

Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Demospongiae dari Pantai Paciran Lamongan

Antibacterial Activity of Isolates of Bacteria Associated with Demospongiae Sponge from Paciran Beach, Lamongan

Oki W.D. Judianti, M.M. Fiqri, M.K. Ansyori-KM, Guntur Trimulyono*
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya
Jalan Ketintang, Surabaya 60231

ABSTRAK

Spons berpotensi untuk berasosiasi dengan isolat bakteri penghasil senyawa antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antibakteri isolat bakteri yang berasosiasi dengan Demospongiae (*Spongia* sp. dan *Hippospongia* sp.) dari Pantai Paciran Lamongan. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate* kemudian koloni bakteri yang diperoleh dipurifikasi dengan menggunakan metode *streak plate*. Isolat bakteri yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri uji *Escherichia coli* FNCC 0091 dan *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 menggunakan metode *well diffusion assay*. Isolat yang diperoleh berjumlah 38 isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons yang dua di antaranya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* FNCC 0091 dan empat lainnya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* FNCC 0047. Keenam isolat tersebut adalah isolat B413, B48, B47, B410, B52, dan B53. Isolat B48 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *E. coli* FNCC 0091 dengan diameter zona hambat sebesar 37 mm, sedangkan isolat B52 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *S. aureus* FNCC 0047 dengan diameter zona hambat sebesar 31 mm.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, bakteri berasosiasi dengan spons

ABSTRACT

The sponges are potential to associate with bacterial isolates producing antibacterial compounds. This study was conducted to isolate and test the antibacterial activity of bacterial isolates associated with Demospongiae (*Spongia* sp. and *Hippospongia* sp.) from Paciran Beach, Lamongan. Isolation of bacteria was done by using the pour plate method then purified by using the streak plate method. The antibacterial assay were conducted by using *Escherichia coli* FNCC 0091 and *Staphylococcus aureus* 0047 FNCC based on well diffusion assay. There were 38 isolates of bacteria associated with sponges and two of them revealed the antibacterial activity against *E. coli* FNCC 0091, while four other isolates showed antibacterial activity against *S. aureus* FNCC 0047. The isolates were B413, B48, B47, B410, B52, and B53. B48 has the highest antibacterial activity against *E. coli* FNCC 0091 and the inhibition zone diameter was 37 mm, while B52 has the highest antibacterial activity against *S. aureus* FNCC 0047 and the inhibition zone diameter was 31 mm.

Key words: antibacterial activity, bacteria associated with sponges

PENDAHULUAN

Sekitar 85% dari 6000 spesies spons masuk ke dalam kelas Demospongiae, sisanya termasuk kelas Hexactinellida dan Calcarea (Hooper & Soest, 2003). Demospongiae memakan mikroorganisme dan

sejumlah besar bakteri ekstraseluler mengisi matriks mesohyl pada banyak demospongiae (Hentschel *et al.*, 2006), hal tersebut memungkinkan terjadinya proses seleksi mikroorganisme tertentu yang mampu berinteraksi dengan spons (Hardoim, 2009).

* Alamat Korespondensi:
e-mail: gtrimulyono@gmail.com

Ditinjau dari perspektif nutrisi, spons merupakan relung yang cocok untuk mikroba dibandingkan dengan air laut yang miskin nutrisi khususnya di daerah tropis. Amonia yang merupakan produk akhir metabolisme spons dapat digunakan sebagai sumber nitrogen, sedangkan karbohidrat dan asam amino yang tersedia kemungkinan merupakan hasil dari proses fagositosis spons (Hentschel *et al.*, 2006). Spons menjadi fokus yang menarik akhir-akhir ini dikarenakan dua faktor yang utama (dan sering saling terkait), yaitu: spons mampu membentuk asosiasi dengan berbagai mikroba dan spons merupakan sumber yang kaya bioaktif metabolit sekunder (Taylor *et al.*, 2007).

Jenis spons yang memiliki kelimpahan mikroba tinggi disebut *bacteriosponges*. Spons yang memiliki kelimpahan mikroba tinggi dikenal dengan istilah "High-Microbial-Abundance" (HMA) sedangkan spons yang memiliki kelimpahan mikroba rendah disebut "Low-Microbial-Abundance" (LMA) (Hentschel *et al.*, 2006). Penelitian tentang spons yang berasosiasi dengan mikroba semakin banyak dilakukan dan menarik bagi para ilmuwan untuk menelitinya dalam beberapa tahun terakhir ini, terutama spons yang memproduksi beragam senyawa aktif metabolit sekunder (Taylor *et al.*, 2007).

Bioaktivitas senyawa hasil isolasi meliputi antivirus, antitumor, antimikroba atau sifat umum sitotoksik sehingga menarik untuk dikembangkan. Bioaktif metabolit sekunder sangat menjanjikan untuk digunakan dalam bidang bioteknologi dan obat-obatan (Fenical, 1996). Mikroba yang terdapat pada spons sangat beragam dan tujuh filum telah berhasil diisolasi dari spons. Namun dengan menggunakan teknik *cultur-independent* diketahui setidaknya terdapat 16 filum yang ada pada spons (Taylor *et al.*, 2007). Peneliti dalam mengisolasi bakteri yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dari spons banyak memfokuskan pada genus yang dikenal sebagai produsen metabolit sekunder khususnya kelompok Actinobacteria (Hentschel, 2003).

Besarnya potensi yang bisa diperoleh dari mikroba yang berasosiasi dengan spons menuntut usaha untuk menggali lebih jauh manfaat yang bisa diperoleh dari spons tersebut, salah satunya adalah dengan mengisolasi dan menyeleksi kemampuan mikroba yang berasosiasi dengan spons dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antibakteri isolat bakteri yang berasosiasi dengan demospongiae yang diambil dari pesisir pantai Paciran Lamongan.

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel spons dilakukan dengan cara mengoleksi secara bebas spons dari Kelas Demospongiae (*Hippospongia* sp dan *Spongia* sp) yang

ada di wilayah pasang surut pesisir pantai Paciran Lamongan Jawa Timur. Sampel diambil dimasukkan plastik yang steril kemudian dimasukkan ke dalam *ice box* untuk dibawa ke laboratorium.

Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate*. Sebanyak 10 gram sampel dibilas dengan air laut steril kemudian dihaluskan baik sisi ektosom maupun koanosom menggunakan mortar dan alu yang telah disterilkan. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 ml air laut steril. Selanjutnya sampel yang telah dihomogenasi diambil sebanyak satu mililiter kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut steril, selanjutnya pengenceran dilakukan hingga 10^{-7} . Secara aseptis diambil 1 ml sampel dari tiap-tiap pengenceran, kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dibuat duplo. Media SWC (*Sea Water Completed*) agar yang telah dicairkan terlebih dahulu dan suhu media $\pm 45^{\circ}\text{C}$ dituangkan ke setiap cawan petri yang telah berisi sampel kemudian dihomogenkan. Setiap langkah tersebut dilakukan secara aseptis. Inkubasi dilakukan dengan posisi cawan terbalik pada suhu antara $28-30^{\circ}\text{C}$ selama 24-48 jam. Setelah itu dilakukan pengamatan koloni bakteri yang terbentuk. Koloni bakteri yang terbentuk dipurifikasi menggunakan metode *streak plate*.

Pengujian aktivitas antibakteri isolat bakteri yang diperoleh dari isolasi sampel demospongiae dilakukan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dan *Escherichia coli* FNCC 0091. Metode yang digunakan dalam uji ini adalah metode difusi sumuran (*well diffusion assay*). Sebanyak 10^7 /ml bakteri uji umur 24 jam (Kennedy *et al.*, 2009) masing-masing di-*pour plate* menggunakan media NA sebanyak 20 ml pada cawan Petri kemudian dihomogenkan dan setelah agar memadat dibuat sumuran dengan diameter 0,5 cm menggunakan *corkborer*. Kultur isolat bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi sebelumnya ditumbuhkan dalam media SWC cair dan diinkubasi selama 24 jam. Sebanyak 50 μL isolat konsentrasi 10^6 /ml dimasukkan dalam masing-masing sumuran yang sudah dibuat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu $28-30^{\circ}\text{C}$ dan diamati terbentuknya zona hambat (*inhibition zone*) yang terbentuk serta diukur panjang diameternya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini berhasil memperoleh sebanyak 38 isolat bakteri yang berasosiasi dengan demospongia yang diambil dari pesisir pantai Paciran Lamongan. Dari 38 isolat yang diperoleh, 20 isolat berasal dari sampel *Hippospongia* sp. dan 18 isolat dari sampel *Spongia* sp.. Isolat hasil isolasi bakteri dari spons *Spongia* sp. dan *Hippospongia* sp. dikarakterisasi berdasarkan tipe koloninya (Tabel 1).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa spons merupakan inang bagi mikroba (Kennedy *et al.*, 2009), yang memiliki peran yang beragam. Mikroba dapat sebagai sumber makanan bagi spons dan spons merupakan tempat berlindung bagi mikroba dari predator, sebagai substrat untuk kolonisasi, akses ke sinar matahari untuk fotosintesis mikroba, dan pasokan nutrisi (Taylor *et al.*, 2007). Mikroba yang memproduksi metabolit bioaktif diyakini memiliki hubungan simbiosis mutualistik dengan spons, mikroba menghasilkan metabolit yang dapat melindungi spons dari mikroba penyebab penyakit (Kennedy *et al.*, 2009).

Beberapa spons dilaporkan memiliki mikroorganisme dalam jumlah yang besar di dalam jaringannya (Hentschel, 2003). Pada *Aplysina aerophoba* mikroorganisme dapat berkontribusi hingga 40% dari biomassa dan melebihi konsentrasi bakteri air laut hingga 2-3 kali lipatnya (Hentschel *et al.*, 2001). Penelitian yang dilakukan oleh Kennedy *et al.* (2009), telah berhasil mengisolasi bakteri anggota dari empat filum yang berbeda dari sampel spons *Haliclona simulans*, keempat filum tersebut adalah Bacterioidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, dan Firmicutes. Hentschel *et al.* (2001) juga telah berhasil mengisolasi 27 isolat yang memiliki aktivitas antimikroba dari spons *Aplysina aerophoba* dan *Aplysina cavercola*. Penelitian yang dilakukan oleh Santos *et al.* (2010), telah berhasil mengisolasi 158 koloni bakteri dari 9 spesies spons di Brasil yang 12 di antaranya memiliki aktivitas antimikroba.

Isolat yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri uji *S. aureus* FNCC 0047 dan *E. coli* FNCC 0091. Setelah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap 38 isolat bakteri yang berasosiasi dengan demospongiae menunjukkan hasil bahwa enam isolat di antaranya memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Keenam isolat tersebut adalah isolat B47, B48, B52, B53, B410, dan B413. Empat isolat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *S. aureus*, sedangkan dua isolat lainnya menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *E. coli* (Tabel 2).

Keenam isolat yang berasosiasi dengan spons dan berpotensi dalam menghasilkan senyawa antibakteri dikarakterisasi seperti data yang tersaji pada Tabel 3.

Isolat B48 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *E. coli* FNCC 0091 dengan diameter zona hambat sebesar 37 mm, namun demikian isolat B48 tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* FNCC 0047. Isolat B48 dan B413 hanya mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* FNCC 0091 (Gram negatif) namun tidak mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* FNCC 0047 (Gram positif) (Tabel 2). Hasil

Tabel 1. Karakter morfologi koloni isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons

Kode Koloni	Karakter Morfologi		
	Form	Elevation	Margin
A41	circular	raised	entire
A42	circular	flat	entire
A43	irregular	flat	entire
A44	circular	flat	entire
A45	irregular	flat	entire
A51	punctiform	flat	entire
A52	irregular	flat	lobate
A53	irregular	flat	undulate
A61	circular	flat	entire
A62	circular	flat	entire
B41	circular	convex	erose
B42	circular	convex	entire
B43	irregular	raised	lobate
B44	circular	convex	undulate
B45	irregular	convex	undulate
B46	spindle	flat	entire
B47	rhizoid	flat	entire
B48	irregular	raised	entire
B49	circular	flat	entire
B410	irregular	flat	erose
B411	circular	flat	entire
B412	circular	raised	entire
B413	punctiform	raised	entire
B414	circular	flat	entire
B51	irregular	flat	undulate
B52	circular	raised	undulate
B53	irregular	flat	entire
B61	punctiform	flat	undulate
C41	irregular	raised	curled
C42	irregular	raised	lobate
C43	circular	flat	undulate
C44	circular	flat	entire
C45	circular	flat	entire
C46	irregular	flat	entire
C51	spindle	raised	entire
C52	irregular	raised	undulate
C53	circular	raised	entire
C61	circular	flat	entire

Keterangan: kode isolat A dan C merupakan isolat yang diisolasi dari sampel *Hippospongia* sp.; kode isolat B merupakan isolat yang diisolasi dari sampel *Spongia* sp.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons

No	Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)	
		<i>S. aureus</i> FNCC 0047	<i>E. coli</i> FNCC 0091
1	B47	19	-
2	B48	-	37
3	B52	31	-
4	B53	22	-
5	B410	14	-
6	B413	-	23

Tabel 3. Karakter isolat bakteri asosiasi yang memiliki aktivitas antibakteri.

No	Karakter	B413	B48	B47	B410	B52	B53
1	Gram	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	Positif	Negatif
2	Katalase	-	-	-	-	-	-
3	Bentuk sel	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Monococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Coccobacillus</i>	<i>Staphylococcus</i>
4	Warna koloni	Putih keuningan	Putih	Putih keuningan	Putih keuningan	Putih keuningan	Putih
5	Bentuk koloni	<i>Punctiform</i>	<i>Irregular</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Irregular</i>	<i>Circular</i>	<i>Irregular</i>
6	Elevasi koloni	<i>Raised</i>	<i>Raised</i>	<i>Flat</i>	<i>Flat</i>	<i>Raised</i>	<i>Flat</i>
7	Tepian koloni	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Undulate</i>	<i>Entire</i>

yang sama juga ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Hentschel, *et al.* (2001) yang telah berhasil mengisolasi beberapa bakteri dari sampel spons *Aplysina aerophoba* dan *Aplysina cavercola*, empat isolat di antaranya mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Penelitian yang dilakukan oleh Abubakar dkk. (2011), juga telah berhasil mengisolasi 32 isolat yang berasal dari bagian mesohyl dan 20 isolat yang berasal dari bagian permukaan *Jaspis* sp. yang menunjukkan kemampuan antimikrob karena mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *Vibrio harveyi*, *E. coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, EPEC K-11, *Candida albicans*, dan *C. tropicalis*. Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Anand *et al.* (2006), yang telah berhasil mengisolasi 75 isolat dari empat sampel spons di Pulau Hare, pantai di bagian tenggara India. Enam isolat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *E. coli*. Penelitian yang dilakukan oleh Radjasa dkk. (2007), berhasil mengisolasi 2 isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* strain MDR (*Multi-Drugs Resistant*) dan dideteksi memiliki gen *Non-ribosomal Peptide Synthetase* (NRPS).

Isolat B47, 52, B53, dan B410 juga hanya mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* FNCC 0047 namun tidak mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* FNCC 0091. Isolat B52 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* FNCC 0047 (Tabel 2). Hentschel *et al.* (2001), juga telah berhasil mengisolasi bakteri yang berasosiasi dengan *Aplysina aerophoba* dan *Aplysina cavercola* yang mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Isolat tersebut merupakan anggota genus *Bacillus* (SB8 dan SB17), *Enterococcus* (SB91), *Arthrobacter* (SB95), *Unidentified low G+C Gram positive* (SB122 dan SB144), *a proteobacteria* (SB6, SB55, SB65, dan SB156).

Kemampuan isolat bakteri dalam menghambat salah satu bakteri uji diduga dikarenakan aktivitas antibakteri keenam isolat tersebut memiliki aktivitas antibakteri berspektrum sempit yang hanya mampu

menghambat salah satu kelompok bakteri yaitu Gram positif atau Gram negatif saja. Perbedaan respons bakteri terhadap senyawa antibakteri dapat dikarenakan perbedaan struktur dinding sel pada bakteri. Bakteri Gram positif seperti *S. aureus* memiliki struktur dinding sel yang tebal sekitar 15–80 nm dan berlapis tunggal. Dinding sel pada bakteri Gram positif memiliki kandungan lipid yang rendah, mengandung asam tekoat, dan 90% berat dinding sel merupakan peptidoglikan. Struktur dinding sel pada bakteri Gram negatif mempunyai struktur tipis (10-15 nm) dan berlapis tiga yang memiliki kandungan lipid yang tinggi, tidak mengandung tekoat, peptidoglikan jumlahnya hanya 10% dari berat dinding sel (Madigan *et al.*, 2012).

Penghambatan pertumbuhan bakteri uji *E. coli* FNCC 0091 dan *S. aureus* FNCC 0047 dikarenakan sifat antagonistik dan pengaruh senyawa metabolit yang dihasilkan oleh isolat bakteri yang diisolasi dari spons. Menurut Abubakar dkk. (2011), isolat bakteri yang berasal dari permukaan spons dan memiliki aktivitas antibakteri merupakan sekelompok bakteri yang memiliki kemampuan untuk melindungi spons dari patogen, predator dan *biofuler*. Bakteri simbiosis pada spons berpotensi dalam menghasilkan senyawa antibakteri, antifungi dan antitumor. Mikroorganisme laut yang dapat menghasilkan senyawa antibakteri sangat menarik untuk dikembangkan di industri obat-obatan, sebagai contoh adalah *Streptomyces tenjimariensis* SS-939 yang dapat menghasilkan senyawa antibakteri istamycins yang mampu menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif (Blunden, 2001). Radjasa dkk. (2007), berhasil mengisolasi bakteri dari laut Bandengan, Jepara yang diidentifikasi memiliki kedekatan dengan α -proteobacterium Z143-1 (98%) yang memiliki kemampuan menghasilkan heptylprodigiosin yang dapat menghambat *S. aureus*. Keanekaragaman organisme laut beserta habitatnya menghasilkan produk alami yang mencakup berbagai kelompok seperti terpena, poliketida, acetogenin, peptida, dan alkaloid (Wright, 1998 *cit* Anand *et al.*, 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Abubakar dkk. (2011), telah berhasil mengisolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. yang lima di antaranya memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan minimal lima bakteri uji yang digunakan, yaitu *S. aureus*, *Vibrio harveyi*, *E. coli*, (*Enteropathogenic Escherichia coli* K 11(EPEC), *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albican*, *Candida tropicalis*. Zhen (2013), melakukan isolasi bakteri dari spons *Tedonta anhelans* yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif dan menunjukkan aktivitas antimikrob terhadap bakteri uji Gram positif, bakteri Gram negatif, fungi, indikator antitumor *E. coli* 343/591, dan *E. coli* 343/636. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa 10 isolat bakteri dari 25 isolat bakteri yang diperoleh menunjukkan aktivitas antimikrob.

Kennedy *et al.* (2009), telah berhasil mengisolasi bakteri dari sampel spons *Haliclona simulans* yang kemudian diuji kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antimikrob dalam menghambat bakteri uji Gram positif dan Gram negatif. Hasil uji menunjukkan 50% dari isolat yang diperoleh menunjukkan aktivitas antimikrob setidaknya terhadap satu bakteri uji. Pengujian selanjutnya dilakukan terhadap bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile*, *multi-drug-resistant Staphylococcus aureus*, dan strain yeast patogen. Berdasarkan penelitian tersebut, isolat yang termasuk anggota *Actinomycetes* merupakan isolat paling banyak menghasilkan senyawa antimikrob di samping juga golongan bakteri *bacilli* dan *pseudovibrio*.

Karakterisasi isolat bakteri yang berasosiasi dengan Demospongiae yang dapat menghambat bakteri uji *E. coli* FNCC 0091 dan *S. aureus* FNCC 0047 dilakukan terhadap karakter koloni dan sel bakteri. Karakterisasi koloni meliputi warna koloni, bentuk koloni, elevasi koloni, dan tepian koloni (Tabel 1). Berdasarkan hasil karakterisasi sel isolat bakteri, 2 isolat bakteri merupakan bakteri Gram positif sedangkan 4 yang lain merupakan bakteri Gram negatif. Hasil uji katalase menunjukkan bahwa 1 isolat bakteri dapat menghasilkan katalase sedangkan 5 isolat lainnya tidak dapat menghasilkan enzim katalase (Tabel 3).

SIMPULAN

Demospongiae merupakan sumber untuk mendapatkan isolat bakteri yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif. Penelitian ini telah berhasil mengisolasi 38 isolat bakteri yang enam di antaranya memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri uji *S. aureus* FNCC 0047 dan *E. coli* FNCC 0091.

Isolat B48 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *E. coli* FNCC 0091, sedangkan isolat B52 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* FNCC 0047. Isolat yang dapat menghambat bakteri uji prospektif untuk diteliti lebih lanjut dalam upaya mencari sumber senyawa bioaktif yang bersumber dari laut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar H, Wahyudi AT & Yuhana M, 2011. Skrining bakteri berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. sebagai penghasil senyawa antimikrob. *Ilmu Kelautan*. 16(1): 35-40.
- Anand TP, Bhat AW, Shouche YS, Roy U, Siddharth J & Sarma SP, 2006. Antimicrobial activity of marine bacteria associated with sponges from the waters off the coast of south east India. *Microbiological Research*, 161: 252-262.
- Blunden G, 2001. Biologically active compounds from marine organisms. *Phytother. Res.* 15: 89-94. DOI: 10.1002/ptr.982.
- Fenical W, 1996. Marine biodiversity and the medicine cabinet. The status of new drugs from marine organisms. *Oceanography* 9: 23-27.
- Hardoim CCP, Costa R, Araujo FV, Hajdu E, Peixoto R, Lins U, Rosado AS & van Elsas JD, 2009. Diversity of bacteria in the marine sponge *Aplysina fulva* in Brazilian. *Applied And Environmental Microbiology*, 75(10): 3331-3343.
- Hentschel U, 2003. Microbial diversity of marine sponges. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, 68: 365-372.
- Hentschel U, Schmid M, Wagner M, Fieseler L, Gernert C & Hacker J, 2001. Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean Sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola*. *FEMS Microbiology Ecology* 35: 305-312.
- Hentschel U, Usher KM & Taylor MW, 2006. Minireview: marine sponges as microbial fermenters. *FEMS Microbiol Ecol*, 55: 167-177.
- Hooper JNA & Soest RWMV, 2003. Systema porifera a guide to the classification of sponges. The End of A Beginning. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, 68: 19-38.
- Kennedy J, Baker P, Piper C, Cotter PD, Waish M, Mooij MJ, Bourke MB, Rea MC, O'Connor PM, Ross RP, Hill C, O'Gara F, Marchesi JR & Dobson ADW, 2009. Isolation and analysis of bacteria with antimicrobial activities from the marine sponge *Haliclona simulans* collected from Irish Waters. *Mar Biotechnol*, 11: 384-396. DOI 10.1007/s10126-008-9154-1.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA & Clark DP, 2012. *Brock Biology of Microorganisms 13th Ed.*
- Radjasa OK, Kencana DS, Sabdono A, Anthony R & Lestari ES, 2007. Antibacterial activity of marine bacteria associated with sponge *Aaptos* sp. against multi drugs resistant (MDR) Strains. *Jurnal Matematika dan Sains*. 12(4): 147-152.
- Santos OCS, Pontes PVML, Santos JFM, Muricy G, de Marval MG & Laport MS, 2010. Isolation, characterization and phylogeny of sponge-associated bacteria with antimicrobial activities from Brazil. *Research in Microbiology* 161(7): 604-612. Elsevier.
- Taylor MW, Radax R, Steger D & Wagner M. 2007. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(2): 295-347.
- Zhen Z, Jing Z, Caihuan KE & Dexiang W, 2013. Antimicrobial activities of novel cultivable bacteria isolated from marine sponge *Tedania anhelans*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 31(3): 581-590.