

# Uji Ekstrak Air, Etanol dan Metanol *Caulerpa lentillifera* Terhadap Bakteri *Vibrio* sp. (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi* dan *Vibrio alginolyticus*)

## The Potential Antibacteria Activity of Variety Extract of *Caulerpa lentillifera* (ethanol, methanol, water extract) Against *Vibrio* sp. (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi* and *Vibrio alginolyticus*)

Asus Maizar Suryanto Hertika<sup>a\*</sup>, Febriyani Eka Supriatin<sup>a</sup>, Renanda Baghaz DS Putra<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jalan Veteran, Malang, Indonesia

<sup>b</sup> Akuakultur PSDKU UB Kediri, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jalan Veteran, Malang, Indonesia

\*Koresponden penulis: asusmaizar@ub.ac.id

### Abstrak

Masalah yang sering muncul dalam kultivasi vanamei adalah serangan penyakit. Salah satu penyakit semangka yang sering menyebabkan kegagalan tanaman untuk kematian massal adalah *Vibriosis*. *Vibriosis* adalah infeksi pada kerang yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, dan *Vibrio parahaemolyticus*). *Caulerpa* ini diketahui memiliki aktivitas biologis, seperti anti-hipertensi, antioksidan, anti-kanker, dan aktivitas anti-mikroba. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antibakteri masing-masing ekstrak dari *Caulerpa lentillifera*. Metode penelitian adalah eksperimental, desain yang digunakan adalah RAL dengan Antibakteri Aktivitas Tes, yang mencakup Uji ekstrak air, etanol dan methanol terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*. Bakteri dalam penelitian ini adalah bakteri *Vibriosis*. (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*). Tes ini dilakukan untuk menentukan apakah pelarut telah mempengaruhi pembentukan diameter zona penghalang. Pada piring (media) untuk divaksinasi dengan bakteri uji. Sebuah kertas disk steril 8 mm ditempatkan di atas medium untuk kemudian disegel dengan ekstrak kasar 10 µl dengan konsentrasi ekstrak 25; 50; 100; 200 mg / disk. Petri cangkir dikemas dalam kemasan plastik dan disimpan di inkubator pada suhu 37°C selama 1-3 hari dan diulang 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat rata-rata tertinggi ditemukan dalam perlakuan dengan ekstrak Air, Etanol dan Metanol dari *Caulerpa* pada dosis 100 mg/L sedangkan hasil zona hambat terendah ditemukan pada perlakuan ekstrak Air, Etanol dan Metanol *Caulerpa* 12,5 mg / L.

**Kata kunci:** *Caulerpa Lentillifera*, Metanol Ekstrak, Water Ekstrak, Etanol Ekstrak, Uji Antibakteri

### Abstract

The frequent issue encountered in the cultivation of vanamei is the occurrence of disease outbreaks. *Vibriosis* is one of the diseases that often leads to mass death in watermelon plants. *Vibriosis* is an infection in shellfish caused by the *Vibrio* bacteria. The three species are *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, and *Vibrio parahaemolyticus*. *Caulerpa* is known to possess biological activities, such as antihypertensive, antioxidant, anticancer, and antimicrobial activities. The research method employed was experimental, utilising a Randomised Complete Block Design (RCBD) with Antibacterial Activity Test. This test encompassed the examination of water, ethanol, and methanol extracts against *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, and *Vibrio parahaemolyticus* bacteria. The bacteria used in this study are *Vibriosis* bacteria. The three species are *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, and *Vibrio parahaemolyticus*. This test is conducted to determine whether the solvent has influenced the formation of the barrier zone diameter. On the plate (medium) for inoculation with test bacteria. A sterile 8 mm disc paper is placed on the medium and then sealed with a crude extract of 10 µl with extract concentrations of 25, 50, 100, and 200 mg/disk. The petri dishes are packaged in plastic packaging and stored in an incubator at a temperature of 37°C for 1-3 days, and this process is repeated 3 times. The research findings indicate that the highest average inhibitory zone diameter was found in the treatment with extracts of Water, Ethanol, and Methanol from *Caulerpa* at a dosage of 100 mg/L, while the lowest inhibitory zone diameter was found in the treatment with extracts of Water, Ethanol, and Methanol from *Caulerpa* at a dosage of 12.5 mg/L.

**Keywords:** *Caulerpa lentillifera*, Extract Methanol, Extract Water, Extract Ethanol, Antibacteri Test

## PENDAHULUAN

Penyakit patogen *Litopenaeus vannamei* telah menjadi salah satu tantangan signifikan untuk budidaya Udang Vannamei. Infeksi bakteri adalah penyebab utama kematian udang vannamei [1,2,3]. *Vibriosis* adalah infeksi pada udang penaeid yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*). Semua bakteri ini dapat menyebabkan kematian yang signifikan di aktivitas budidaya baik pada tahap larva udang maupun pembesaran udang [4, 5, 6]. Selanjutnya, *Vibrio parahaemolyticus* adalah salah satu patogen yang paling ganas dan umum [7,8]. Pada udang, *Vibrio parahaemolyticus* merupakan agen penyebab utama penyakit nekrosis hepatopankreas akut (AHPND), atau sindrom kematian dini (EMS) [9]. Wabah AHPND pertama kali dilaporkan di Cina pada tahun 2009, kemudian menyebar ke Malaysia pada tahun 2010, ke Vietnam pada tahun 2011, ke Thailand pada tahun 2012, dan Meksiko pada tahun 2013 [10]. Kematian dari AHPND terjadi dalam 20–30 hari setelah penebaran di kolam budidaya yang mengakibatkan kematian total 40–100% [11,12]. Kerugian ekonomi kumulatif diperkirakan mencapai \$23,6 miliar dari infestasi AHPND dan penyakit udang lainnya di seluruh dunia. Selanjutnya, wabah ini telah mengakibatkan kerugian sebesar \$7 miliar dalam penjualan pakan [13].

*Caulerpa lentillifera* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena senyawa fenoliknya yang dihasilkan dari ekstrak methanol dan ethanol [15]. Telah dilaporkan bahwa *Caulerpa lentillifera* ini menunjukkan beberapa sifat farmakologis, seperti imunomodulator, antimikroba, antidiabetes, antijamur dan antikanker [16,17,18,19]. Beberapa aktivitas antimikroba dari *Caulerpa lentillifera* ditunjukkan senyawa bioaktif juga telah diisolasi dari rumput laut (*green alga*) ini, seperti clionasterol, 1,4 -glucan dan 1,3- $\beta$ -glucan [9]. Selanjutnya *Caulerpa lentillifera* mampu meningkatkan pertumbuhan udang [20,21] melalui penambahan ekstrak methanol pada pakan.

Hipotesis pada penelitian ini yakni masing-masing ekstrak memiliki perbedaan antibakteri spesifik terhadap masing-masing bakteri *Vibrio* sp. Sehingga pada penelitian ini

bertujuan mengamati pengaruh aktivitas antibakteri spesifik dari ekstrak air, etanol dan methanol terhadap penyakit patogen *Vibriosis* pada udang yang terdiri dari *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*.

## METODE

### Ekstraksi *Caulerpa lentillifera*

Rumput laut *Caulerpa lentillifera* berat basah **sebanyak 3 kg** dikeringkan dengan oven dengan suhu 50°C dan dihaluskan hingga menjadi serbuk dan disaring dengan ukuran >80 mesh size. Serbuk *Caulerpa lentillifera* direndam selama 4 hari dengan pelarut metanol dan pelarut etanol, kemudian disaring dan ekstrak didapat menggunakan rotary evaporator. Selanjutnya, residue dari pelarut etanol diekstraksi kembali dengan menggunakan air selama 3 × 6 jam, pada suhu 80°C, dilanjutkan dengan penambahan etanol dengan perbandingan 1:2 untuk menghasilkan water ekstrak.

### Analisis Antimikrobal *Caulerpa lentillifera*

Uji Aktivitas Antibakteri meliputi uji kontrol positif, negatif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut. Uji kontrol positif dilakukan dengan menggunakan antibiotik Ampicilin. Uji kontrol negatif dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanol *Caulerpa lentillifera* terhadap bakteri uji. Bakteri Uji dalam dalam studi ini yakni bakteri *Vibriosis* yakni (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*). Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut dalam pembentukan diameter zona hambatan. Metode yang digunakan pada uji ini adalah metode difusi agar menurut Kirby-Bauer [22]. Pada lempengan (media) agar diinokulasi dengan bakteri uji. Paper disk steril berukuran 8 mm diletakkan diatas media agar kemudian ditetesi dengan ekstrak kasar sebanyak 10  $\mu$ l dengan konsentrasi ekstrak 25; 50; 100; 200 mg/disk. Cawan petri dibungkus menggunakan plasticwrap dan disimpan di dalam inkubator pada suhu 37 0 C selama 1-3 hari dan diulangi 3 kali. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikrobal terlihat sebagai wilayah jernih sekitar kertas cakram. Luasnya wilayah jernih merupakan petunjuk kepekaan

mikroorganisme terhadap bahan atau senyawa antimikrobal. Besarnya zona hambatan adalah diameter zona hambatan dikurangi 8 mm (diameter paper disk). Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali [22,23]

#### Analisis Data

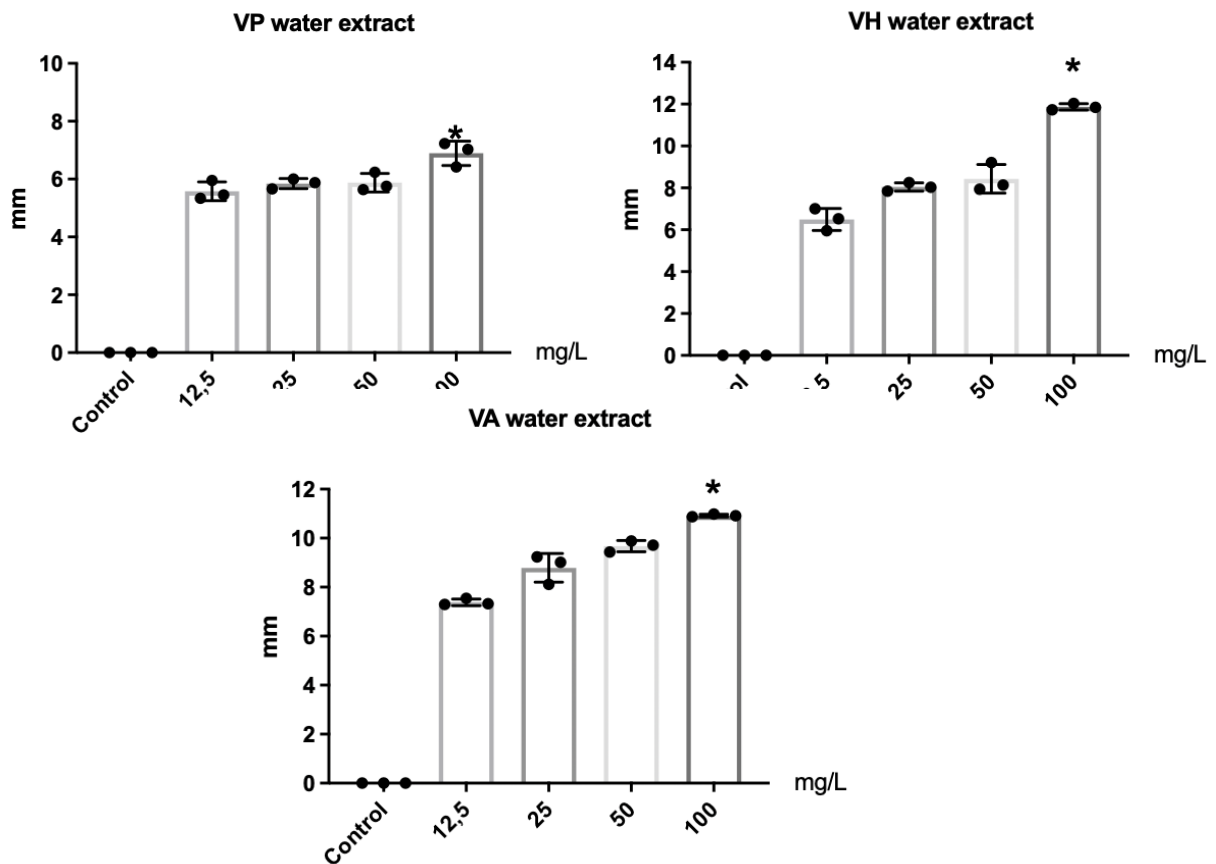
Data dinyatakan sebagai mean  $\pm$  SD. Signifikansi statistik perbedaan berpasangan antara tiga atau lebih kelompok ditentukan dengan menggunakan analisis varians satu arah (ANOVA) diikuti dengan uji LSD.  $P < 0,05$

dianggap signifikan secara statistik. Analisis dilakukan dengan menggunakan SPSS for Windows (SPSS Inc., Versi 20.0, Chicago, USA). Grafik dilakukan menggunakan GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc. USA).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Uji Ekstrak Air *Caulerpa lentillifera* terhadap Bakteri *Vibrio* sp.

Hasil Uji ekstrak air *Caulerpa lentillifera* terhadap tiga jenis bakteri *Vibrio* sebagai berikut.



**Gambar 1.** Uji ekstrak air dari *Caulerpa lentillifera* terhadap Bakteri *Vibrio* sp. Ket. VP: *Vibrio parahaemolyticus*; VH: *Vibrio harveyi*; VA: *Vibrio alginolyticus*

Berdasarkan Gambar 1, hasil uji ekstrak air dari *Caulerpa* memiliki aktivitas antibakteri pada masing-masing jenis bakteri *Vibrio* yakni VP: *Vibrio parahaemolyticus*; VH: *Vibrio harveyi*; VA: *Vibrio alginolyticus*. Keseluruhan nilai tertinggi hasil uji ekstrak air ini secara signifikan didapatkan pada dosis 100 mg/ml

pada masing-masing uji jenis bakteri *Vibrio*. Hasil uji tertinggi didapatkan pada hasil uji terhadap bakteri *Vibrio* VH: *Vibrio harveyi*, sedangkan terendah didapatkan pada Dosis 12,5 mg/ml pada masing-masing uji jenis bakteri *Vibrio*.

*Vibrio* sp. adalah bakteri gram negatif yang bentuknya seperti batang melengkung dan Bersifat anaerob fakultatif di air asin. Anggota tubuh bakteri ini bergerak dengan flagel di ujung sel dan terdapat selubung. Spesies-spesies bakteri *Vibrio* sp. bersifat patogen dan salah satu akibat dari bakteri ini adalah gastroenteritis [24]. Penyakit *Vibriosis* pada ikan kakap [25], udang vaname [26] dan rumput laut [27] sering disebabkan disebabkan oleh bakteri *Vibrio*, yang sudah diidentifikasi jenis-jenisnya yaitu *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, dan *V. parahaemolyticus* [28]. Penyakit tersebut dapat dideteksi dengan mengisolasi bakteri dan menanamnya pada media agar selektif *Vibrio*, yaitu TCBS agar. Pada media ini koloni bakteri yang tumbuh tampak berwarna kuning dan hijau [29]. Hasil Uji ekstrak air *Caulerpa lentillifera* terhadap tiga jenis bakteri *Vibrio* sebagai berikut.

Surjowardojo et al. (2015) [30] menyatakan bahwa, jika diameter zona hambat 5 mm atau kurang, maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah. Diameter zona hambat sebesar 6-10 mm maka dikategorikan sedang, diameter zona hambat sebesar 11-20 mm maka dikategorikan kuat, dan jika diameter zona hambat lebih dari 20 mm maka daya hambat dikategorikan sangat kuat. Dengan demikian maka, ekstrak air *Caulerpa lentillifera* memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp., tetapi daya antibakterinya tidak bisa disetarakan dengan antibiotik Rifampisin. Hal ini diduga disebabkan karena Rifampisin merupakan salah satu antimikroba yang berspektrum luas. Dey and Chatterji (2012) [31] menyatakan bahwa, rifampisin bersifat bakterisidal dan memiliki spektrum luas aktivitas antibakteri.

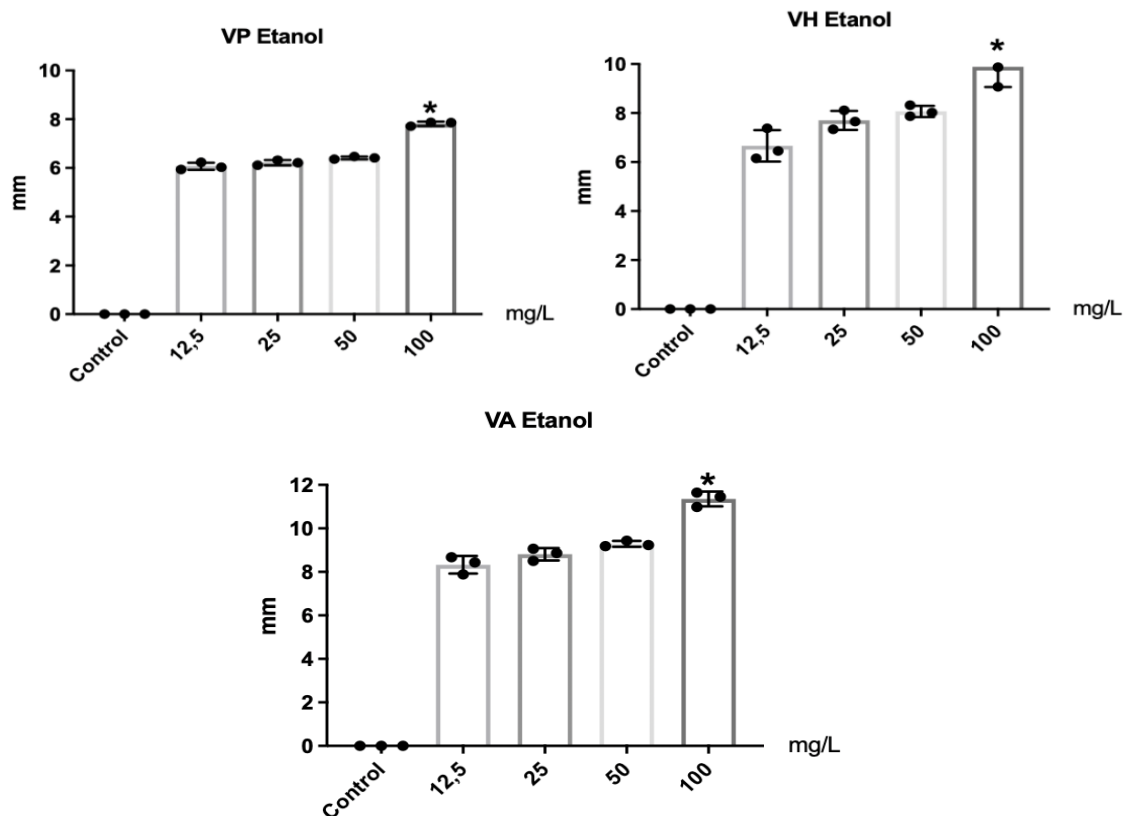
#### **Uji Ekstrak Etanol *Caulerpa lentillifera* terhadap Bakteri *Vibrio* sp**

Bakteri yang diduga menjadi penyebab penyakit pada budidaya perikanan diantaranya *Vibrio* sp. [32]. *Vibrio* sp. merupakan bakteri yang sering menyerang larva udang dan ikan. Menurut Riniatsih

(2009) [33], langkah yang dilakukan untuk mencegah infeksi bakteri adalah pemberian pakan yang dicampur antibiotik, namun cara tersebut akan berdampak kontraproduktif karena menimbulkan residu antibiotik dalam jaringan. Cara lain yang dapat dilakukan untuk mengurangi dampak tersebut dengan menggunakan ekstrak rumput laut *Caulerpa lentillifera* sebagai bahan antibakteri alami pengganti antibiotik. Hasil Uji Etanol *Caulerpa lentillifera* terhadap tiga jenis bakteri *Vibrio* sebagai berikut.

Berdasarkan Gambar 2, hasil uji ekstrak etanol dari *Caulerpa* memiliki aktivitas antibakteri pada masing-masing jenis bakteri *Vibrio* yakni VP: *Vibrio parahaemolyticus*; VH: *Vibrio harveyi*; VA: *Vibrio alginolyticus*. Keseluruhan nilai tertinggi hasil uji ekstrak etanol ini secara signifikan didapatkan pada dosis 100 mg/ml pada masing-masing uji jenis bakteri *Vibrio*. Hasil uji tertinggi didapatkan pada hasil uji terhadap bakteri *Vibrio* VA: *Vibrio alginolyticus* dengan sebesar 11,64 mm, sedangkan terendah didapatkan pada Dosis 12,5 mg/ml pada masing-masing uji jenis bakteri *Vibrio*.

Rinawati (2014) [34], menyatakan aktivitas antibakteri dengan diameter 20 mm atau lebih dikategorikan kuat, diameter 11 –20 mm dikategorikan sedang, diameter  $\leq 10$  mm dikategorikan lemah. Berdasarkan pernyataan tersebut, zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol *Caulerpa lentillifera* termasuk kategori zona hambat sedang. Konsentrasi ekstrak etanol *Caulerpa lentillifera* mempengaruhi hambatan pertumbuhan *Vibrio*, hal tersebut ditunjukkan dari konsentrasi ekstrak etanol *Caulerpa lentillifera* yang semakin tinggi menunjukkan zona hambat yang semakin besar. Kemampuan ekstrak etanol *Caulerpa lentillifera* dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* tersebut dikarenakan adanya senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid. Senyawa-senyawa tersebut diidentifikasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri [35].



**Gambar 2.** Uji ekstrak etanol dari *Caulerpa lentillifera* terhadap Bakteri *Vibrio* sp. Ket. VP: *Vibrio parahaemolyticus*; VH: *Vibrio harveyi*; VA: *Vibrio alginolyticus*

### Uji Ekstrak Metanol *Caulerpa lentillifera* terhadap Bakteri *Vibrio* sp

Hasil Uji Metanol *Caulerpa lentillifera* terhadap tiga jenis bakteri *Vibrio* sebagai berikut

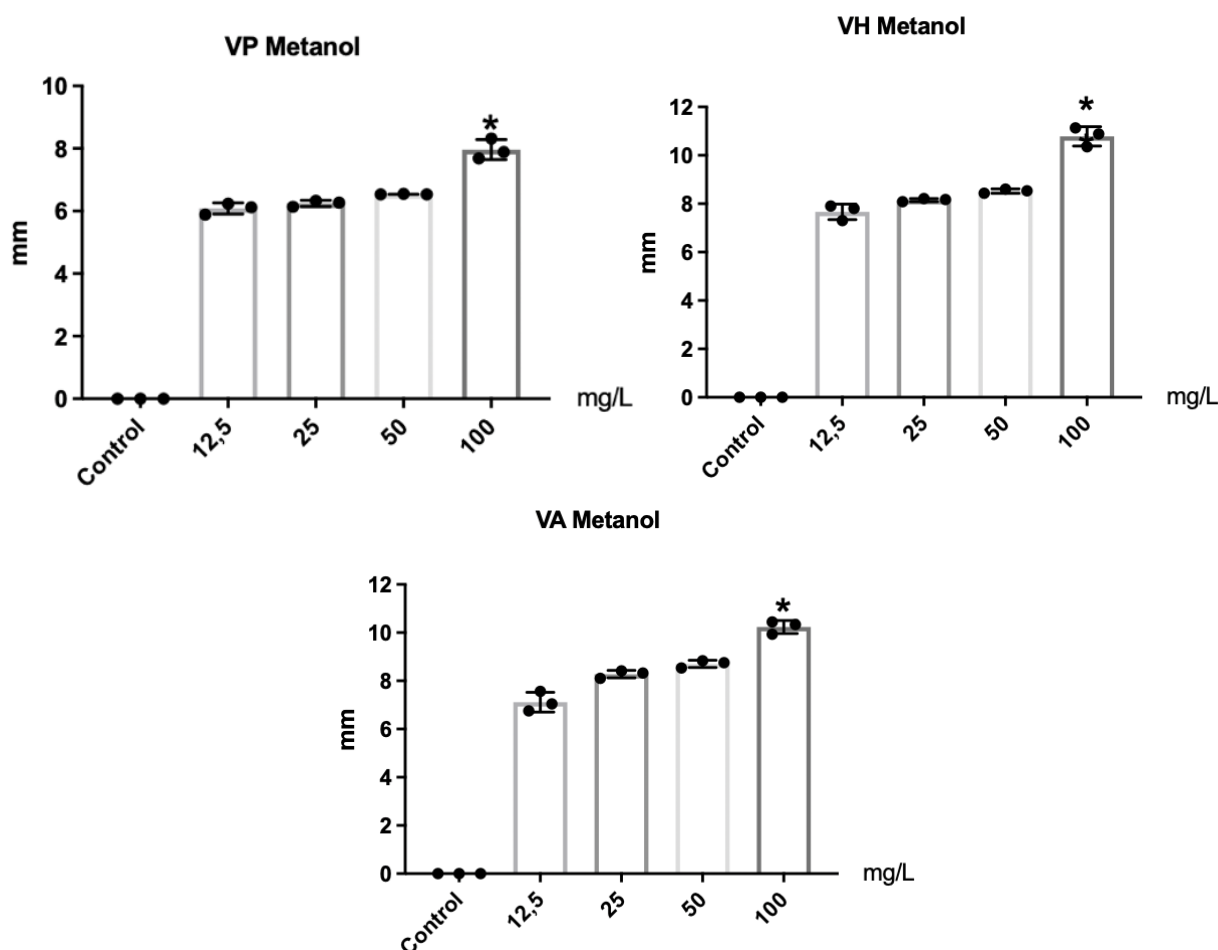
Pada Gambar 3 menunjukkan bahwasanya hasil uji ekstrak metanol dari *Caulerpa* memiliki aktivitas antibakteri pada masing-masing jenis bakteri *Vibrio* yakni VP: *Vibrio parahaemolyticus*; VH: *Vibrio harveyi*; VA: *Vibrio alginolyticus*. Keseluruhan nilai tertinggi hasil uji ekstrak metanol ini secara signifikan didapatkan pada dosis 100 mg/ml pada masing-masing uji jenis bakteri *Vibrio*. Hasil uji tertinggi didapatkan pada hasil uji terhadap bakteri *Vibrio* VA: *Vibrio alginolyticus* dengan sebesar 11,13 mm, sedangkan terendah didapatkan pada Dosis 12,5 mg/ml pada masing-masing uji jenis *Vibrio*.

Bakteri *Vibrio* sp. merupakan patogen yang sangat penting penyebab kegagalan pertambakan udang dan penyebarannya hampir di seluruh dunia [36]. Dalam budidaya

udang putih, penyakit yang sering disebabkan bakteri adalah penyakit *Vibriosis* yang disebabkan oleh serangan bakteri *Vibrio harveyi*. Penyakit ini lebih dikenal dengan penyakit kunang-kunang karena udang yang terserang penyakit tersebut dalam kondisi gelap terlihat bercahaya. Hal tersebut terjadi karena jenis bakteri *V. harveyi* mengeluarkan pendara (luminensensi) [36-40].

Bakteri penghasil cahaya ini bersifat sangat patogen dan akut sehingga dapat menyebabkan kematian larva udang sampai 100% dalam waktu satu sampai dua hari. Salah satu tindakan pencegahan terhadap serangan bakteri ini adalah menciptakan lingkungan kondusif yang dibutuhkan oleh udang dan mengurangi peluang berkembangnya organisme patogen dengan cara pengelolaan lingkungan yang baik. [41,42]. *Caulerpa* sp. merupakan jenis makroalga hijau yang berpotensi memiliki senyawa bioaktif sebagai antijamur dan antibakteri. *Caulerpa* sp. adalah rumput laut yang mahal, bermanfaat sebagai

bahan makanan manusia juga diberikan kepada ternak [43].



**Gambar 3.** Uji ekstrak Metanol dari *Caulerpa lentillifera* terhadap Bakteri *Vibrio* sp. Ket. VP: *Vibrio parahaemolyticus*; VH: *Vibrio harveyi*; VA: *Vibrio alginolyticus*

Ekstrak metanol makroalga *Caulerpa racemosa* memiliki bahan aktif yang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *Vibrio harveyi* [44]. Saptasari (2010)[45] menyatakan zat caulerpicin dan caulerpin dapat diisolasi dari *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa sertulariodes*, dan *Caulerpa lentillifera*. Aktivitas antimikroba yang terkait dengan ekstrak dari daerah thallus yang berbeda (apikal, basal dan stolon) dari spesies *Caulerpa* sp. terpilih (*Caulerpa ashmeadii*, *Caulerpa paspaloides* dan *Caulerpa prolifera*) juga dievaluasi. Hasil umumnya menunjukkan bahwa stolon *Caulerpa* sp. memiliki aktivitas antibakteri tertinggi (. Pada konsentrasi ekstrak tertinggi, daya hambat ekstrak terhadap bakteri *Vibrio* sp. masih dikategorikan sedang. Hal ini bisa disebabkan karena bakteri *Vibrio* sp.

termasuk dari golongan bakteri gram negatif. Menurut Agustini et al. (2017) [46], bahwa bakteri gram negatif memiliki tiga lapisan dinding sel dengan kandungan lemak tinggi dan mempunyai lapisan peptidoglikan, sehingga menyebabkan senyawa antibakteri sulit terabsorpsi. Terdapat perbedaan sensitivitas asam lemak antara bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Adanya impermeabilitas membran luar bakteri Gram-negatif yang merupakan penghalang efektif terhadap zat hidrofobik, mengakibatkan bakteri Gram-negatif lebih resisten terhadap inaktivasi oleh asam lemak rantai menengah dan Panjang. senyawa aktif dari *Caulerpa* sp. dalam larutan metanol, berupa senyawa metabolit sekunder utama yaitu caulerpicin, caulerpenin dan caulerpin. Caulerpin adalah

senyawa alkohol dengan rantai karbon alifatik panjang yang mempunyai gugus amina dan eter. Caulerpicin menimbulkan rasa pedas seperti lada. Caulerpenin adalah senyawa sesquiterpenoids yang mempunyai gugus aldehyd. Senyawa ini bersifat toksik terhadap ikan-ikan herbivora dalam habitat terumbu karang. Senyawa lain yang merupakan senyawa aktif pada *Caulerpa* sp. adalah caulerpin. Senyawa ini berupa kristal prisma berwarna oranye kemerahan memiliki titik leleh 31,7°C

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil studi ini dapat ditarik kesimpulan bahwa Ekstrak *Caulerpa lentillifera* dengan pelarut atau ekstrak air, etanol dan metanol memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan dosis terbaik 100 mg/l. Water ekstrak dari *Caulerpa lentillifera*

memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dibandingkan aktivitas antibakteri ekstrak Etanol dan Metanol dari *Caulerpa lentillifera*. Hal tersebut yang mempengaruhi daya hambat pertumbuhan dari bakteri pathogen *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, dan *Vibrio parahaemolyticus*. Perbedaan respon antibiotic secara spesifik pada masing-masing pelarut ekstrak ini sangat dipengaruhi oleh kandungan senyawa yang terekstrak.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh skema Hibah Penelitian Doktor Fakultas PERikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Th 2023 dengan Nomor Kontrak 2327.5UN10.F06/KS/2023. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini..

## DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Lightner DV. 1993. Disease of cultured penaeid shrimp. In: McVey JP, editor. CRC handbook of mariculture. 2nd ed., Vol. 1, Crustacean aquaculture. Boca Raton (FL): CRC Press; p. 393–486.
- [2]. Leobert D, Cabillon NA, Catedral DD, Amar EC, Usero RC, Monotilla WD, Calpe AT, Fernandez DD, Saloma CP. 2015. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) outbreaks in *Penaeus vannamei* and *P. monodon* cultured in the Philippines. *Dis Aqua Organisms*. 116(3):251–254.
- [3]. Dabu IM, Lim JJ, Arabit PMT, Joi Ann S, Orense B, Tabardillo JA Jr, Corre Mary Beth VL Jr, Maningas B. 2017. The first record of acute hepatopancreatic necrosis disease in the Philippines. *Aquac Res*. 48(3):792–799.
- [4]. Ishimaru K, Akagawa-Matsushita M, Muroga K. 1995. *Vibrio penaeicida* sp. nov., a pathogen of Kuruma prawns (*Penaeus japonicus*). *Int J Syst Bacteriol*. 45(1):134–138.
- [5]. Lavilla-Pitogo CR, Leano EM, Paner MG. 1998. Mortalities of pond cultured juvenile shrimp *Penaeus monodon* associated with dominance of luminescent *Vibrios* in the rearing environment. *Aquaculture*. 164(1-4):337–349.
- [6]. Karunasagar I, Shivu MM, Girisha SK, Krohne G, Karunasagar I. 2007. Biocontrol of pathogens in shrimp hatcheries using bacteriophages. *Aquaculture*. 268(1-4):288–292.
- [7]. Joshi J, Srisala J, Truong VH, Chen I-T, Nuangsaeng B, Suthienkul O, Lo CF, Flegel TW, Sritunyalucksana K, Thitamadee S. 2014. Variation in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from a single Thai shrimp farm experiencing an outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture*. 428-429:297–302.
- [8]. Pui CF, Bilung LM, Zin NBM, Abidin NNBZ, Vincent M, Apun K. 2014. Risk of Acquiring *Vibrio parahaemolyticus* in Water and Shrimp from an Aquaculture Farm. *Kuroshio Science*. 8(1):59–62.
- [9]. Tran L, Nunan L, Redman RM, Mohny LL, Pantoja CR, Fitzsimmons K, Lightner DV. 2013. Determination of the infectious nature of the agent of

- acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis Aquat Org.* 105(1):45–55.
- [10]. Lightner DV. 2012. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. *Global Aquaculture Advocate.*
- [11]. De Schryver P, Defoirdt T, Sorgeloos P. 2014. Early mortality syndrome outbreaks: a microbial management issue in shrimp farming? *PLoS Pathog.* 10(4):e1003919.
- [12]. Chu KB, Ahmad I, SitiZahrah A, Irene J, Norazila J, NikHaiha N, Teoh TP. 2016. Current status of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of farmed shrimp in Malaysia. *Proceedings of the ASEAN Regional Technical Consultation on EMS/AHPND and Other Transboundary Diseases for Improved Aquatic Animal Health in Southeast Asia; 2016 Feb 22–24; Makati City, Philippines.* p. 55–59.
- [13]. Han JE, Kim JE, Jo H, Eun JS, Lee C, Kim JH, Lee KJ, Kim JW. 2019. Increased susceptibility of white spot syndrome virus-exposed *Penaeus vannamei* to *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease. *Aquaculture.* 512:734333.
- [14]. Sinurat E, Fajriah, S. The chemical properties of seaweed *Caulerpa lentillifera* from Takalar, South Sulawesi. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 2019;546 (042043):1-5.
- [15]. Konishi T, Nakata I, Miyagi Y, Tako M. Extraction of  $\beta$ -1,3Xylan from Green Seaweed, *Caulerpa lentillifera*. *J Appl Gly.* 2012;59(4):161-3.
- [16]. Maeda R, Ida T, Ihara H, Sakamoto T. 2012. Immunostimulatory activity of polysaccharides isolated from *Caulerpa lentillifera* on macrophage cells. *Biosci Biotech Biochem.* 76(3):501-5.
- [17]. Roohinejad S, Koubaa M, Barba FJ, Saljoughian S, Amid M, Greiner R. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res Int.* 2017;99:1066-83.
- [18]. Sharma BR, Rhyu DY. Anti-diabetic effects of *Caulerpa lentillifera*: Stimulation of insulin secretion in pancreatic  $\beta$ -cells and enhancement of glucose uptake in adipocytes. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2014;4(7):575-80
- [19]. Fajriah S, Sinurat E, Megawati M, Darmawan A, Meilawati L, Handayani S, et al. Identification of  $\beta$ -1,3-Glucan and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity from Seagrass *Caulerpa lentillifera* Extracts. *AIP Conference Proceeding.* 2018;2024(1):020026.
- [20]. Shevchenko NM, Burtseva YV, Zvyagintseva TN, Makar'eva TN, Sergeeva OS, Zakharenko AM, et al. Polysaccharides and sterols from green algae *Caulerpa lentillifera* and *C. sertularioides*. *Chem Nat Comp.* 2009;45(1):1-5.
- [21]. Desy Windia Yuniarti, Maftuch and Muhammad Fadjar. 2015. Application of Immunostimulants from *Caulerpa racemosa* Extract to Improve Immune Response of Giant Gourami Fish (*Osphronemus Gouramy*) to *Aeromonas hydrophila* Infection. *J. Life Sci. Biomed.* 5(3): 60-64, May 30, 2015.
- [22]. Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology, 15,* 55-63.
- [23]. Trianto, A., Edi, W., Suryono, Rahayu S., 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* Sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Ilmu Kelautan,* 9(4) : 186-189
- [24]. Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran.* CV. Sagung Seto. Jakarta.
- [25]. Zaenuddin A, Nuraini YL, Faries A, dan S Wahyuningsih. 2019. Pengendalian penyakit *Vibriosis* pada ikan kakap putih. *Jurnal Perikanan Budidaya Air Payau dan Laut.* No. 14: 77-83.



- [26]. Rusadi D, Wardiyanto dan R Diantari. Treatment of *Vibriosis* disese ( *Vibrio harveyi*) in vaname shrimp ( *Litopenaeus vannamei*, Boone1931) using *Avicenia alba* leave extract. e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan. Volume VIII No 1
- [27]. Susiyanto AY, Hitijahubessy H, Samid A, dan O Cesar. 2021. Pengaruh ekstrak lamun *Enhalus acoroides* secara in vitro sebagai antibakteri *Vibrio* sp. penyebab penyakit ice-ice pada rumput laut *Eucheuma cottoni*. MjoCE. Vol 11 No 2. Hal. 93-98.
- [28]. Effendi, N. 1998. Dasar-Dasar Keperawatan Kesehatan Masyarakat. Edisi 2. EGC. Jakarta.
- [29]. Felix F, Nugroho TT, Silalahi S, dan Y Octavia. 2011. Screening of indonesian original bacteria *Vibriosp* as a cause of shrimp diseases based on 16s ribosomal dna-technique. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis. Vol. 3, No. 2, Hal. 85-99.
- [30]. Surjowardojo, P., Susilorini, T.E., dan Panjaitan, A.A. (2015). Daya Hambat Jus Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. Ternak Tropika, 16(2), 30-39.
- [31]. Hatmanti, A., R. Nuchsin., D. Julinasari. 2009. Screening Bakteri Penghambat Untuk Bakteri Penyebab Penyakit pada Budidaya Ikan Kerapu dari Perairan Banten dan Lampung. Makara, Sains, 13 (1): 81-86.
- [32]. Riniatsih I, W. A. Setyati. 2009. Bioaktivitas Ekstrak dan Serbuk Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichi* pada *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyi*. 14 (3): 138 -141.
- [33]. Saptiani, G., S.B. Prayitno., S. Anggoro., 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju (*Acanthus ilicifolius*). Jurnal Veteriner., 13 (3): 257-262.
- [34]. Maryani, D.D. dan Sukenda, 2002. Peranan ekstrak kelopak dan buah mangrove *Sonneratia caseolaris* (L) terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon* FAB.). Akuakultur Indonesia, I (3): 129–138.
- [35]. Rukyani, A., Taufik P., dan Taukhid, 1992. Penyakit kunang-kunang (luminescence *Vibriosis*) di hatchery udang windu dan cara penanggulangan penyakit benur di hatchery udang. J. Litbang Pert, 2,1 - 17.
- [36]. Lavilla-Pitogo C.R., Lean~o E.M., and Paner M.G., 1998. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent *Vibriosis* in the rearing environment. Aquaculture, 164, 337- 349.
- [37]. Sinrat, R., Sombat, R., Somkiat, P., and Piamsar, M., 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp *Penacus monodon* by a probiont bacterium *Bacillus* S11. Aquaculture, 191, 271–288.
- [38]. Zhang, X. H., Meaden, P.G., and Austin, B., 2001. Duplication of hemolysin genes in a virulent isolate of *Vibrio harveyi*. Applied and Environmental Microbiology, 67, 3161– 3167.
- [39]. Widanarni, 2004. Penapisan bakteri probiotik untuk biokontrol *Vibriosis* pada larva udang windu: konstruksi penanda molekuler dan esei pelekatan. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [40]. Cohen, J., Samocha, T.M., Fox, J.M., Gandy, R.L., and Lawrence, A.L., 2005. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *L. vannamei* using limited discharge and biosecure management tools. Aquaculture Engineering, 32 (3–4), 425–442.
- [41]. Romimohtarto, K. & Juwana, S., 2009. Biologi Laut. Djambatan, Jakarta, 540 hlm.

- [42]. Ikkal, M., 2015. Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Rumput Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Octopus*, 4(2), 417–42.
- [43]. Saptasari, M., 2010. Variasi ciri morfologi dan potensi makroalga jenis caulerpa di pantai kondang merak Kabupaten Malang. *el-Hayah*, 1(2), 19–22.
- [44]. Kolanjinathan, K., Ganesh, P. & Saranraj, P., 2014. Pharmacological Importance of Seaweeds: A Review. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 6(1), 1–15.
- [45]. Agustini, W.N.S., Kusmiati, dan Handayani, D. (2017). Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Kimia Asam Lemak dari Mikroalga *Lyngbya* sp. *Biopropal Industri*, 8(2), 99-107.
- [46]. Paul, V. j., Arthur, K. E., Ritson-Williams, R., & Ross, C., 2007. Marine biological laboratory chemical defenses: from compounds to communities. *Biol Bull*, 213(December), 226– 251.