

Kuorum sensing bakteri dan peran alga dalam pengendalian penyakit bakterial dalam akuakultur

Bacterial quorum sensing and the role of algae in bacterial diseases control in aquaculture

Wiyoto*, Julie Ekasari

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor,

**E-mail: wiyoto2001@yahoo.com*

ABSTRACT

Bacterial disease is one of the most common diseases in aquaculture practices which have a significant impact. Several researches noted that pathogenicity of a certain bacteria can be determined by its quorum sensing activity. Quorum sensing is a communication process of a certain bacteria with the same or different species of bacteria which involves the releasing and capturing of signal molecule to and from the environment. This activity will activate a certain target gene which further resulted in the expression of a phenotype by the bacteria. With regard to this characteristic, one of the methods to control bacterial diseases is by quorum sensing disruption. Several species of algae, both micro and macro, have been found to be able to intervene bacterial quorum sensing and thus can be used as an alternative in bacterial disease control.

Keywords: quorum sensing, bacterial disease, aquaculture, algae.

ABSTRAK

Penyakit bakteri adalah salah satu penyakit yang paling umum dalam akuakultur dengan dampak yang cukup signifikan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tingkat patogenitas suatu bakteri salah satunya ditentukan oleh aktivitas kuorum sensing bakteri. Kuorum sensing bakteri merupakan suatu proses komunikasi yang dilakukan oleh bakteri dengan bakteri lainnya baik yang sejenis maupun berlainan jenis yang berupa pelepasan dan penangkapan molekul sinyal menuju dan dari lingkungan sekitar bakteri tersebut. Aktivitas inilah yang akan menentukan ekspresi suatu gen target seperti patogenitas, sehingga salah satu metode yang dapat digunakan dalam mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah dengan mengganggu aktivitas kuorum sensing bakteri. Beberapa jenis alga, baik mikro maupun makro, diketahui dapat mengintervensi aktivitas kuorum sensing, dan dapat menjadi salah satu alternatif bagi pengendalian penyakit bakterial.

Kata kunci: kuorum sensing, penyakit bakterial, akuakultur, alga.

PENDAHULUAN

Akuakultur merupakan salah satu sektor penting dalam penyediaan pangan dunia. Pada tahun 2006, pertumbuhan tahunan sektor akuakultur mencapai 8,3% dan memberikan kontribusi pada total produksi perikanan dunia sekitar 47% (FAO, 2009). Meningkatnya permintaan produk akuakultur mendorong upaya-upaya peningkatan produktivitas salah satunya melalui intensifikasi. Tingginya aktivitas produksi dalam perikanan budidaya sistem intensif membawa masalah lain yang perlu segera ditangani seperti penurunan kualitas air dan

peningkatan infeksi penyakit (Thompson *et al.*, 2004; Nakayama *et al.*, 2005) yang dapat mempengaruhi tidak hanya produksi, tetapi juga lingkungan (Corre *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 2004). Tingginya kepadatan penebaran ikan dalam sistem intensif secara tidak langsung dapat meningkatkan resiko penyebaran penyakit menjadi lebih cepat dan luas dengan kerugian yang lebih besar.

Input pakan dan kepadatan organisme budidaya yang tinggi menyebabkan peningkatan akumulasi bahan organik dalam akuakultur sistem intensif yang berdampak pada penurunan kualitas air.

Penurunan kualitas air merupakan salah satu faktor pemicu stres yang sangat mempengaruhi kondisi kesehatan organisme akuakultur dan infeksi penyakit. Selain menurunkan kualitas air, akumulasi bahan organik juga merangsang pertumbuhan mikroba patogen yang dapat menyerang organisme yang dibudidayakan (Tendencia *et al.* 2006). Untuk mencegah penurunan kualitas air dan kondisi kesehatan ikan, upaya yang paling sering dilakukan oleh pembudidaya adalah dengan mengganti air sesering mungkin serta penggunaan antibiotik. Namun demikian upaya-upaya ini ternyata justru menjadi bumerang bagi usaha budidaya itu sendiri karena dengan pergantian air dan penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol, penyakit-penyakit yang disebabkan oleh bakteri semakin sulit untuk dikendalikan. Penyakit bakteri seperti vibriosis adalah salah satu penyakit yang paling umum dan paling signifikan dampaknya dalam akuakultur (Defoirdt *et al.*, 2004; Stickney, 2005). Penyakit vibriosis disebabkan oleh *Vibrio* spp. seperti *Vibrio harveyi*, *Vibrio campbellii*, dan *Vibrio parahaemolyticus* (Defoirdt *et al.*, 2006) yang merupakan penyebab penting dari kerugian secara ekonomi pada sektor akuakultur (Austin & Zhang, 2006).

Banyak strategi dan metode yang telah dikembangkan untuk mengatasi permasalahan penyakit mikrobial dalam akuakultur (Cremen *et al.*, 2007). Metode yang paling umum adalah penggunaan antibiotik dan desinfektan (*biocide*). Namun demikian, perkembangan ilmu penyakit ikan menunjukkan bahwa kedua metode ini tidak memberikan perubahan yang signifikan dalam upaya pencegahan dan pengobatan penyakit (Defoirdt *et al.*, 2004). Lebih dari itu, aplikasi antibiotik dengan dosis yang tidak tepat dalam jangka waktu yang lama telah terbukti menyebabkan resistensi bakteri. Penggunaan molekul terapeutik yang baru dapat menyebabkan bakteri lebih resisten terhadap antibiotik (Pillay, 2004; Nakayama *et al.*, 2005). Selain efek samping yang cukup berbahaya, dan harga yang relatif mahal, penggunaan bakterisidal juga dapat menyebabkan

pencemaran lingkungan. Oleh karena itu, beberapa strategi lain telah dikembangkan dalam pencegahan dan pengendalian penyakit dalam akuakultur yang meliputi: (1) perbaikan manajemen kualitas air (Grommen & Verstraete, 2002), (2) penggunaan immunostimulan (Sakai, 1999), (3) penggunaan probiotik (Gatesoupe, 1999), dan (4) aplikasi “green water sistem” (Cremen *et al.*, 2007; Palmer *et al.*, 2007).

Beberapa peneliti menyimpulkan bahwa untuk dapat menyerang suatu organisme, sel-sel bakteri patogen akan saling berkomunikasi melalui suatu mekanisme yang dikenal dengan istilah kuorum sensing (Eberl *et al.*, 1996; Tan *et al.*, 1999; De Kievit & Iglewski, 2000). Beberapa fenotipe bakteri yang diatur oleh mekanisme kuorum sensing di antaranya adalah biopendar, konjugasi, nodulasi, sporulasi, biokorosi, produksi antibiotik, pembentukan biofilm, produksi enzim-enzim lisis, toksin, siderofor, dan molekul-molekul adhesi (Defoirdt *et al.*, 2004). Dengan diketahuinya mekanisme komunikasi bakteri ini, maka salah satu strategi yang kini mulai dipelajari dalam pengendalian penyakit-penyakit bakterial adalah dengan mengintervensi mekanisme kuorum sensing bakteri (Defoirdt *et al.*, 2004).

Penulisan review ini bertujuan untuk memaparkan secara ringkas: (1) mekanisme kuorum sensing bakteri dan perannya dalam menyebabkan penyakit pada organisme akuatik; (2) intervensi kuorum sensing untuk pengendalian penyakit bakteri dalam sistem akuakultur; dan (3) peran mikro dan makroalga dalam mengintervensi kuorum sensing bakteri dan pemanfaatannya dalam akuakultur.

Kuorum sensing

Kuorum sensing (KS) adalah sistem komunikasi antar sel bakteri sejenis atau berbeda jenis yang bertujuan untuk mengaktifkan ekspresi suatu gen tertentu oleh bakteri yang bersangkutan. Dalam mekanisme ini bakteri akan mengekresikan suatu molekul ke lingkungannya yang kemudian akan menjadi sinyal bagi bakteri

itu sendiri dan bakteri lain. Ketika konsentrasi molekul di lingkungannya telah mencapai level tertentu, molekul ini kemudian akan menjadi umpan balik bagi bakteri yang bersangkutan untuk mengaktifkan dan mengekspresikan suatu gen (Miller & Bassler, 2001; Swift *et al.*, 2001; Taga & Bassler, 2003). Ekspresi gen yang dihasilkan oleh mekanisme kuorum sensing meliputi patogenesis, simbiosis, produksi antibiotik, motilitas, pembentukan biofilm (Miller & Bassler, 2001), transfer DNA, dan biopendar (Chhabra *et al.*, 2005).

Secara umum, ada beberapa komponen yang mengatur proses KS bakteri, yaitu: (1) gen yang mensintesis molekul sinyal; (2) gen yang terlibat dalam transduksi sinyal; dan (3) molekul sinyal kuorum sensing (Chhabra *et al.*, 2005). Pada sistem komunikasi ini, masing-masing sel bakteri memproduksi minimal satu atau lebih molekul sinyal untuk kemudian diekspresikan ke lingkungan sekitarnya. Molekul sinyal ini kemudian akan terakumulasi di lingkungan tersebut hingga mencapai konsentrasi tertentu yang dapat dideteksi oleh sel bakteri lain untuk selanjutnya mengaktifkan atau mengekspresikan gen target.

Mekanisme kuorum sensing

Secara umum, ada tiga jenis mekanisme kuorum sensing, yaitu: (1) *acylated homoserine lactones* (AHLs) sebagai media kuorum sensing pada bakteri Gram negatif; (2) peptida sebagai media kuorum sensing pada bakteri Gram positif; (3) tipe kuorum sensing dari *Vibrio harveyi* (Miller & Bassler, 2001).

Kuorum sensing pada bakteri Gram negatif

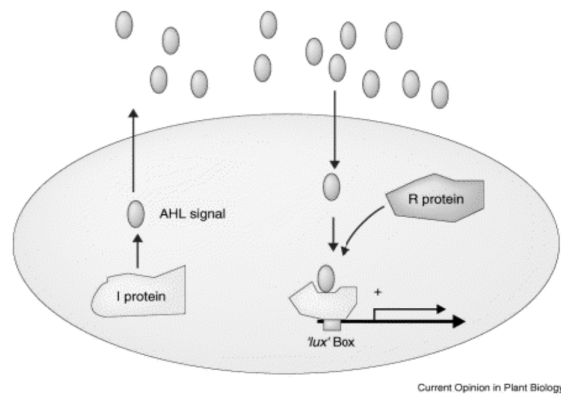
Bakteri gram negatif memiliki *N-acylhomoserine lactones* (AHLs) sebagai molekul sinyal yang disebut juga dengan *autoinducer* (McClellan 1997; Miller & Bassler, 2001; Taga & Bassler, 2003; Kim *et al.*, 2005). AHLs adalah molekul mudah larut dan berdifusi, yang berperan sebagai sinyal interselular yang menstimulasi ekspresi gen yang tergantung pada kepadatan sel yang ada di suatu lingkungan

(Morin *et al.*, 2003). Struktur AHLs dapat terdiri dari 4 sampai 18 karbon yang disintesa dari prekursor yang berasal dari metabolisme asam amino dan asam lemak (Chhabra *et al.*, 2005). Metabolit-metabolit sinyal ini juga dapat berperan sebagai regulator gen tidak hanya dalam komunikasi suatu spesies tertentu, tetapi juga dalam komunikasi antar spesies bakteri yang berbeda (Blosser & Gray, 2000). Mekanisme pembentukan molekul sinyal terdiri atas sintesa AHL oleh protein LuxI dan sintesa protein reseptor LuxR (Gambar 1).

Pada sistem ini, LuxI menyintesis *acylated homoserine lactone* (AHL) pada konsentrasi tertentu yang didifusikan keluar dari sel bakteri melalui membran plasma dan akan terakumulasi seiring dengan kenaikan populasi bakteri. Ketika konsentrasi AHL mencapai batas yang dapat dideteksi, protein kompleks LuxR akan mentranskripsikan dan menstimulasi ekspresi gen target seperti biopendar, pembentukan biofilm, atau memproduksi faktor virulen (Miller & Bassler, 2001; Swift *et al.*, 2001; Taga & Bassler, 2003; Defoirdt *et al.*, 2004). Salah satu contoh dari bakteri Gram negatif adalah *Vibrio anguillarum* yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan seperti salmon. *Vibrio anguillarum* menggunakan AHL N-(3-oxodecanoyl)-L-homoserinelactone (ODHL) sebagai sinyal kimia.

Kuorum sensing pada bakteri Gram positif

Komponen-komponen yang terlibat dalam proses kuorum sensing pada bakteri Gram positif meliputi: (1) molekul sinyal peptida (*peptide signal*, PS) sebagai *autoinducer*; (2) satu komponen sirkuit yang menyintesis molekul sinyal; dan (3) dua komponen sirkuit yang mendeteksi adanya molekul sinyal (sensor kinase, SK, dan *response regulator*, RR). Model umum untuk kuorum sensing pada bakteri Gram positif ditunjukkan pada Gambar 2. Protein yang mengandung sinyal peptida akan membelah untuk memproduksi sinyal peptida.



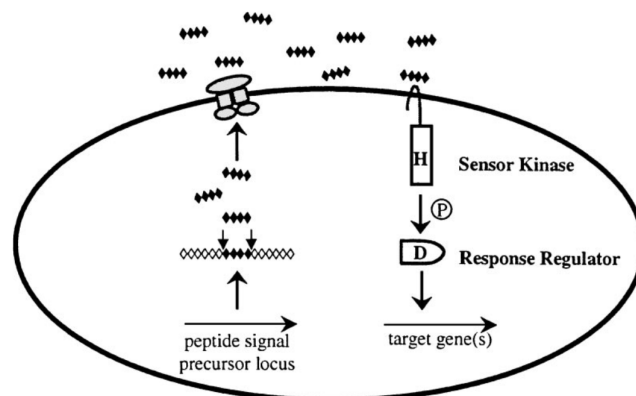
Gambar 1. Mekanisme kuorum sensing pada bakteri Gram negatif (Loh *et al.*, 2002).

Berbeda dengan bakteri Gram negatif, molekul sinyal yang diproduksi oleh bakteri Gram positif tidak didifusikan secara bebas melalui membran sel, tetapi dikeluarkan melalui *ATP binding cassette (ABC) transporter*. Ketika batas konsentrasi molekul sinyal di lingkungan telah tercapai, sensor kinase akan mendeteksi keberadaan molekul sinyal untuk kemudian mengikat dan mengantarkan molekul tersebut ke *phosphorylate response regulator* (Miller & Bassler, 2001; Taga & Bassler, 2003).

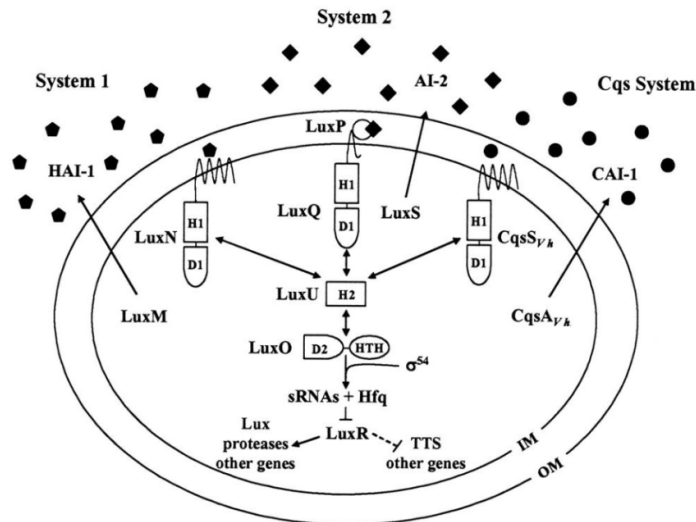
Kuorum sensing pada *Vibrio harveyi*

Vibrio harveyi memiliki mekanisme kuorum sensing yang berbeda dengan kelompok bakteri Gram negatif lainnya. Bakteri ini mempunyai sistem kuorum sensing melalui banyak alur (*multi-channel*) serta sirkuit Lux. Model umum untuk proses kuorum sensing pada *V. harveyi* ditunjukkan pada Gambar 3. *V. harveyi* dapat menyintesis tiga *autoinducer*, yaitu: (1)

harveyi autoinducer 1 (HAI-1); (2) *harveyi autoinducer 2 (AI-2)*, dan (3) *cholerae autoinducer 1 (CAI-1)* (Miller dan Bassler, 2001; Henke dan Bassler, 2004; Milton, 2006). HAI-1 adalah *N-(3-hydroxybutanoyl)-homoserine lactone (HSL)* yang disintesis oleh protein LuxM dan dideteksi oleh LuxN (Cao dan Meighen, 1989, Bassler *et al.*, 1997). AI-2 adalah *furanosyl borate diester* yang disintesis oleh protein LuxS (Chen *et al.*, 2002). AI-2 mempunyai peran yang penting dalam mengatur produksi faktor virulensi, pembentukan biofilm, dan respons terhadap stres pada beberapa *Vibrio spp.* (McDougald *et al.*, 2006; Croxatto *et al.*, 2002; Larsen *et al.*, 2004). CAI-1 adalah *(S)-3-hydroxytridecan-4-one* yang diproduksi oleh CqsA (*cholerae quorum sensing autoinducer*) (Higgins *et al.*, 2007). Ketiga *autoinducer* ini didifusikan ke permukaan sel yang selanjutnya akan mengaktifkan atau menonaktifkan gen target ekspresi.



Gambar 2. Mekanisme kuorum sensing pada bakteri Gram positif. H menunjukkan autofosforilasi sensor kinase pada residu histidin, P adalah proses fosforilasi yang terjadi secara terus menerus dan D fosforilasi pada residu aspartat (Miller & Bassler, 2001).



Gambar 3. Model kuorum sensing *Vibrio harveyi* (Henke & Bassler, 2004).

Intervensi kuorum sensing bakteri untuk pengendalian penyakit bakterial dalam akuakultur

Berdasarkan uraian mekanisme ekspresi gen bakteri termasuk di antaranya faktor-faktor virulensi di atas, maka intervensi atau penghambatan proses kuorum sensing bakteri terutama bakteri patogen dapat menjadi salah satu strategi yang efektif dalam pengendalian penyakit-penyakit bakterial dalam akuakultur. Menurut Defoirdt *et al.* (2004), teknik intervensi kuorum sensing yang telah dikembangkan meliputi: (1) penghambatan biosintesis molekul sinyal, (2) aplikasi kuorum sensing antagonis (baik yang alami maupun sintetik), (3) inaktivasi sinyal kuorum sensing secara kimiawi, (4) biodegradasi molekul sinyal, dan (5) aplikasi kuorum sensing agonis. Dari kelima teknik intervensi tersebut, diketahui bahwa mikroalga dan makroalga (rumput laut) dapat memiliki peran yang cukup penting dalam menghambat mekanisme kuorum sensing bakteri-bakteri patogen.

PENGARUH ALGA TERHADAP AKTIVITAS KUORUM SENSING BAKTERI DALAM SISTEM AKUAKULTUR

Makroalga (rumput laut)

Secara alami, beberapa jenis makroalga memiliki kemampuan untuk menghambat *biofouling* dengan mekanisme *antifouling* melalui ekskresi metabolit sekunder (Keats

et al., 1997). Laporan pertama mengenai makroalga yang memproduksi metabolit sekunder yang secara spesifik dapat mengganggu sinyal kuorum sensing pada bakteri adalah jenis makroalga dari Australia, *Delisea pulchra* (Givskov *et al.*, 1996). Pada penelitian tersebut, *Delisea pulchra* diketahui dapat memproduksi *halogenated furanone* yang mempunyai struktur yang mirip dengan molekul sinyal bakteri Gram negatif, *N-acyl homoserine lactone* (AHL). Karena kemiripan struktur ini, *furanone* dapat mengikat protein reseptor sinyal dalam sel bakteri, protein LuxR, tanpa mengaktifkannya, sehingga proses kuorum sensing berikutnya yaitu aktivasi gen target tidak terjadi, dan fenotipe tidak dapat terekspresikan.

Beberapa peneliti menemukan bahwa senyawa *furanone* dapat berfungsi sebagai penghambat pembentukan biofilm, atau sebagai *antibiofouling* (De Nys *et al.*, 1993), penghambat biopendar (Defoirdt *et al.*, 2006), dan penghambat sintesis eksoenzim (Kjelleberg *et al.*, 1997) tanpa menghambat pertumbuhan bakteri (Kjelleberg *et al.*, 1997; Janssens *et al.*, 2008). Biopendar dari *V. harveyi* dapat diturunkan atau dihambat oleh *furanone* pada dosis tertentu dan tergantung juga dengan strain *Vibrio* (Defoirdt *et al.*, 2006, 2007). Sementara itu, Kim *et al.* (2007) menemukan tiga senyawa penghambat kuorum sensing pada bakteri Gram negatif AHLs (AHL inhibitors) yang diisolasi dari

alga merah *Ahnfeltiopsis flabelliformis*. Berbeda dengan *furanone* yang memiliki struktur mirip AHL, senyawa AHL *inhibitors* yang ditemukan pada jenis alga merah ini adalah α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-glycerol (*floroside*), *betonicine* dan asam isotionik; tidak memiliki kemiripan struktur dengan AHL.

Bentuk lain interaksi antara alga dan bakteri ditemukan pada jenis rumput laut lain, di mana aktivitas kuorum sensing diketahui mendorong pertumbuhan dari makroalga. Sebagai contoh, rumput laut hijau *Ulva* sp., memanfaatkan AHL dari *Vibrio anguillarum* sebagai substrat penempelan zoosporanya (Tait *et al.*, 2005). AHL berperan besar sebagai kemoatraktan untuk zoosporanya (Wheeler *et al.*, 2006). Penempelan zoospora pada biofilm dari *V. anguillarum* juga menunjukkan hubungan antara kepadatan sel bakteri yang tinggi dengan kemampuan alga untuk memanfaatkan sistem sensor bakteri (Joint *et al.*, 2002; Tait *et al.*, 2005). Tait *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa jumlah zoospora di biofilm yang masih berkembang lebih tinggi daripada zoospora yang menempel pada biofilm yang mati. Hal ini menunjukkan bahwa AHL diduga digunakan sebagai sumber makanan bagi zoospora.

Mikroalga

Mikroalga memiliki peran yang cukup penting dalam kegiatan akuakultur. Selain sebagai pakan alami, mikroalga juga dapat berfungsi sebagai *water conditioner* yang berfungsi untuk menjaga kestabilan kualitas air serta mikrokomunitas yang ada dalam air. Beberapa penelitian melaporkan bahwa mikroalga memiliki kemampuan untuk mengontrol komunitas mikrobiologi dalam suatu lingkungan perairan dengan berbagai mekanisme, baik yang menghambat atau mendukung pertumbuhan suatu mikroorganisme lainnya.

Penelitian yang dilakukan oleh Teplitski *et al.* (2004) menunjukkan bahwa mikroalga air tawar *Chlamydomonas reinhardtii* dapat menyekresi kuorum sensing antagonis yang menyerupai sinyal molekuler bakteri AHL. Namun demikian, hingga saat

ini jenis senyawa kimia yang dieksresikan oleh mikroalga ini masih dalam penelitian. Supernatan alga *Chlamydomonas reinhardtii* CCAP11/32, *Chlamydomonas reinhardtii* CCAP11/45, *Chlorella vulgaris* CCAP211/12, *Chlorella emersonii* CCAP211/11N, dan *Chlorella saccarophila* CCAP211/48 dapat menghambat produksi aktivitas kuorum sensing tanpa menghambat pertumbuhan bakteri. Kelima spesies tersebut dapat menghambat: violasein (pigmen anti bakteri) pada *Chromobacterium violaceum* CV026, protein berpendar hijau pada *Escherichia coli* JB523, biopendar pada *Vibrio harveyi* BB120 dan *Vibrio campbellii* LMG21363, dan aktivitas protease pada *Vibrio anguillarum* LMG 4411 (Natrah *et al.*, 2009). Supernatan yang dikumpulkan dari kultur empat strain *Nannochloropsis* pada fase pertumbuhan eksponensial: *Nannochloropsis gaditana* CCAP849/5, *Nannochloropsis oculata* CCAP849/1, *Nannochloropsis* sp. 211/78, dan *Nannochloropsis* sp. 849/9 ditemukan dapat menghambat produksi protease dari *Vibrio anguillarum* LMG 4411 (Wiyoto, 2009) yang berperan dalam infeksi pada ikan salmon Atlantik (*Salmo salar*) (Denkin & Nelson, 2004; Miyoshi, 2006).

KESIMPULAN

Mekanisme kuorum sensing bakteri berdasarkan media kuorum sensing dapat dibagi menjadi 3, yaitu bakteri Gram negatif melalui AHL, Gram positif melalui peptida, sedangkan bakteri negatif *Vibrio harveyi* melalui banyak alur dengan HAI-1, AI-2, dan CAI-1. Ketika sinyal-sinyal molekuler tersebut mencapai batas yang dapat dideteksi, maka ekspresi gen terstimulasi untuk memproduksi faktor virulen yang dapat menyebabkan penyakit pada organisme akuatik. Intervensi kuorum sensing dapat dilakukan dengan cara menghambat biosintesis sinyal molekuler, aplikasi kuorum sensing antagonis, menonaktifkan sinyal kuorum sensing secara kimia, biodegradasi molekuler sinyal dan aplikasi molekuler sinyal agonis. Beberapa jenis alga dapat mengganggu kuorum

sensing dengan cara menghambat atau merangsang aktivitas kuorum sensing tanpa menghambat pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Austin, B., Zhang, X.H. 2006. *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. *Lett Appl Microbiol* 43, 119–124.
- Bassler, B.L., Greenberg, E.P., Steven, A.M. 1997. Cross-species induction of luminescence in the quorum sensing bacterium *Vibrio harveyi*. *J. Bacteriol.* 179, 4043–4045.
- Blosser, R.S., Gray, K.M. 2000. Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for *N*-acyl homoserine lactone autoinducers. *Journal of Microbiological Methods* 40, 47–55.
- Cao, J.G., Meighen, E.A. 1989. Purification and structural identification of an autoinducer for the luminescence sistem of *Vibrio harveyi*. *Journal Biological and Chemistry* 264, 21670-21676.
- Chen, X., Schauder, S., Potier, N., Van Dorselaer A., Pelczar, I., Bassler, B.L., Hughson, F.M. 2002. Structural identification of a bacterial quorum sensing *signal containing boron*. *Nature* 415, 545–549.
- Chhabra, S.R., Phillip, B., Eberl, L., Givskov, M., Williams, P., Cámara, M. 2005. Extracellular communication in bacteria. *Topics in Current Chemistry* 240, 279–315.
- Corre, V.L.Jr., Janeo, R.L., Caipang, C.M.A., Calpe, A.T. 1999. Sustainable shrimp culture techniques: use of probiotics and reservoirs with “green water.” Philippine Council for Aquatic and Marine Research and Development, Los Baños, Laguna, and University of the Philippines Visayas, Miag-ao, Iloilo 32p.
- Cremen, M.C.M., Martinez-Goss, M.R., Corre, Jr.V.L., Azanza, R.V. 2007. Phytoplankton bloom in commercial shrimp ponds using green-water technology. *J Appl Phycol* 19, 615–624.
- Croxatto, A., Chalker, V.J., Lauritz, J., Jass, J., Hardman, A., Williams, P., Camara, M., Milton, D.L. 2002. VanT, a homologue of *Vibrio harveyi* LuxR, regulates serine, metalloprotease, pigment, and biofilm production in *Vibrio anguillarum*. *J Bacteriol* 184, 1617-1629.
- De Kievit, T.R. Iglewski, B.H. 2000. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect Immun*, 68:4839–49.
- De Nys, R., Wright, A.D., König, G.M. dan Sticher, O. 1993. New halogenated furanones from the marine alga *Delisea pulchra* (cf. *fimbriata*). *Tetrahedron* 49:11213–11220.
- Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P. dan Verstraete, W. 2004. Disruption of Bacterial Quorum Sensing: unexplored strategy to fight infections in aquaculture. *Aquaculture* 240, 69–88.
- Defoirdt, T., Crab, R., Wood, T.K., Sorgeloos, P., Verstraete, W., Bossier, P. 2006. Quorum sensing-disrupting brominated furanones protect the gnotobiotic brine shrimp *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio harveyi*, *Vibrio campbellii*, and *Vibrio parahaemolyticus* isolates. *Appl Environ Microbiol* 72, 6419–6423.
- Defoirdt, T., Miyamoto, C.M., Wood, T.K., Meighen, E.A., Sorgeloos, P., Verstraete, W., Bossier, P. 2007. The natural furanone (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3butyl-2(5H)-furanone disrupts quorum sensing-regulated gene expression in *Vibrio harveyi* by decreasing the DNA-binding activity of the transcriptional regulator protein luxR. *Environmental Microbiology* 9, 2486-2495.
- Denkin, S.M., Nelson, D.R. 2004. Regulation of *Vibrio anguillarum* EmpA metal-loprotease expression and its role in virulence. *Appl Environ Microbiol* 70, 4193-4204.
- Eberl, L., Winson, M.K., Sternberg, C., Stewart, G.S.A.B., Christiansen, G., Chhabra, S.R., Bycroft, B., Williams, P., Molin, S., Givskov, M. 1996. Involvement of *N*-acyl-L-homoserine

- lactone autoinducers in controlling the multicellular behaviour of *Serratia liquefaciens*. *Mol Microbiol* 20, 127–36.
- FAO, 2009. The state of world fisheries and aquaculture 2006. FAO, Rome.
- Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180, 147–165.
- Givskov, M., de Nys, R., Manefield, M., Gram, L., Maximilien, R., Eberl, L., Molin, S., Steinberg, P.D., Kjelleberg, S. 1996. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. *J Bacteriol* 178, 6618–6622.
- Grommen, R., Verstraete, W. 2002. Environmental biotechnology: the ongoing quest. *J. Biotechnol.* 98, 113–123.
- Henke, J.M., Bassler, B.L. 2004. Three parallel quorum sensing systems regulate gene expression in *Vibrio harveyi*. *J. Bacteriol.* 186, 6902–6914.
- Higgins, D.A., Pomianek, M.E., Kraml, C.M., Taylor, R.K., Semmelhack, M.F., Bassler, B.L. 2007. The major *Vibrio cholera* autoinducer and its role in virulence factor production. *Nature* 450, 883–886.
- Janssens, J.C.A., Steenackers, H., Robijns, S., Gellens, E., Levin, J., Zhao, H., Hermans, K., De Coster, D., Verhoeven, T.L., Marchal, K., Vanderleyden, J., De Vos, D.E., De Keersmaecker, S.C.J. 2008. Brominated furanones inhibit biofilm formation by *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 6639–6648.
- Joint, I., Tait, K., Callow, M.E., Callow, J.E., Milton, D., Williams, P., Cámara, M. 2002. Cell-to-cell communication across the prokaryote–eukaryote boundary. *Science* 298, 1207.
- Keats, D.W., Knight, M.A., Pueschel, C.M. 1997. Antifouling effects of epithelial shedding in three crustose coralline algae (Rhodophyta, Corallinales) on a coral reef. *J Exp Mar Biol Ecol* 213, 281–293.
- Kim, J.S., Kim, Y.H., Seo, Y.W., Park, S. 2007. Quorum sensing inhibitors from the red alga, *Ahnfeltiopsis flabelliformis*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 12, 308–311.
- Kim, Y.H., Kim, Y.H., Kim, J.S., Park, S. 2005. Development of sensitive bioassay method for quorum sensing inhibitor screening using recombinant *Agrobacterium tumefaciens*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 10, 322–328.
- Kjelleberg, S., Steinberg, P., Givskov, M., Gram, L., Manefield, M., de Nys, R. 1997. Do marine natural products interfere with prokaryotic AHL regulatory systems? *Aquatic Microbial Ecology* 13, 85–93.
- Larsen, M.H., Blackburn, N., Larsen, J.L., Olsen, J.E. 2004. Influences of temperature salinity and starvation on the motility and chemotactic response of *Vibrio anguillarum*. *Microbiol.* 150, 1283–1290.
- Loh, J., Pierson, E.A., Pierson, L.S., Stacey, G., Chatterjee, A. 2002. Quorum sensing in plant-associated bacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 285–290.
- McClellan, K.H., Winson, M.K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S.R., Camara, M., Daykin, M., Lamb, J.H., Swift, S., Bycroft, B.W., Stewart, G.S.A.B., Williams, P. 1997. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones. *Microbiol.* 143, 3703–3711.
- McDougald, D., Lin, W.H., Rice, S.A., Kjelleberg, S. 2006. The role of quorum sensing and the effect of environmental conditions on biofilm formation by strains of *Vibrio vulnificus*. *Biofouling*, 22, 161–172.
- Miller, M.B., Bassler, B.L. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 165–199.
- Milton, D.L. 2006. Quorum sensing in vibrios: complexity for diversification. *Int. J. Med. Microbiol.* 296, 61–71.
- Miyoshi, S. 2006. *Vibrio vulnificus* infection and metalloprotease. *J. Dermatol.* 33, 589–595.
- Morin, D., Grasland, B., Valle´e-Re´hel, K., Dufau, C., Haras, D. 2003. On-line high-

- performance liquid chromatography–mass spectrometric detection and quantification of *N*-acylhomoserine lactones, quorum sensing signal molecules, in the presence of biological matrices. *Journal of Chromatography A* 1002, 79–92.
- Natrah, F.M.I., Defoirdt, T., Wiyoto, Sorgeloos, P., Bossier, P. 2009. Effect of fresh water microalgae on quorum sensing disruption activities. *Aquaculture Europe seminar*. Norway.
- Nakayama, T., Nomura, N., Matsumura, M. 2005. Analysis of the relationship between luminescence and toxicity of *Vibrio carchariae* pathogenic to shrimp. *Fisheries science* 71, 1236–1242.
- Palmer, P.J., Burke, M.J., Palmer, C.J., Burke, J.B., 2007. Developments in controlled green-water larval culture technologies for estuarine fishes in Queensland, Australia and elsewhere. *Aquaculture* 272, 1–21.
- Pillay, T.V.R. 2004. *Aquaculture and the environment*. UK, Blackwell Publishing Ltd, 195p.
- Sakai, M. 1999. Current status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172, 63–92.
- Stickney, R.R. 2005. *Aquaculture an introduction text*. UK, Biddles Ltd, Kings Lynn, 265p.
- Swift, S., Downie, J.A., Whitehead, N., Barnard, A.M.L., Salmond, G.P.C., Williams, P. 2001. Quorum sensing as a population density dependent determination of bacterial physiology. *Adv. Microb. Physiol.* 45, 199–270.
- Taga, M.E., Bassler, B.L. 2003. Chemical communication among bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 100, 14549–14554.
- Tait, K., Joint, I., Daykin, M., Milton, D.L., Williams, P., Camara, M. 2005. Disruption of quorum sensing in seawater abolishes attraction of zoospores of the green alga *Ulva* to bacterial biofilms. *Environmental Microbiology* 7, 229–240.
- Tan, M.W., Rahme, L.G., Sternberg, J.A., Tompkins, R.G., Ausubel, F.M. 1999. *Pseudomonas aeruginosa* killing of *Caenorhabditis elegans* used to identify *P. aeruginosa* virulence factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 2408–2413.
- Tendencia, E.A., dela Peña, M.R., Choresca, Jr.C.H. 2006. Effect of shrimp biomass and feeding on the anti-*Vibrio harveyi* activity of *Tilapia* sp. in a simulated shrimp–tilapia polyculture system. *Aquaculture* 253, 154–162.
- Teplitski, M., Chen, H., Rajamani, S., Gao, M., Merighi, M., Sayre, R.T., Robinson, J.B., Rolfe, B.G., Bauer, W.D. 2004. *Chlamydomonas reinhardtii* secretes compounds that mimic bacterial signals and interfere with quorum sensing regulation in bacteria. *Plant Physiology* 134, 137–146.
- Thompson, F.L., Iida, T., Swings, J. 2004. Biodiversity of *Vibrios*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 68, 403–431.
- Wheeler, G.L., Tait, K., Taylor, A., Brownlee, C., Joint, I. 2006. Acyl-homoserine lactones modulate the settlement rate of zoospores of the marine alga *Ulva intestinalis* via a novel chemokinetic mechanism. *Plant Cell Environ.* 29, 608–618.
- Wiyoto. 2009. The effect of different axenic microalgae on quorum sensing activity. Thesis, Ghent University. Belgium.