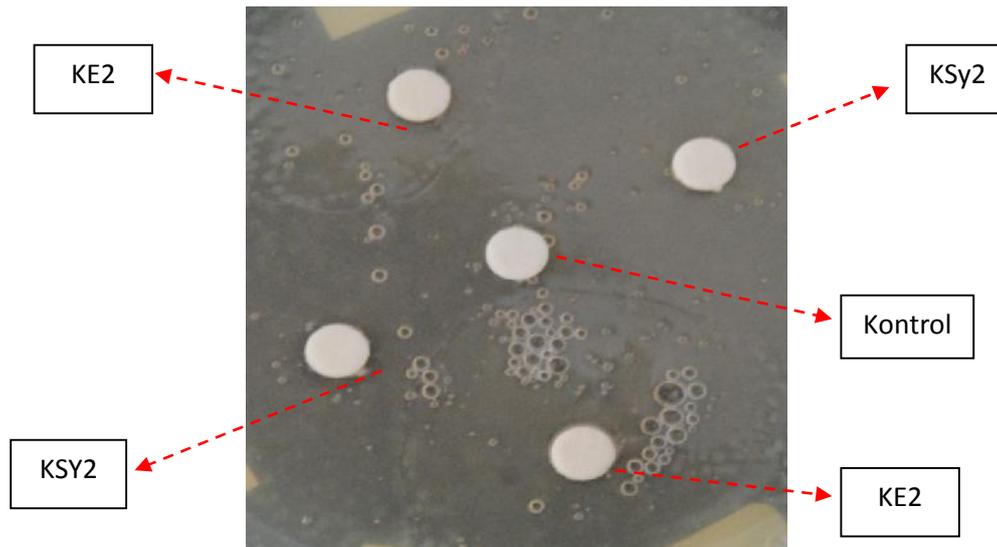
dapat dilihat pada gambar 4.3. Isolat bakteri MSy1 diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *E. coli* seperti terlihat pada gambar 4.3 dan KSy2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif *P. Aeruginosa* seperti terlihat pada gambar 4.4., namun tidak ada isolat hasil isolasi yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif (*S. aureus*), karena

kedua jenis bakteri Gram-negatif dan Gram-positif tersebut memiliki tingkat kepekaan yang berbeda. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut.

Hasil uji antibakteri dari empat isolat bakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* ditunjukkan pada Gambar 1 (*E. coli*) dan Gambar 2 (*P. aeruginosa*).



Gambar 1 Uji aktivitas antibakteri isolat lamun (*Antophyta*) terhadap *E. coli*. Adanya aktivitas isolat bakteri ditandai dengan adanya zona hambat disekelilingnya.



Gambar 2 Uji aktivitas antibakteri isolat lamun (*Antophyta*) terhadap *P. aeruginosa*. Adanya aktivitas isolat bakteri ditandai dengan adanya zona hambat disekelilingnya.

Dua dari empat isolat menunjukkan memiliki kemampuan aktivitas antibakteri yaitu MSy1 dan KSy2 (Gambar 1 dan Gambar 2). Menurut Mpila, dkk (2012) kriteria kekuatan daya antibakteri yaitu pada diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat.

Kekuatan daya antibakteri tersebut menunjukkan isolat MSy-1 dengan 5,7 mm; ME-2 dengan 3,3 mm; KE-2 dengan 3,7 mm; dan Ksy-2 dengan 6,65 mm (tabel 4.2) memiliki kemampuan antibakteri yang sedang (MSy-1 dan Ksy-2) dan lemah (ME-2 dan KE-2). Perbedaan tersebut lebih dikarenakan perbedaan kemampuan senyawa bioaktif

yang dimiliki masing-masing isolat. Hal ini menunjukkan bahwa isolat KSy2 mampu menghasilkan senyawa metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* yang mampu menghasilkan biofilm. Isolat bakteri KSy2 dan MSy1 selanjutnya dianalisis secara biokimia untuk mengkonfirmasi isolat hasil isolasi dengan spesies yang berkerabat dengan isolat tersebut.

Perbandingan yang dilihat pada Tabel 3 di bawah menunjukkan bahwa isolat KSy-2 memiliki sifat biokimia yang identik dengan *Vibrio alginolyticus*, begitupun dengan isolat MSy-1 memiliki sifat biokimia yang identik dengan *Vibrio harveyi*. Kedua bakteri tersebut merupakan bakteri Gram-negatif dengan bentuk batang (Gambar 3) yang hidup dalam kondisi aerob. Berikut tabel dan gambarnya.

Uji Biokimia	Kode Isolat			
	KSy-2	<i>V.alginolyticus</i>	MSy-1	<i>V.harveyi</i>
TCBS	+	+	+	+
Gram	-	-	-	-
Bentuk	Batang	Batang	Batang	Batang
Swarming	+	+	-	-
Motility	+	+	+	+
Aerobik	+	+	+	+
An aerobic	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+
Grow with 0% NaCl	-	-	-	-
Nitrat reduced	+	+	-	-
Oksidase	+	+	+	+
Indole	+	+	-	-
ONPG	-	-	+	+
VP	+	+	+	+
Hidrolisis of :				
- starch	+	+	+	+
- urea	+	+	+	+
Produksi H ₂ S	-	-	-	-
OF (glukose)	+	+	+	+
Acid from :				
- Glukosa	+	+	-	-
- L.Arabinose	+	+	-	-
- Arbutine	+	+	-	-
- Salicine	+	+	-	-
- Sucrose	+	+	+	+
- Xylose	-	-	-	-

Tabel 3. Karakteristik biokimia isolate Ksy-2 dengan *V.alginolyticus* dan isolat MSy-1 dengan *V.harveyi* berdasarkan Cowan & Steel (2003).



Keterangan : Pewarnaan gram menunjukkan isolat KSy-2 (kiri) dan juga isolat MSy-1(kanan) merupakan bakteri Gram-negatif (perbesaran 1000X)

Uji pati memperoleh hasil positif pada kedua isolat menunjukkan kemampuan isolat dalam mengubah polisakarida menjadi sakarida yang lebih sederhana dengan menggunakan enzim amilase. Uji glukosa memiliki perbedaan dimana isolat pada Tabel 3 menunjukkan glukosa, arabinosa, dan sukrosa memperoleh hasil positif, sedangkan pada Tabel 3 hanya glukosa dan sukrosa saja yang memperoleh hasil positif. Hal ini memberikan informasi bahwa kedua isolat bakteri dalam melakukan fermentasi karbohidrat menghasilkan beberapa produk akhir berupa asam.

Uji katalase, semua isolat bakteri bereaksi positif setelah ditetesi H₂O₂ 3%, hal ini di tandai dengan adanya pembentukan gelembung udara pada kedua isolat. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki enzim katalase yang dapat mendegradasi hydrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan O₂. Kemampuan lainnya yaitu pada isolat KSy-2 pada hasil VP positif, menandakan bahwa isolat tersebut dapat menghasilkan senyawa acetoin sebagai hasil fermentasi glukosa, sedangkan isolat MSy-1 tidak dapat menghasilkan senyawa acetoin karena hasil VP negatif. Kedua isolat menunjukkan ketidak-mampuannya tumbuh pada media dengan kadar NaCl 0% sama seperti halnya dengan *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyi*.

Bakteri *vibrio* merupakan jenis bakteri yang sering ditemui di perairan laut. *Vibrio* ditemukan pada banyak permukaan eksterior eukariota laut, khususnya zooplankton. Lapisan permukaan yang disertai dengan produk EPS atau Eksopolisakarida menjadi faktor penentu terhadap terbentuknya zona bening pada uji antibakteri (zona hambat).

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian isolate bakteri asosiasi dengan lamuninyaitu, empat isolate bakteri diperoleh dari isolasi yaitu dua dari lamun *S.isoetifolium* dan dua dari lamun *E. acoroides*. Isolat bakteri dari lamun *S.isoetifolium* menghasilkan zona hambat sebesar 6,65 mm terhadap *P. aeruginosa* dan 5,7 mm terhadap *E. coli*. Isolat bakteri dari lamun *E. acoroides* menghasilkan zona hambat sebesar 3,7 mm terhadap *P.aeruginosa* dan 3,3 mm terhadap *E. coli*. Isolat bakteri MSy1 dan KSy2 berdasarkan uji biokimia, menunjukkan kesamaan karakter dengan bakteri *vibrio*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, Balai Besar Pengembangan dan Budidaya Air Tawar (BBPBAP), Jepara dan segenap *staff* laboratorium yang telah mendampingi dan membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. 2006. Isolasi dan identifikasi mikroba asosiasi sponge *Axinella* sp. *Jurnal ilmu Pertanian Indonesia*. 11(3) : 1-5.
- Arikunto, S. 1993. *Prosedur Penelitian, Suatu Pendekatan Praktek*. Jakarta: Rineka Cipta
- Burges, J.G., Boyd, K.G., Amstrong, E., Jiang, Z., Yan, L., Berggren, M., May, U., Pisacane, T., Granmo, A., & Adams, D.R.. 2003. Development of a marine natural product-based antifouling paint. *Biofouling* 19:197-205
- Capuccino, J.G., & Sherman, N. 1992. *Microbiology a Laboratory*

- Manual. Amerika : The Benjamin/Cumming public.
- Cowan and Steel's. 2003. Manual for Identification of Medical Bacteria. Cambridge University
- Dhillon, S.S. and Amundsen, C. 2000. Bioprospecting and the maintenance of biodiversity. In: varstad, H. And Dhillon, S.S. (eds). *Responding to Bioprospecting: From Biodiversity in The South To Medicines in The North*. S Spartacus Fortag A/S, Oslo, p.103
- Dzaha, T., M. Jaspars & Tabudravu, J. 2003. Clionasterol, a terpenoid from the Kenyan marine green macroalga *Halimeda macroloba*. *West. Indian Ocean mar. Sci.*, 2: 157-161.
- Fenical, W. & Pawlik, J.R. 1991. *Defensive Properties of Secondary Metabolites from the Caribbean Gorgonian Coral Erythropodium caribaeorum*. *Mar Ecol Prog Ser*, 75(4): 1-8
- Kurniawan, M. L. 2010. Analisis kecenderungan persebaran meifauna pada jenis lamun yang dipengaruhi oleh variabel lingkungan. Skripsi. Surabaya: Institut Teknologi Bandung.
- Macilwain, C. 1998. When rhetoric hits reality in debate on bioprospecting. *Nature* 392, 535-540.
- Majid, M. 2008. *Bioprospeksi Bakteri Symbion pada Tunikata Didemnum molle dari Perairan Pulau Sambangan Karimunjawa Jepara*. Universitas Diponegoro. Semarang. Skripsi
- Mpila, D.A., Fatimawali, Weny, I. Dan Wiyono. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (Colues atropurpureus L. Benth) Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli dan Pseudomonas aeruginosa Secara In-Vitro*. FMIPA Unsrat. Manado.
- Pelczar, M.J & Chan, E.C.S. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. *Diterjemahkan oleh R.S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo, dan S.L. Angka*. Penerjemah. UI Press, Jakarta.
- Philips, R. C. 1988. Seagrasses. Smithsonian Contribution to the Marine Science. Number 34. Smithsonian Institution Press. Washington D. C
- Radjasa, O., Karwur F., Wusqy N. dan Limantara L. 2009. Elusidasi biopigmen serta identifikasi molekuler berbasis 16S rDNA terhadap bakteri yang berasosiasi dengan Enhalus acoroides. Prosiding seminar nasional pengolahan produk dan bioteknologi kelautan dan perikanan. (Abstract)
- Radjasa, O.K., Martens, T., Grossart, H.P., Brinkoff, T., Sabdono, A., & Simon, M. 2007. Antagonistic activity of a marine bacterium *Pseudoalteromonas luteoviolacea* TAB4.2 associated with coral *Acropora* sp. *J. Biol. Sci.* 7(2):239-246
- Ravikumar, S., Thajuddin N., Suganthi P., Jacob S and Vinodkumar T. 2010. Bioactive Potential of seagrass bacteria against Human bacterial Pathogens. *Journal of Environmental Biology*. 387-389.
- Tomascik, T., Mah, A.J., Nontji, A., dan Moosa, M.K., 1997. *The Ecology Of Indonesian Seas. Part two*. The Ecology of Indonesia Series. Volume VII
- Watermann, B. 1999. *Alternative Antifoulant Techniques Present and Future*. *Limno.Mar*, 1(6): 1-