

KOMUNIKASI RINGKAS

PENGUNAAN EKSTRAK SPONS UNTUK PENANGGULANGAN BAKTERI *Vibrio* sp. PADA UDANG WINDU *Penaeus monodon*

Muliani^{*)}, Emma Suryati^{*)} dan Taufik Ahmad^{*)}

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan bioaktif spons terhadap penanggulangan bakteri *Vibrio* sp. pada udang windu *P. monodon*. Penelitian dilakukan di laboratorium Balai Penelitian Perikanan Pantai, Maros yang meliputi beberapa tahapan kerja yaitu: (1) Isolasi dan identifikasi bakteri *Vibrio* sp. dari udang windu, (2) Perbanyakan bakteri *Vibrio* sp. hasil identifikasi menggunakan *Nutrient Broth*, (3) Infeksi bakteri *Vibrio* sp. sebanyak 10^3 CFU/ml air dan pemberian ekstrak spons *Auletta* sp., *Callyspongia* sp., dan *C. pseudoreticulata* dengan dosis masing-masing 0, 100, 200, dan 300 ppm ke dalam wadah pemeliharaan udang windu (*P. monodon*) yang diset dengan rancangan acak lengkap dengan pola faktorial, (4) Pemantauan perkembangan populasi bakteri *Vibrio* sp. dan sintasan udang windu (*P. monodon*) dilakukan setelah perendaman dengan ekstrak spons *Auletta* sp., *Callyspongia* sp., dan *C. pseudoreticulata*. Jenis dan dosis spons yang digunakan memperlihatkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$) terhadap perkembangan populasi bakteri, baik dalam media pemeliharaan, maupun dalam tubuh udang windu. Sedangkan terhadap sintasan udang windu penggunaan dosis 200 dan 300 ppm untuk semua jenis spons memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$) terhadap kontrol (0 ppm), sedangkan dosis 100 ppm berbeda tidak nyata ($P>0,05$) dengan kontrol (0 ppm). Dengan demikian dosis 200 dan 300 ppm efektif menekan patogenitas bakteri *Vibrio* sp.

ABSTRACT: *Effects of sponge bioactive to control Vibrio sp. on tiger prawn Penaeus monodon culture. By: Muliani, Emma Suryati, and Taufik Ahmad*

The aims of the experiment was to know the effects of sponges bioactive to control *Vibrio* sp infection on tiger prawn *Penaeus monodon*. This experiment was conducted at Research Institute for Coastal Fisheries (RICF) laboratory covering several activities i.e (1) Isolation and identification of bacterial *Vibrio* sp.; (2) Reproduction of the identified vibrio population by *Nutrient Broth* medium; (3) Inoculation of 10^3 CFU *Vibrio* sp./mL water medium together with application of sponge (*Auletta* sp, *Callyspongia* sp, and *C. pseudoreticulata*) bioactive extract at the dosages of 0, 100, 200, 300 ppm to 2 liter tiger prawn water medium; (4) Monitoring of bacterial *Vibrio* sp. population after treated with sponges bioactive. The experimental design applied was completely Randomised Design with factorial arrangement. Statistical analysis showed that differents kinds and dosages of sponge used did not significantly reduce ($P>0.05$) bacterial population in both water medium and tiger prawn, but they significantly ($P<0.05$) increased the tiger prawn survival rate. This study showed that sponge bioactivity of *Auletta* sp., *Calyspongia* sp. and *C. pseudoreticulata* at the dosages of 200 and 300 ppm were more effective for decreasing bacterial population in the water media, and subsequently increasing the survival rate of tiger prawn *P. monodon*.

KEYWORDS: *Sponges, Auletta sp., Callyspongia sp., C. pseudoreticulata, bioactive, Vibrio sp., Penaeus monodon*

PENDAHULUAN

Satu di antara beberapa usaha untuk meningkatkan produksi udang di tambak adalah

dengan pemberian pakan tambahan. Namun di sisi lain pemberian pakan tambahan yang tidak tepat jumlah dan waktu dapat mencemari lingkungan tambak akibat penumpukan bahan

^{*)} Peneliti pada Balai Penelitian Perikanan Pantai

organik yang berasal dari sisa-sisa pakan. Akumulasi limbah organik di dasar tambak akan menyebabkan terbentuknya lapisan anaerob yang menghasilkan H_2S dan bahan toksik lainnya (Anderson *et al.*, 1988). Akibatnya bakteri patogen oportunistik seperti *Aeromonas* sp. dan *Vibrio* sp., jamur, parasit dan virus berkembang dan memungkinkan timbulnya penyakit pada udang (Austine, 1987a; Atmomarsono *et al.*, 1993; Lighnert *et al.*, 1992; Madeali *et al.*, 1993; Muliani & Mangampa, 1993; Nash *et al.*, 1992; dan Tompo *et al.*, 1993).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencegah timbulnya penyakit udang di tambak, antara lain melalui pengelolaan limbah dengan menggunakan tandon dan biofilter (Atmomarsono *et al.*, 1995; Mangampa, 1997; dan Muliani *et al.*, 1995) tetapi hasilnya belum memuaskan. Selain itu penggunaan antibiotik dan pestisida juga tidak jarang dilakukan oleh petani dalam menanggulangi terjadinya serangan penyakit pada udang windu, namun tanpa disadari oleh petani justru hal ini akan membawa dampak negatif terhadap lingkungan budidaya maupun terhadap udang windu yang dibudidayakan. Penggunaan antibiotik secara terus-menerus dapat menyebabkan terjadinya resistensi organisme patogen seperti bakteri. Sedangkan penggunaan pestisida secara berlebihan dapat menghambat perkembangan organisme nontarget seperti plankton dan bakteri pengurai, sehingga mengganggu sistem keseimbangan dalam lingkungan tambak. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dicari alternatif pemecahannya antara lain melakukan penapisan bahan alami yang mengandung bioaktif yang mudah terurai dan dapat digunakan sebagai bakterisida. Salah satu upaya yang telah dilakukan oleh Balai Penelitian Perikanan Pantai adalah melakukan penapisan bioaktif spons yang bertujuan untuk memperoleh bakterisida yang efektif dan efisien yang nantinya dapat dibuat sintetisnya.

Beberapa jenis spons yang dilaporkan memiliki bioaktif antara lain *Hyatella intestinalis* mengandung sesterterpen (Karuso *et al.*, 1989), *Agelas flabelliformis* mengandung metil steroid (Gunasekara *et al.*, 1989); *Hipospongia comunis*, *Spongia officinalis*, *Ircinia virabilis*, *Spongia gracilis* masing-masing mengandung sesterterpen, terpenoid, variabelin dan ketosteroid (Madaio *et al.*, 1989); *Dysidea avara* mengandung avarol (Crispino *et al.*, 1989) dan *Erylus lendenfeldi* dan

Dyctionella insica masing-masing mengandung metil steroid glikosida dan ketosteroid (Cimmiello *et al.*, 1989) yang dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi dan pengobatan penyakit pada manusia dan hewan.

Dari hasil penelitian secara invitro di Laboratorium Balai Penelitian Perikanan Pantai didapatkan beberapa spesies spons memiliki bioaktif yang potensial sebagai bakterisida antara lain *Auletta* sp., *Callyspongia* sp., *C. pseudoreticulata*, dan *Halichondria cartilagina* (Ahmad *et al.*, 1995; Suryati *et al.*, 1995, 1997; Muliani *et al.*, 1996, 1997) yang menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. yang kuat dibanding antibiotik yang sering digunakan dalam penanggulangan penyakit bakterial (Madeali, 1995).

Tujuan percobaan adalah untuk mengetahui efektivitas penggunaan bioaktif spons dalam rangka penanggulangan penyakit bakteri *Vibrio* sp. pada udang windu.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian Perikanan Pantai, Maros yang meliputi beberapa tahapan yaitu:

Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Vibrio* sp. pada Udang Windu

Bakteri *Vibrio* spp. diisolasi dari udang sakit dengan cara menggerus hepatopankreas udang windu dan mengencerkan dengan 9 mL larutan saline solution (pengenceran dilakukan secara bertingkat dari 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3}). Kemudian dari masing-masing pengenceran diambil 0,1 mL lalu ditumbuhkan pada media TCBS agar (*Thiosulfate-Citrate-Bile-Sucrose*), dalam cawan petri selama 48 jam pada suhu $25^{\circ}C$. Bakteri yang tumbuh dalam cawan petri diisolasi dan dimurnikan berdasarkan bentuk, ukuran dan warna koloni, kemudian ditumbuhkan pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA) miring selama 48 jam pada suhu $25^{\circ}C$. Setelah itu dilakukan uji karakterisasi secara biokimia (Cowan, 1974; Austine, 1987b; Austine & Austine, 1993) menggunakan media O/F, TSI agar, SIM, MR-VP, King A, King B, Gelatin dan Urea broth. Selanjutnya diidentifikasi sesuai petunjuk Lewis (1974); Austine (1991); Austine & Austine (1993). Bakteri *Vibrio* spp. yang telah diidentifikasi diremajakan secara periodik sampai pada tahap perbanyakan.

Perbanyakkan Bakteri *Vibrio* spp.

Sebelum perbanyakkan bakteri dalam *nutrient broth* untuk infeksi buatan ke dalam media pemeliharaan udang, dilakukan uji pendahuluan untuk pendugaan kepadatan bakteri dengan cara menumbuhkan isolat bakteri dari udang windu pada media TSA cawan petri selama 48 jam pada suhu 25°C. Kemudian isolat bakteri diambil sebanyak 15 jarum ose dan ditumbuhkan pada *nutrient broth* volume 400 mL selama 48 jam pada suhu 25°C dengan 3 ulangan. Penghitungan populasi bakteri dalam *nutrient broth* dengan cara pengenceran bertingkat dalam 9 mL larutan garam fisiologis (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} dan 10^{-4}). Kemudian masing-masing pengenceran diambil 0,1 mL dan ditumbuhkan pada media TCBS agar dalam cawan petri selama 48 jam pada suhu 25°C. Setelah diketahui populasi bakteri dalam *nutrient broth*, maka volume suspensi bakteri dalam *nutrient broth* yang akan diinfeksi ke dalam media pemeliharaan udang windu dapat dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran:

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

di mana:

- N_1 = kepadatan populasi bakteri *Vibrio* spp. dalam *nutrient broth*
- V_1 = volume suspensi bakteri *Vibrio* spp. dalam *nutrient broth* yang dibutuhkan
- N_2 = kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki
- V_2 = volume media air dalam wadah pemeliharaan udang windu

Infeksi Buatan dengan Bakteri *Vibrio* spp. terhadap Udang Windu dan Penanggulangannya Menggunakan Ekstrak Spons

Botol gelas volume 3 L sebanyak 30 buah digunakan sebagai wadah penelitian. Tiap wadah diisi air laut steril yang bersalinitas 25 ppt sebanyak 2 L. Hewan uji yang digunakan adalah udang windu dengan ukuran panjang 3-5 cm dan bobot 0,03-0,05 g dengan kepadatan 20 ekor/wadah. Udang yang telah ditebar dalam wadah diinfeksi dengan bakteri *Vibrio* spp. dengan kepadatan 10^3 CFU/mL. Penelitian diset dalam rancangan acak lengkap dengan pola faktorial. Faktor I adalah dosis ekstrak spons dan faktor II adalah jenis spons. Masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Duapuluh empat jam setelah

infeksi bakteri *Vibrio* spp. ke dalam air pemeliharaan udang, diberi ekstrak spons *Auletta* spp., *Callyspongia* spp., dan *C. pseudoreticulata*, yang dimasukkan dengan dosis 0, 100, 200, dan 300 ppm.

Pengamatan Perkembangan Populasi Bakteri *Vibrio* sp. dan Sintasan Udang Windu

Perkembangan populasi bakteri *Vibrio* sp. dalam media air dilakukan setiap 24 jam dengan cara mengambil sampel air sebanyak 1 mL/wadah. Pengamatan populasi bakteri dalam udang dilakukan pada akhir penelitian dengan cara mengambil sampel hepatopankreas udang sebanyak 1 g, kemudian digerus. Sampel air dan hepatopankreas udang yang telah digerus diencerkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis. Pengenceran dilakukan secara bertingkat dari 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} kemudian masing-masing pengenceran diambil 0,1 mL dan ditumbuhkan pada media TCBS agar dalam cawan petri selama 48 jam pada suhu 25°C. Setelah itu jumlah koloni bakteri *Vibrio* sp. yang tumbuh pada media tersebut dihitung, sehingga dapat diketahui perkembangan populasi bakteri *Vibrio* sp. dalam air dan hepatopankreas udang.

Sintasan udang windu diamati pada akhir penelitian. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dalam program "Statistik" versi 3 menggunakan perangkat lunak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak spons dapat menekan perkembangan populasi bakteri *Vibrio* sp. pada wadah pemeliharaan udang windu *P. monodon*. Hal ini terlihat pada akhir penelitian kepadatan bakteri *Vibrio* sp. relatif menurun dibandingkan dengan kontrol (dosis 0 ppm) (Tabel 1). Sedangkan kepadatan bakteri pada setiap gram benur relatif sama dengan kontrol (Tabel 2).

Berdasarkan hasil uji statistik, penggunaan ekstrak dari ketiga jenis spons tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap perkembangan populasi bakteri, baik pada media penelitian maupun dalam jaringan tubuh benurnya sendiri ($P > 0,05$). Demikian pula dosis 100, 200, dan 300 ppm untuk ketiga jenis spons

perkembangan populasi bakteri masih relatif sama. Hal ini diduga karena ekstrak spons yang digunakan masih dalam bentuk ekstrak kasar (ekstrak metanol).

Hasil penelitian secara invitro terhadap penggunaan ekstrak metanol dari *C. pseudoreticulata*, *Halichondria* sp. dan *Auletta* sp. pada dosis 20-40 ppm setara bobot segar menghasilkan zona hambatan masing-masing sekitar 16,6-23,6, 20,3-29,4, dan 20,3-29,4 mm terhadap bakteri *Vibrio* sp. (Ahmad *et al.*, 1995), sedangkan hasil penelitian selanjutnya terhadap uji hambatan hasil fraksionasi *Auletta* sp. terhadap *Vibrio* sp. sebesar 32,9 mm pada 40 ppm setara bobot segar

(Suryati *et al.*, 1997). Jika dibandingkan dengan daya hambat antibiotik yang sering digunakan seperti *oxytetracycline* dan *chloramphenicol* yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. dengan diameter hambatan masing-masing 19,0 dan 11,9 mm pada konsentrasi di atas 100 ppm (Madeali, 1995) hasil ini masih relatif lebih bagus. Hal yang sama ditunjukkan oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Zafran *et al.* (1997), yaitu konsentrasi hambatan terendah (MIC) *chloramphenicol*, *oxytetracycline*, dan *furazolidone* terhadap bakteri *Vibrio* sp. yang diisolasi dari benih udang windu yang dipelihara pada panti benih komersial di Bali masing-masing pada dosis 62,5; 31,3; dan 15,6 ppm.

Tabel 1. Populasi bakteri *Vibrio* spp. (CFU/g) dalam air pemeliharaan udang windu setelah 96 jam pengobatan dengan bioaktif spons.

Table 1. *Vibrio* spp. population (CFU/g) in the rearing water of tiger prawn after 96-hour incubation with sponges bioactive.

Dosis Dosage (ppm)	Jenis spons (Type of sponge)		
	<i>Auletta</i> spp.	<i>Calispongia</i> spp.	<i>C. pseudoreticulata</i>
0	5.0 x 10 ^{4a}	5.0 x 10 ^{4a}	5.0 x 10 ^{4a}
100	3.8 x 10 ^{4a}	1.4 x 10 ^{4a}	2.5 x 10 ^{4a}
200	1.3 x 10 ^{4a}	1.5 x 10 ^{4a}	1.3 x 10 ^{4a}
300	1.2 x 10 ^{4a}	2.7 x 10 ^{4a}	2.0 x 10 ^{4a}

Huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0.05)
Values followed by similiar alphabeth in each column and line are not significantly different (P>0.05).

Tabel 2. Populasi bakteri *Vibrio* spp. (CFU/g) pada udang windu setelah 96 jam pengobatan dengan bioaktif spons.

Table 2. Population of *Vibrio* spp. (CFU/g) on tiger prawn after 96-hour treatment with sponges bioactive.

Dosis Dosage (ppm)	Jenis spons (Type of Sponge)		
	<i>Auletta</i> spp.	<i>Calispongia</i> spp.	<i>C. pseudoreticulata</i>
0	6.7 x 10 ^{4a}	6.7 x 10 ^{4a}	6.7 x 10 ^{4a}
100	7.3 x 10 ^{4a}	2.3 x 10 ^{4a}	3.7 x 10 ^{4a}
200	1.0 x 10 ^{4a}	7.0 x 10 ^{4a}	8.7 x 10 ^{4a}
300	6.7 x 10 ^{4a}	6.7 x 10 ^{4a}	4.0 x 10 ^{4a}

Huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0.05)
Values followed by similiar alphabeth in each column and line are not significantly different (P>0.05).

Hasil uji statistik terhadap sintasan udang menunjukkan bahwa penggunaan ketiga jenis spons tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata terhadap sintasan udang ($P>0,05$), tetapi dosis 0, 100, 200 dan 300 ppm untuk ketiga jenis spons memperlihatkan perbedaan yang nyata terhadap sintasan udang ($P<0,05$) di mana dosis 300 ppm memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan dosis 100 dan 0 ppm, tetapi tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan dosis 200 ppm. Sedangkan dosis 200 ppm tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan dosis 100 ppm, tetapi berbeda nyata dengan dosis 0 ppm. Demikian pula dosis 100 ppm tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan dosis 0 ppm (Tabel 3).

Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa dosis yang efektif untuk menekan patogenitas bakteri *Vibrio* sp. pada udang windu untuk ketiga jenis spons adalah 200 dan 300 ppm setara bobot segar. Meskipun pada dosis tersebut tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan dosis yang lainnya terhadap penekanan perkembangan populasi bakteri, tetapi dapat meningkatkan sintasan udang windu, sehingga dosis tersebut efektif untuk menekan patogenitas bakteri *Vibrio* sp. Hasil uji patogenitas dari bakteri yang digunakan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10^4 sudah menyebabkan kematian pada udang, bahkan pada

konsentrasi 10^5 telah terjadi kematian udang sebesar 50%. Hal ini diduga disebabkan karena pada dosis 200 dan 300 ppm asam fenolat yang terkandung di dalam spons mampu mengendalikan sifat patogenitas bakteri *Vibrio* sp., antara lain mengkoagulasi protein, mengiritasi dinding sel, dan mengeluarkan cairan sel sehingga dapat menghilangkan sinyal saling memberi tahu khususnya pada bakteri *Vibrio* sp., akibatnya walaupun jumlah populasi bakteri sama tetapi patogenitasnya berbeda (Brown, 1989; Salle, 1961).

KESIMPULAN DAN SARAN

- Penggunaan ekstrak spons tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap perkembangan populasi bakteri baik dalam media pemeliharaan maupun dalam benur.
- Penggunaan ekstrak spons pada dosis 200 dan 300 ppm dapat meningkatkan sintasan udang windu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Sdri. Nurjanna, Nurbaya dan Indo Lette yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Tabel 3. Sintasan (%) udang windu setelah 96 jam perendaman dalam ekstrak spons.
Table 3. Survival rate (%) of tiger prawn (*P. monodon*) after 96-hour treatment with extract of sponges.

Dosis Dosage (ppm)	Jenis spons (Type of sponge)		
	<i>Auletta</i> spp.	<i>Calispongia</i> spp.	<i>C. pseudoreticulata</i>
0	88,0 ^a	88,0 ^a	88,0 ^a
100	90,0 ^{ab}	97,0 ^{ab}	93,0 ^{ab}
200	97,0 ^{bc}	98,0 ^{bc}	100,0 ^{bc}
300	100,0 ^c	100,0 ^c	100,0 ^c

Nilai yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P>0,05$)
Values followed by similiar alphabeth in each column and line are not significantly different ($P>0,05$).



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, T., E. Suryati, dan Muliani. 1995. Screening sponge for bactericide to be used in shrimp culture. Indonesian Fisheries Research Journal I(1):1-10
- Anderson, I.G., M.N. Shamsuddin, M. Shariff, and G. Nash. 1988. Bacterial septicemia in juvenile tiger prawn, *Penaeus monodon*, cultured in Malaysian brackishwater ponds. Asian Fisheries Science 2:93-108.
- Atmomarsono, M., M.I. Madeali, Muliani dan A. Tompo. 1993. Kasus penyakit udang windu di Kabupaten Pinrang. Dalam Hanafi, A., M. Atmomarsono, dan S. Ismawati. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros 16-19 Juli 1993. Hal 35-40.
- Atmomarsono, M., Muliani, S. Ismawati. 1995. Prospek penggunaan tandon pada budidaya udang windu. Makalah disajikan pada "Ekspose Hasil Penelitian di Instalasi Pengkajian Teknologi Pertanian Wonocolo", Surabaya Tanggal 3-4 Juli 1995. 10 hal.
- Austine, B. 1987a. Bacterial fish pathogens. Disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood Ltd., Chichester, England. 364 p.
- Austine, B. 1987b. Marine microbiology. Cambridge University Press. Cambridge. 222 p.
- Austine, B. 1991. Methods in aquatic bacteriology. John Wiley and Sons. Chichester. New York. Brisbane. Toronto. Singapore. 425 p.
- Austine, B. And D. A. Austine. 1993. Bacterial fish pathogens. Disease in farmed and wild fish. Second edition. New York. London. Toronto. Sydney. Tokyo. Singapore. 384 p.
- Brown, J.H. 1989. Antibiotics, their use and abuse in aquaculture. Aquaculture 20(2): 34-43.
- Cimminiello, P., Ernesto, F, Silvana M., and Alvinso M. 1989. A novel conjugated ketosteroid from the marine sponge *Dyctionella incisa*. J. of Natural Product. 52(6):1331-1333.
- Cowan, S.T. 1974. Cowan and Steel's Manual for the identification of medical bacteria, 2nd edition. Cambridge University Press. Cambridge.
- Crispino, A., Deguillo, S De Rosa and G. Strazullo. 1989. A new bioactive derivation of Avarol from the marine sponge *Dysidea avara*. J. of Natural Product. 52(6):646-648.
- Gunasekara, S.P., S. Cramck and R. Longlei. 1989. Immunosuppressive compounds from a deep water marine spons, *Agelas flabelliformis*. J. of Natural Product 52(4):757-761.
- Karuso, P., R.C. Cambic and B.F. Bowden. 1989. Chemisty of spongs VI Scalarane sesterterpenes from *Hyatella intestinalis*. J. of Natural Product 52(2):289-293.
- Lewis, D. 1974. Predominant aerobic bacteria of fish and shell fish. Texas A and M University, Sea Grant College, Texas.
- Lighnert, D.V., T.A. Bell, R.M. Redman, L.L. Mohley, J.M. Natividad, A. Rukyani, and A. Poernomo. 1992. A review of some major disease of economic significant on penaeid prawns/shrimp of the Americans and Indo-Pacific. In Shariff, I.N., R.P. Subasinghe, and R.J. Arthur (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila. Philippines. p: 57-80.
- Madeali, M.I., M. Atmomarsono, A. Tompo, dan Muliani. 1993. Studi kasus penyebab kematian udang windu, *Penaeus monodon* di tambak intensif. J. Penelitian Budidaya Pantai, Vol.9. No.4. Hal. 23-28.
- Madeali, M.I. 1995. Toleransi bakteri terhadap antibiotik. Laporan hasil penelitian. Balai Penelitian Perikanan Pantai Maros.
- Madaio, A., V. Picciali and D. Sica. 1989. New Polyhydroxysterols from the Dictyoceratid sponges *Hippospongia communis*, *Spongianella gracillis*. J. Natural Product 52(5):952-961.
- Mangampa, M. 1997. Pengaruh ukuran dan kepadatan tiram *Crassostrea iredalei* terhadap perubahan mutu air tambak udang intensif. Laporan hasil penelitian. Balai Penelitian Perikanan Pantai. 12 hal.
- Muliani dan M. Mangampa 1993. Identifikasi parasit pada budidaya udang, *Penaeus monodon*. Dalam Hanafi, A., M. Atmomarsono, dan S. Ismawati. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros 16-19 Juli 1993. Hal. 31-34
- Muliani, M. Atmomarsono, dan M.I. Madeali. 1995. Pengaruh penggunaan kekerangan sebagai biofilter terhadap kelimpahan dan komposisi jenis bakteri pada budidaya udang windu, *Penaeus monodon* dengan sistem resirkulasi air. Laporan hasil penelitian (dalam proses penerbitan). Balai Penelitian Perikanan Pantai. 13 hal
- Muliani, E. Suryati, dan T. Ahmad. 1996. Peluang pemanfaatan bioaktif sponge sebagai bakterisida. Makalah disampaikan pada "Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner di Bogor pada tanggal 12-13 Maret 1996. 9 hal.
- Muliani, E. Suryati, dan T. Ahmad. 1997. Efektivitas penggunaan bioaktif sponge untuk penanggulangan bakteri *Aeromonas* sp. pada ikan bandeng, *Chanoschanos* Forskal. Laporan Hasil Penelitian. Balai Penelitian Perikanan Pantai. 13 hal.

- Nash, G., C. Nithimathackoke, C. Tungmandi, A. Arkarjamorn, P. Prathampipat, and P. Ruamthaveesud. 1992. Vibriosis and its control in pond-reared *Penaeus monodon* in Thailand. In Shariff, I. N., R.P. Subasinghe, and R.J. Arthur (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila. Philippines. p: 143-150.
- Salle, A.J. 1961. Fundamental Principle of Bacteriology. McGraw Hill Book. Company Inc., London. 479 p.
- Suryati, E., Muliani dan T. Ahmad. 1995. Penapisan bioaktif spons untuk bakterisida dalam bidang perikanan. Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Terumbu Karang Jakarta. Hal 164-168.
- Suryati, E., Muliani, Rosmiati, dan T. Ahmad. 1997. Isolasi dan identifikasi bioaktif bunga karang *Callispongia* sp. yang aktif menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan. Prosiding Seminar Nasional Biologi XV. Perhimpunan Biologi Indonesia Cabang Lampung dan Universitas Lampung. Hal 29-33.
- Tompo, A., M. Atmomarsono, M.I. Madeali dan Muliani. 1993. Prevalensi dan intensitas ekto-parasit pada udang windu, *Penaeus monodon* di tambak Sulawesi Selatan. J. Penelitian Budidaya Pantai 9(3):111-118.
- Zafran, D. Roza, dan I. Koesharyani. 1997. Resistensi Isolat *Vibrio* dari beberapa panti benih udang windu (*Penaeus monodon*). Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. III(1): 11-15.