

**MANFAAT BAHAN AKTIF HIDROKUINON DARI BUAH *Sonneratia caseolaris* UNTUK
MENGENDALIKAN INFEKSI BUATAN *Vibrio harveyi* PADA UDANG WINDU,
Penaeus monodon FAB.**

**The Effect Hydroquinone Extracted from *Sonneratia caseolaris* Fruit to Control *Vibrio harveyi* Artificial
Infection on Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* Fab.**

Arifuddin¹⁾, Sukenda^{2*)} & D. Dana²⁾

¹⁾Politeknik Pertanian Negeri Pangkep, Sulawesi Selatan

²⁾Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor,
Kampus Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

ABSTRACT

The role of hydroquinone extracted from *Sonneratia caseolaris* fruit to control *Vibrio harveyi* infection on tiger prawn was carried out. *In vitro* experiment was conducted using disc diffusion and MIC (*minimum inhibitory concentration*) methods to know the sensitivity of *V. harveyi* to hydroquinone. Two kinds of *in vivo* experiments were (1) hydroquinone was injected into shrimps muscle and a week later the shrimps were challenged with *V. harveyi* (2) the shrimps were challenged with *V. harveyi* and one day later hydroquinone was injected. Total count of live *V. harveyi* on the shrimps and survival rate were observed after challenge test. Hydroquinone showed antibacterial activity with MIC at 3000 ppm. Hydroquinone injected shrimp showed higher survival rate compared with control (100% vs 50%). Total count of *V. harveyi* from injected shrimp, either before or after challenged, decreased by $2,61 \times 10^4$ cfu/g and $1,61 \times 10^4$ cfu/g, respectively. These findings indicated that crude hydroquinone have anti-bacterial effect to control *V. harveyi* infection.

Key words: hydroquinone, *Sonneratia caseolaris*, *Vibrio harveyi*, *Penaeus monodon*

ABSTRAK

Telaah peran hidrokuinon yang diekstraksi dari buah *Sonneratia caseolaris* untuk mengontrol infeksi *Vibrio harveyi* pada udang windu dilakukan. Percobaan *in vitro* dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan MIC (*minimum inhibitory concentration*) untuk mengetahui sensitivitas *V. harveyi* terhadap hidrokuinon. Percobaan *in vivo* dilakukan dengan dua cara (1) hidrokuinon disuntikkan pada otot udang dan seminggu kemudian udang diuji tantang dengan *V. harveyi* (2) udang ditantang terlebih dahulu dengan *V. harveyi* dan sehari kemudian hidrokuinon disuntikkan. Jumlah total bakteri *V. harveyi* hidup pada udang dan kelangsungan hidup udang diamati setelah uji tantang. Hidrokuinon menunjukkan aktivitas antibakteri dengan MIC 3000 ppm. Udang yang diinjeksi dengan hidrokuinon mempunyai kelangsungan hidup yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (100% vs 50%). Jumlah total *V. harveyi* pada udang yang diinfeksi, baik sebelum maupun sesudah, masing-masing turun sampai $2,61 \times 10^4$ cfu/g dan $1,61 \times 10^4$ cfu/g. Hasil ini menunjukkan bahwa hidrokuinon mempunyai efek anti-bakterial untuk mengontrol infeksi *V. harveyi*.

Kata kunci: hidrokuinon, *Sonneratia caseolaris*, *Vibrio harveyi*, *Penaeus monodon*

PENDAHULUAN

Vibrio harveyi merupakan agen utama penyebab penyakit vibriosis atau bercahaya, menyerang organisme vertebrata dan invertebrata laut pada area geografis yang luas (Zhang & Austin 2000). Bakteri tersebut merupakan patogen pada udang penaeid yang dibudidayakan (Sunaryanto & Mariam 1986; Vandenberghé *et al.* 1998). *V. harveyi* sebagai patogen udang yang signifikan di beberapa negara tropik dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% di hatchery udang (Alvares *et al.* 1998), termasuk di Indonesia pada udang windu, *Penaeus monodon* (Sunaryanto & Maryam 1986).

Ekstrak buah *Sonneratia caseolaris* mengandung beberapa jenis bahan aktif alami seperti: flavonoid, steroid, fenol hidrokuinon dan tanin, yang aktif sebagai senyawa antibakteri terhadap *V. harveyi* secara *in vitro* (Naiborhu *et al.* 2002) dan secara *in vivo* serta

memberikan efek immunostimulasi (Maryani 2003). Namun demikian, belum ada penelitian yang mengungkap potensi setiap bahan aktif tersebut. Hidrokuinon, salah satu bahan aktif dari buah *S. caseolaris*, menunjukkan aktifitas antibakterial (Mihopoulos *et al.* 1999; Tsoukatou *et al.* 2002), antifungal (Tsoukatou *et al.* 2002), antioksidan (Aknin *et al.* 1999), dan mampu menstimulasi sel-sel *progenitor* makrofage granulosit tikus secara *in vitro* dan *in vivo* (Henschler *et al.* 1996).

Sehubungan dengan hal di atas, telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menguji potensi bahan aktif hidrokuinon dari buah mangrove *S. caseolaris* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *V. harveyi*. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengkaji potensi immunostimulasi dalam meningkatkan ketahanan tubuh udang windu terhadap infeksi *V. harveyi*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan dari Pebruari hingga November 2003. Ekstraksi bahan aktif dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Uji antibakterial secara *in vitro* dan histologi dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Pengujian *in vivo* dan pengamatan parameter imunologis dilaksanakan di Laboratorium Basah divisi Pakan Buatan dan Laboratorium Hama-Penyakit Ikan Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara.

Ekstraksi Bahan Aktif Hidrokuinon

Serbuk halus buah *S. caseolaris* dengan kadar air 18,335% seberat 100 g dikemas dalam kertas saring dan kemudian diekstraksi pada suhu kamar dengan merendam bahan tersebut menggunakan pelarut metanol dan kloroform (rasio 1:2 v/v) dalam tabung *Erlen Meyer* (rasio pelarut dengan bahan 5:1, v/w), proses ini diulangi empat kali (Aknin *et al.* 1999). Maserat yang diperoleh dievaporasi dalam penguap putar (rotari evaporator) pada temperatur 50°C dan dilanjutkan dengan pengeringan dalam *freeze dryer* untuk mendapatkan bahan aktif *crude* hidrokuinon (dipastikan dengan uji kualitatif menggunakan KOH 10% yang akan memberi warna coklat).

Penyediaan bakteri

Bakteri *V. harveyi* ditumbuhkan dalam media *sea water complete* (SWC) dan kepadatannya ditentukan dengan mengukur kerapatan optik (*optical density, OD*) dalam media cair menggunakan spektrofometer pada panjang gelombang 600 nm, dimana nilai $OD = 1 \sim 2,13 \times 10^9$ cfu/ml).

Uji In Vitro

Uji Sensitifitas Bakteri *V. harveyi*

Uji sensitifitas bakteri *V. harveyi* terhadap bahan aktif hidrokuinon dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer*. Konsentrasi yang diujikan adalah 0, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, dan 10000 ppm.

Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

V. harveyi yang telah dibiakkan selama 12 jam dalam SWC cair dicampur dengan bahan aktif hidrokuinon (konsentrasi 0, 1, 10, 50, 100, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, dan 10000 ppm) dan diinkubasi secara goyang selama 12 jam. Setelah diinkubasi selama 12 jam, dibuat suatu seri pengenceran desimal kelipatan 10 dan diinokulasikan dalam media agar dengan metode

tuang dalam cawan dan diinkubasi selama 24 jam. Perhitungan koloni bakteri dilakukan dengan metode *standard plate count*.

Uji In Vivo

Pemberian Bahan Aktif Hidrokuinon dan Uji Tantang

Pemberian bahan aktif hidrokuinon dan ujiantang pada udang uji dilakukan dengan metode injeksi. Bahan aktif hidrokuinon dengan konsentrasi 3000 ppm sebanyak 0,1 ml/individu dan bakteri *V. harveyi* sebanyak $3,61 \times 10^4 \pm 8,43 \times 10^3$ cfu/g bobot tubuh udang uji (berat rata-rata $52,35 \pm 10,22$ g) diinjeksikan pada sinus ventral di segmen kedua abdominal dengan menggunakan syringe 1 ml (*needle* 26 G x $1/2$ ").

Rancangan Percobaan

Percobaan dilakukan dengan dua waktu ujiantang yang berbeda yaitu ujiantang pada hari ke-7 setelah dan sehari sebelum pemberian hidrokuinon. Percobaan dengan ujiantang pada hari ke-7 merupakan bentuk uji coba untuk mengkaji efek immunostimulasi, sedangkan percobaan dengan ujiantang sehari sebelum perlakuan merupakan bentuk uji coba untuk mengkaji sifat antibakterial bahan aktif hidrokuinon.

Parameter yang diamati dalam seri percobaan ini adalah tingkat kelangsungan hidup udang uji pada akhir penelitian dan total *V. harveyi* dalam tubuh udang uji pada se hari ke-1, 3, dan ke 7 setelah ujiantang.

Analisis Data

Data zona hambat bebas bakteri (*clear zone*) dan jumlah koloni bakteri dalam uji *in vitro* dianalisis dengan analisis variansi satu arah (*one way Anova*), dan dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda Duncan bila perlakuan menunjukkan perbedaan (Steel and Torrie, 1980). Data tingkat kelangsungan hidup dan total bakteri *V. harveyi* uji *in vivo* dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sensitifitas Bakteri *V. harveyi*

Bahan aktif hidrokuinon menunjukkan potensi untuk menghambat pertumbuhan *V. harveyi*, dimana dalam uji *Kirby-Bauer* terbentuk zona hambat bebas bakteri (*clear zone*) di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan aktif hidrokuinon (Tabel 1). Menurut Lay (1994), terbentuknya zona hambat bebas bakteri melalui pengamatan daerah jernih di sekeliling kertas cakram, membuktikan adanya daya kerja antimikrobial. Mihopoulos *et al.* (1999) mengemukakan bahwa hidrokuinon alami dan sintesis

menunjukkan aktifitas antibakterial dalam kisaran yang luas. Oksidasi hidrokuinon menjadi kuinon dan hidrogenasi rantai samping (*side-chain*) meningkatkan efek anti bakterial molekul tersebut. Menurut Tsoukatou *et al.* (2002), metaboiit yang paling aktif dari ekstrak sponge *Ircinia spinosula* terhadap jamur dan bakteri laut adalah hidrokuinon (2-Octaprenylo 1,4-hydroquinone).

Walaupun daya hambat hidrokuinon sudah mulai kelihatan dari konsentrasi 0,5 ppm, tetapi luas zona

hambat bebas bakteri yang ditunjukkan hingga konsentrasi 10000 ppm jauh lebih rendah dibanding nilai standar rentan (*susceptible*), bahkan berada di bawah nilai standar resisten yang dikeluarkan oleh produsen beberapa antibiotik dengan dosis yang lebih rendah (Tabel 2). Nilai tersebut juga lebih rendah dibandingkan dengan nilai yang didapatkan oleh Tsoukatou *et al.* (2002) yang menggunakan 30 fig

Tabel 1. Diameter rata-rata zona hambat dan jumlah koloni bakteri *Vibrio harveyi* yang diberi perlakuan *crude* hidrokuinon

Dosis Hidrokuinon (ppm)	Diameter Zona Hambat (mm)	Masa Inkubasi	
		24 jam	48 Jam
cfu/ml			
0	0.0 ^a	8.75 x 10 ^{08 a}	1.13 x 10 ^{09 a}
0,5	7.0 ^b	-	-
1	6.8 ^b	1.03 x 10 ^{09 a}	1.45 x 10 ^{09 b}
2	6.8 ^b	-	-
5	6.5 ^b	-	-
10	6.7 ^h	8.18 x 10 ^{08 a}	1.05 x 10 ^{09 a}
20	6.8 ^b	-	-
50	6.8 ^b	7.27 x 10 ^{08 a}	1.03 x 10 ^{09 a}
100	6.7 ^b	7.05 x 10 ^{08 a}	7.60 x 10 ^{08 c}
200	7 ^b	-	-
500	6.8 ^b	6.54 x 10 ^{08 a}	7.18 x 10 ^{08 c}
1000	6.5 ^b	6.13 x 10 ^{08 a}	7.05 x 10 ^{08 c}
2000	8 ^c	5.68 x 10 ^{08 a}	6.56 x 10 ^{08 c}
3000	-	17.50 ^b	37.50 ^d
4000	-	16.25 ^b	22.50 ^d
5000	9.7 ^d	< 10 ^b	< 10 ^d
10000	11 ^e	< 10 ^b	< 10 ^d

Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata (p<0.05)

Tabel 2. Diameter zona hambat metode *Kirby-Bauer* beberapa antibiotik

Antibiotik	Konsentrasi Kertas Cakram	Resisten (R)	Intermediate (I)	Rentan (Susceptible, S)
Amoxicillin/Clavulanicacid (Augmentin)	30 µg	≤19	-	≥20
Ampicillin	10 µg	≤28	21-28	≥29
Erythromycin	15 µg	≤13	14-22	≥23
Kanamycin	5 µg	≤13	14-17	≥18
Penicillin	2 µg	≤ 28	21-28	≥ 29
Tetracycline	5 µg	≤18	19-22	≥23
Vancomycin	30 µg	-	-	≥ 15

Sumber : Anonim (2003)

bahan aktif hidrokuinon dari ekstrak sponge *Ircinia* terhadap bakteri gram positif, *Bacillus* dan bakteri gram negatif (*Diplococcus*, *Coccus*), dengan zona hambat bebas bakteri rata-rata di atas 10 mm.

Nilai zona hambat bebas bakteri yang berada di bawah nilai standar resisten beberapa antibiotika dan hidrokuinon yang diekstraksi dari sponge meng-indikasikan bahwa bahan aktif hidrokuinon dari buah *S. caseolaris* memiliki daya antibakterial yang lemah, khususnya terhadap *V. harveyi*. Sifat antibakterial yang lemah dari bahan aktif *crude* hidrokuinon dari buah *S. caseolaris* dibandingkan dengan hidrokuinon yang diekstraksi dari sponge *Ircinia* dapat disebabkan oleh jenis atau derivat hidrokuinonnya yang berbeda atau jenis hidrokuinonnya yang lebih murni. Rendahnya daya hambat *crude* hidrokuinon terhadap bakteri *V. harveyi* dimungkinkan juga karena organisme patogen ini tahan atau resisten terhadap bahan aktif tersebut.

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Bakteri *V. harveyi* dengan kepadatan awal $1,58 \times 10^4$ cfu/ml yang ditumbuhkan pada media yang telah dicampur bahan aktif hidrokuinon menunjukkan adanya peningkatan populasi yang sangat drastis pada konsentrasi 0, 1, 10, 50, 100, 500, 1000 dan 2000 ppm setelah diinkubasi selama 24 jam 48 jam, sedang pada konsentrasi 3000, 4000, 5000 dan 1000 ppm menunjukkan penurunan yang signifikan (Tabel 1).

Pertumbuhan *V. harveyi* memperlihatkan kecenderungan (*trend*) yang semakin menurun seiring dengan peningkatan dosis hidrokuinon, dimana populasi bakteri menurun secara drastis pada konsentrasi 3000, 4000, 5000, dan 10000 ppm, baik pada masa inkubasi 24 jam inkubasi 24 jam maupun 48 jam. Daya hambat hidrokuinon terhadap pertumbuhan populasi bakteri *V. harveyi* menunjukkan kecenderungan (*trend*) linier untuk masa inkubasi 24 jam dan kubik untuk masa inkubasi 48 jam ($p < 0,05$). Persamaan regresi hubungan antara perlakuan hidrokuinon dengan jumlah koloni bakteri adalah: $Y = 7,292.10^{08} - 106184,04 X$ ($r = 0,8236$) dan $Y = 9,0986.10^{08} -$

$239733,8 X + 0,3591 X^2 + 0,0015 X^3$ ($r = 0,7656$), masing-masing untuk masa inkubasi 24 dan 48 jam secara berurutan. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan dosis hidrokuinon akan menyebabkan penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* yang semakin meningkat. Pola penurunan populasi bakteri yang cenderung bersifat kubik yang ditunjukkan setelah masa inkubasi 48 jam mengindikasikan bahwa bahan aktif ini relatif lemah dan hanya bersifat menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) *V. harveyi*.

Konsentrasi 3000 ppm yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan 4000, 5000 dan 10000 ppm yang memberi efek negatif terhadap pertumbuhan *V. harveyi* berupa penurunan populasi hingga dibawah batas perhitungan yang ditentukan merupakan nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) untuk bahan aktif hidrokuinon, khususnya pada bakteri *V. harveyi*. Nilai MIC yang ditunjukkan bahan aktif hidrokuinon tersebut jauh lebih tinggi dibanding dengan nilai MIC beberapa antibiotik (Tabel 3). Nilai tersebut juga lebih tinggi dibandingkan dengan nilai MIC hidrokuinon yang diekstraksi dari sponge *Ircinia* (Tsoukatou *et al.* 2002) dan nilai yang ditemukan oleh Naiborhu *et al.* (2002), yaitu 1 g/l (1000 ppm) yang menggunakan ekstrak kasar (*crude extract*) dari *S. caseolaris* dengan pelarut aseton. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak kasar dari *S. caseolaris* lebih potensil sebagai antibakterial dibandingkan dengan menggunakan bahan aktif *crude* hidrokuinon yang diisolasi dari sumber yang sama dan relatif lebih murni.

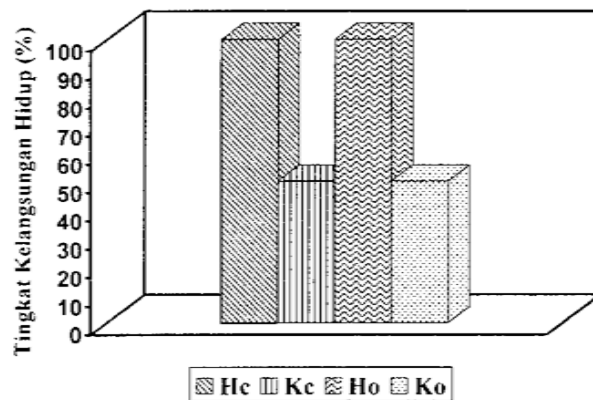
Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup udang uji yang diinjeksi hidrokuinon lebih tinggi dibanding yang tidak diinjeksi hidrokuinon, baik pada seri percobaan perlakuan hidrokuinon tujuh hari sebelum uji tantang maupun perlakuan hidrokuinon sehari setelah uji tantang (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan hidrokuinon dapat mengendalikan infeksi *V. harveyi* dengan efektif.

Tabel 3. Nilai standar MIC beberapa antibiotik

Antibiotik	MIC (mg/L)		
	Resisten (R)	Intermediate (I)	Rentan (Susceptible, S)
1. Erythromycin	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1
2. Ceftriaxone		≥ 2	
3. TMP/SMX	$\leq 055/9,5$	1/19-2/38	$\geq 4/76$
4. Clindamycin	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1
5. Tetracycline	≤ 2	4	≥ 8

Sumber : CEQAAGAR (1998)



Gambar 2. Tingkat kelangsungan hidup udang windu, *Penaeus monodon* Fab., yang telah diinjeksi dengan *crude* hidrokuinon atau PBS steril seminggu sebelum (Hc, Kc) atau sehari setelah (Ho, Ko) uji tantang dengan *Vibrio harveyi*

Pemberian hidrokuinon sebelum uji tantang yang mampu mengendalikan pertumbuhan *V. harveyi* dalam tubuh udang uji megindikasikan bahwa bahan aktif ini memiliki sifat immunostimulasi. Hal ini didukung oleh pendapat Henschler *et al.* 1996 yang mengemukakan bahwa hidrokuinon mampu menstimulasi sel-sel *progenitor* makrofage granulosit tikus secara *in vitro* dan *in vivo*, dimana peningkatan granulosit merupakan salah satu indikator adanya efek immunostimulasi. Sedangkan kemampuan bahan aktif ini mengendalikan pertumbuhan *V. harveyi* setelah uji tantang merupakan indikasi adanya sifat anti bakterial dari bahan tersebut. Dalam hal ini, pemberian hidrokuinon setelah uji tantang (Ho) dapat memberikan proteksi ganda terhadap udang windu dari infeksi *V. harveyi*. Walaupun dalam uji *in vitro* terungkap bahwa bahan aktif ini daya anti bakterialnya relatif rendah, tetapi ternyata secara *in vivo* menunjukkan pengaruh yang cukup signifikan.

Total Bakteri *V. harveyi*

Total bakteri *V. harveyi* dalam tubuh udang uji menunjukkan peningkatan sehari setelah uji tantang dari $3,61 \times 10^4$ cfu/g menjadi $1,14 \times 10^5$ cfu/g dan $4,68 \times 10^6$ cfu/g untuk He dan Kc secara berurutan. Demikian juga halnya dengan perlakuan Ho dan Ko, terjadi peningkatan yang drastis dari $3,61 \times 10^4$ cfu/g

menjadi $3,94 \times 10^7$ cfu/g, tetapi sehari setelah perlakuan hidrokuinon jumlah total *V. harveyi* menurun menjadi 6×10^3 cfu/g dan 6×10^4 cfu/g (Gambar 3). Secara kumulatif sampai akhir penelitian, total bakteri menurun sebesar $2,61 \times 10^4$ cfu/g dan $1,61 \times 10^4$ cfu/g untuk perlakuan He dan Ho, sedangkan untuk Kc dan Ko terjadi peningkatan sebesar $2,64 \times 10^5$ cfu/g dan $1,14 \times 10^5$ cfu/g.

Penurunan total *V. harveyi* dalam tubuh udang uji setelah mendapat perlakuan hidrokuinon memperkuat asumsi bahwa bahwa aktif tersebut bersifat immunostimulan dan antibakterial. Hidrokuinon dapat mengendalikan *V. harveyi* karena di samping mampu meningkatkan status kesehatan udang uji dengan meningkatkan kemampuan fagositosis, senyawa ini juga memiliki kemampuan antibakterial. Hal ini terungkap dari perbedaan penurunan populasi bakteri *V. harveyi* antara perlakuan Hc dan Ho pada D+2, dimana penurunan populasi bakteri pada Ho yang diamati sehari setelah perlakuan hidrokuinon lebih tinggi. Pada perlakuan Ho tersebut kemungkinan konsentrasi hidrokuinon belum banyak tereduksi sehingga sifat antibakterialnya masih mampu berperan, sedangkan pada perlakuan Hc sifat antibakterial sudah kurang berperan lagi sehingga semata-mata hanya faktor fagositosis yang berperan.

Berdasarkan seri percobaan yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa bahan aktif *crude* hidrokuinon memiliki sifat antibakterial dengan konsentrasi daya hambat minimum (MIC, *minimum inhibitory concentration*) sebesar 3000 ppm dan bersifat immunostimulan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aknin, M., T.L.A. Dayan, A. Rudi, Y. Kashman & E.M. Gaydou. 1999. Hydroquinone antioxidant from the Indian Ocean tunicate *Aplidium savignyi*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47: 4175-4177.
- Alvares, J.D., B. Austin, A.M. Alvares & H. Reyes, 1998. *Vibrio harveyi*: a pathogen of penaeid shrimps and fish in Venezuela. *Journal of Fish Disease*, 21: 313-316.
- Anonim. 2003. Kirby-Bauer antibiotic susceptibility testing.01.; <http://biology-web.nmsu.edu/ustafson/Labs/KirbyBauer.htm>. [28 Desember 2003]
- CEQAAGAR (Canadian External Quality Assessment Advisory Group for Antibiotic Resistance). 1998. Guidelines for the Testing and Reporting of Antimicrobial Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae*, http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/publicat/ceqa-pceeq/prsp98_e.html. [23 Januari 2004]
- Henschler, R., H.R. Glatt, CM. Heyworth. 1996. Hydroquinone stimulates granulocyte-macrophage progenitor cells *in vitro* and *in vivo*. *Environmental Health Perspectives*, 104 (Supplement 6).
- Lay BW. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Maryani. 2003. Peranan Ekstrak Kelopak dan Buah Mangrove *Sonneratia caseolaris* untuk Pencegahan dan Pengobatan terhadap Serangan Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Windu, *Penaeus monodon* Fab. Tesis. Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mihopoulos, N., C. Vagias, I. Chinou, C. Roussakis, M. Scoullou, C. Harvala & V. Roussis. 1999. Antibacterial and cytotoxic natural and synthesized hydroquinones from sponge *Ircinia spinosula*. *Zeitschrift für Naturforschung*, 54: 417-423.
- Naiborhu, P.E., D. Dana & Sukenda. 2002. Ekstraksi dan Manfaat Ekstrak Mangrove (*Sonneratia alba* dan *Sonneratia caseolaris*) sebagai Bahan Alami Anti Bakteri pada Patogen Udang Windu, *V. Harveyi*. Tesis, Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1980. Principle and Procedure of Statistics. Second Edition. Mc Graw Hill Inc., New York.
- Sunaryanto, A. & A. Mariam. 1986. Occurrence of pathogenic bacteria causing luminiscence in penaeid larvae in Indonesian hatcheries. *Bulletin of Brackishwater Aquaculture Development Center*, 8: 64-70.
- Tsoukatou, M., C. Hellio, C. Vagias, C. Harvala & V. Roussis. 2002. Chemical defense and antifouling activity of three Mediterranean sponges of the genus *Ircinia*. *Zeitschrift für Naturforschung*, 54: 161-171.
- Vandenbergh, J., Y. Li, L. Verdonck, J. Li, P. Sorgeloos, H.S. Hu & J. Swings. 1998. Vibriosis associated with *Penaeus chinensis* (Crustacea; Decapoda) larvae in Chinese shrimp hatcheries. *Aquaculture*, 169: 121-132.
- Zhang, X. H. & B. Austin. 2000. Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to salmonid. *Journal of Fish Disease*, 23:93-102.