Journal of Tropical Marine Science Vol.6(2):131-136, Oktober 2023 ISSN : 2623-2227 E-ISSN : 2623-2235

POTENSI ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK POLYCHAETA *Namanereis* sp.

POTENCY ANTIBACTERIA FROM ECTRACT OF POLYCHAETA *Namanereis* sp.

Ni Putu Purba Nava Vidyadhari Putri, Widianingsih Widianingsih*, Suryono, Retno Hartati

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia
Email: widia2506@gmail.com

ABSTRAK

Namanereis sp. diklasifikasikan kedalam Famili Nereididae, Kelas Polychaeta. Penelitian tentang Polychaeta di Indonesia masih merupakan penelitian dasar yang meliputi taksonomi, ekologi serta struktur komunitas. Penelitian tentang kandungan nutrisi, pakan alami dan kandungan bahan aktif masih jarang dilakukan. Pada penelitian ini, dilakukan upaya penelitian tentang potensi antibakteri dari ekstrak *Namanereis sp.* dengan pelarut *Etil Acetate*. Oleh karena itu penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak *Namanereis* sp terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila, Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio harveyi*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *experiment laboratorium*. Perlakukan konsentrasi ekstraksi *Namanereis sp.* Pada ekstrasi dengan pelarut etil acetate dipergunakan perbandingan 1:4. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *A. hydrophila, V. parahaemolyticus, dan V. harveyi* yang diperoleh dari BBPAP Jepara. Berdasarkan hasil penelitian, zona hambatan tertinggi yang terbentuk untuk *V. harvei* pada konsentrasi 100% adalah sebesar 3.18 ± 0.33cm^2, zona hambatan untuk *A. hydrophila* adalah 2,96 ± 0,45cm^2 dan zona hambatan yang terbentuk untuk bakteri *V. parahaemolyticus* adalah 2,7 ± 0.91cm^2. Penelitian ini menunjukkan ekstrasi *Namaneries* sp dengan menggunakan pelarut *etil acetate* dapat membentuk zona hambatan untuk setiap perlakukan konsentrasi ekstrak *Namanereis* sp yang diberikan (6,25, 12,5. 25, 50 dan 100%).

Kata kunci *: Antibakteri, Aeromonas hydrophila,Vibrio parahaemolyticus, Vibrio harveyi*

ABSTRACT

Namanereis sp. is classified into the Family Nereididae, class Polychaeta. The research on Polychaeta in Indonesia, is still basic research covering taxonomy, ecology and community structure. The research on nutritional content, natural feed and active ingredient content are still rarely done. This research was conducted on the antibacterial agent of *Namanereis* sp extract with Ethyl Acetate as solvent against *Aeromonas hydrophila, Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* bacteria. Therefore, this study aimed to determine the antibacterial activity of the *Namanereis* sp extract against *A. hydrophila, V. parahaemolyticus* and *V. harveyi* bacteria. The method used in this research was laboratory experiment. The treatment was carried out by treating the extraction concentration of *Namanereis sp.* 100 grams of wet sample of *Namanereis sp.* was extracted with 400 mL of *Ethyl Acetate* as a solvent. The bacteria used in this study were *A. hydropila*, *V. parahaemolyticus* and *V. harveyi* which were obtained from BBPAP Jepara. Based on the results of the study, the inhibition zone formed for *V. harveyi* at a concentration of 100% was 3.18 ± 0.32 cm^2, the inhibition zone for *A. hydrophila* was 2,96 ± 0,45 cm^2 and the inhibition zone formed for *V. parahaemolyticus* was 2,7 ± 0.91 cm^2. It can be concluded that the extraction of *Namaneries sp*. using ethyl acetate solvent can inhibit zones for each given concentration treatment (6,25, 12.5, 25, 50 and 100%).

Keywords *: Aeromonas hydrophila, Antibacteria Vibrio parahaemolyticus, Vibrio harveyi*

PENDAHULUAN

Polychaeta (cacing laut) adalah salah satu sumberdaya pesisir yang banyak melimpah di perairan Indonesia. Beberapa spesies dari genus Namaneries dapat hidup pada air tawar seperti pada gua-gua kapur dan pada perairan payau (Glasby *et al*., 2014). Pemanfaatan Polychaeta masih terbatas sebagai umpan ikan. Pada ekosistem bentik, Polychaeta memiliki peranan yang penting baik itu sebagai sumber makanan bagi organisme yang lebih besar juga berperanan sebagai penstabil sedimen (Kohlenbach, *et al*.,

Diterima 27 Januari 2023; Disetujui 15 September 2023 DOI: https://doi.org/10.33019/jour.trop.mar.sci.v6i2.3810
*corresponding author © Ilmu Kelautan, Universitas Bangka Belitung
https://journal.ubb.ac.id/index.php/jtms

2023). *Family Nereididae* adalah salah satu spesies dari Polychaeta yang banyak ditemukan di Perairan Indonesia baik di perairan dangkal maupun dalam (Widianwari dan Widianingsih, 2011; Glasby *et al*., 2014).

Beberapa genus yang termasuk dalam Family Nereididae memiliki mekasisme kemikal sensori yang mampu untuk mendeteksi keberadaan mukus yang dikeluarkan oleh ikan (Schaum *et al,* 2015). Selanjutnya jenis Polychaeta (*Perinereis* sp) mampu memberikan efek perangsangan sel telur dan peningkatan ovulasi dari udang *Penaeus monodon* (Meunpol *et al*., 2007 dan Meunpol *et al*., 2010). Hal ini menunjukkan bahwa Famili Nereididae dapat dimanfaatkan sebagai sumber pakan alami bagi pemeliharaan udang *Penaeus monodon*. Besarnya kandungan protein pada Perinereis sp (Famili Nereididae) yang memiliki nilai di atas 50% menunjukkan bahwa Perinereis sp dapat dijadikan sumber pakan bagi pemeliharaan udang Penaeus (Meunpol *et al*., 2005). Kecuali mengandung nilai gizi yang tinggi pada beberapa spesies Polychaeta, beberapa spesies juga mampu dijadikan agen antibakteria (Coutinho *et al*, 2017).

Bakteri adalah salah satu penyebab penyakit pada manusia, hewan khususnya udang. Bakteri *Aeromonas hydrophila, Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* merupakan bakteri yang merugikan bagi budidaya udang, karena dapat menyebabkan kematian pada udang. Upaya untuk mencari agen antibakteri dari alam terus dilakukan untuk menekan dampak kerugian jika memakai antibiotik kimia (Mayer *et al*., 2011). Polychaeta *Eunice siciliences* mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 100 ug/ml (Jekti *et al*., 2008). Selanjutnya Pan (2019) mengemukakan bahwa *Perinereis* sp mengandung senyawa Perinerin (senyawa yang tersusun dari 51 residu asam amino yang bersifat hidrobilik. *Perinereis* sp mampu menujukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Pan. 2019).

Secara taksonomi, *Namanereis*, sp *Perinereis sp*. dan *Nereis sp.* termasuk dalam famili yang sama yaitu Nereididae, oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak *Namanereis* sp terhadap ketiga bakteri yang menyebabkan kematian pada udang seperti *Aeromonas hydropils, Vibrio parahaemolyticus,* dan *Vibrio harveyi*.

METODE PENELITIAN

Cacing laut *Namanereis* sp. didapatkan dari perairan Demak, Jawa Tengah, Indonesia. Cacing laut terpilih diambil untuk diamati morfolologinya di bawah mikroskop stereo. Cacing laut diawetkan dengan formalin 10% yang telah dicampur dengan pewarna *rose bengal* 0,025%. Sampel kemudian disimpan dalam botol sampel berisi alkohol 70% (Apriyanti dan Tumiran, 2018).

Ekstrasi Sampel

Alat dan bahan penelitian disterilisasi menggunakan autoklaf merk Hirayama HVE 50 pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit. Alat dan bahan yang telah disterilkan dapat langsung digunakan atau disimpan untuk menghindari terkontaminasi (Ramadhani dan Wahyuni, 2020).

Ekstraksi *Namanereis* sp. mengacu pada Erviani *et al.* (2019) dengan modifikasi. Sebelum ekstraksi sampel dicuci dengan air tawar secara mengalir. Setelah itu, 100 gram sampel basah Namanereis direndam dalam 400 ml Larutan Etil Acetate. Ekstraksi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruangan. Larutan hasil ekstraksi dihomogenkan dengan bantuan *orbital shaker.* Setelah 24 jam, rendaman disaring menggunakan kertas saring. filtrat yang didapatkan dan dipisahkan pelarutnya dengan *rotary evaporator.* Hasil ekstrak sebanyak 7 ml di *freeze dry* 24 jam dahulu, untuk memastikan tidak ada pelarut yang tersisa.

Pembuatan Media Kultur Bakteri

Media NA (Merck) dalam penelitian digunakan sebagai media uji antibakteri. Media NA untuk bakteri air laut (*V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*) dibuat dengan melarutkan 22 gr NA ke dalam 1 L air laut yang telah disterilkan, sedangkan untuk bakteri air tawar/payau (*Aeromonas hydrophilas)* dibuat dengan melarutkan 22 gr NA ke dalam 1 L akuades. Erlenmeyer untuk pembuatan media ditutup rapat dengan kapas, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan dengan *magnetic stirrer.* Media NA disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit.

Media TCBS dibuat dengan melarutkan 88,8 g TCBS (Oxoid) dalam 1 L aquades. Erlenmeyer untuk pembuatan media ditutup rapat dengan kapas, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan dengan *magnetic stirrer.* Media TCBS selanjutnya disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit.(Chen et al., 2012) Media TCBS dalam penelitian digunakan untuk regenerasi bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi.* Media GSP (Merck) dibuat dengan melarutkan 45,0 g GSP dalam 1 L aquades.

Erlenmeyer untuk pembuatan media ditutup rapat dengan kapas, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan dengan *magnetic stirrer.* Media GSP selanjutnya disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit. Media GSP dalam penelitian digunakan untuk regenerasi bakteri *A. hydrophilas (*Chiang *et al.,* 2010*)*.

Larutan pengenceran *Trisalt* dibuat dengan melarutkan KCl 0,75 g , $MgSO_4$ 6,94 g, dan NaCl 23,2 g dalam 1 L aquades. (Kharisma dan Manan, 2012). Erlenmeyer untuk pembuatan *trisalt* ditutup rapat dengan kapas, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan dengan *magnetic stirrer.* Selanjutnya larutan dituangkan sebanyak 10 ml per tabung reaksi bertutup. Tabung reaksi ditutup tidak terlalu rapat dimasukkan dalam plastik dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-Bauer teknik *disc diffusion*, mengacu pada Jekti *et al.* (2008) dengan modifikasi:

Bakteri uji yang akan digunakan disiapkan dengan metode *streak*/ penggoresan, tujuannya untuk mendapatkan bentuk biakan murni atau koloni terpisah. Isolat bakteri dari Lab MKHA BBPBAP Jepara, diambil 1 ose secara aseptis, di*streak* pola zig zag dari rapat hingga renggang, 3-4 kuadran di cawan petri. Cawan petri yang sudah di*streak* dimasukkan dalam plastik dengan kondisi terbalik kemudian diinkubasi selama 1x24 jam. Bakteri V. *parahaemolyticus* dan V. *harveyi* disiapkan di media selektif TCBS, sedangkan untuk bakteri *Aeromonas hydrophilas* disiapkan di media selektif GSP.

Setelah 24 jam, bakteri diencerkan pada larutan pengenceran *trisalt* (untuk bakteri air laut) dan aqades (untuk bakteri air tawar) dengan menyamakan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5 (10^7/ml). Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 koloni bakteri dahulu, kemudian dimasukkan dalam larutan pengenceran dan di*vortex* atau dihomogenkan. Selanjutnya, dilakukan penambahan koloni kembali hingga sama kekeruhannya dengan standar Mc Farland. Terakhir, *cotton swab* dapat ditambahkan ke larutan pengenceran. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Variabel konsentrasi dibuat di dalam *microtube* yang kemudian ditambahkan *paper dics*. Perendaman paper disc selama 5 menit.

Suspensi bakteri *A. hydrophila* di*swab* merata pada media NA dan ditunggu selama 3 menit. Kemudian *paper dics* yang telah direndam ditambahkan ke cawan petri. Setiap petri, 1 konsentrasi dengan 3 pengulangan. Cara di atas diulangi kembali untuk bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi.* Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah enrofloxasin 5µg, sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades. Setelah inkubasi 1 x 24 jam, hasil uji diamati dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar *paper dics.*

HASIL DAN PEMBAHASAN

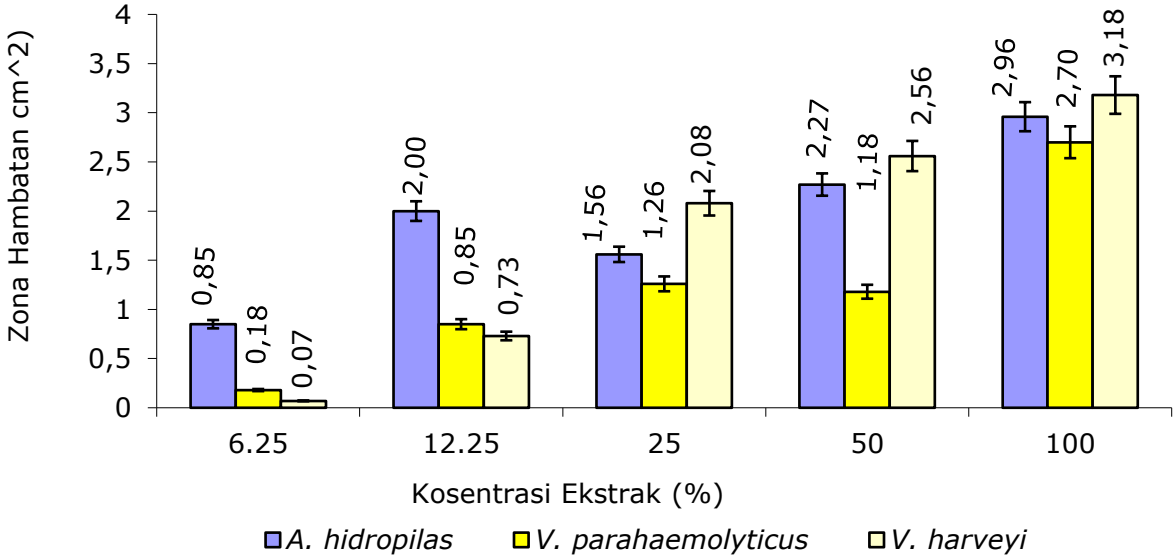
Pengamatan morfologi dilakukan untuk mengetahui kenampakan morfologi hewan uji dan melakukan identifikasi tingkat genus. Bagian-bagian yang teramati di bawah mikroskop diantaranya sepasang parapodia dengan setae di setiap segmen tubuh, 2 pasang mata yang berukuran kecil, 2 palp. (Gambar 1.)

Berdasarkan data di atas, menunjukkan bahwa aktivitas antibateri ekstrak *Namanereis* sp dengan konsentrasi 100, 50 dan 25% paling efektif untuk mematikan *V. harveyi*, lalu *A. hydrophila* dan yang terkahir adalah *V. parahaemolyticus.* (Gambar 2).

a.

b.

Gambar 1. Morfologi bagian kepala Namanereis sp (a) bagian dorsal; (b) bagian ventral



Gambar 2. Zona hambatan (cm^2) yang terbentuk pada aktivitas antibakteri dari ekstrak *Namanereis* sp.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kosentrasi 100% memiliki zona hambatan yang lebih besar dibandingkan konsentrasi 6,25, .12,50, 25, dan 50%. Hal ini jelas menunjukkan bahwa ekstrak *Namenereis* sp memiliki zat antibakteri terhadap *A. hydrophilas, V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*. Selanjutnya, ekstrak *Namanereis* sp dengan pelarut *etil acetate* menunjukkan zona hambatan untuk *E. coli* sebesar 13 ± 3,05 mm dan zona hambatan yang terbentuk untuk *S. aureus* sebesar 14 ± 3,04 mm (Pringgenies *et al.,* 2021). Nilai zona hambatan yang terbentuk pada ekstrak *Perinereis cultrifera* dengan pelarut methanol menunjukkan nilai 8,0 mm bagi *S. aureus* (Elayaraja *et al.,* 2019). Ini juga membuktikan bahwa pelarut etil acetate mempunyai kemampuan lebih tinggi dalam ekstraksi Polychaeta dibanding-kan dengan pelarut lainnya seperti methanol, air dan *N-Hexane.*

Berdasarkan pengamatan pada konsentrasi 100%, diameter zona hambatan yang terbentuk untuk bakteri *V. harvey*i adalah 21±1,04 mm, untuk bakteri *V. parahaemolyticus* sebesar 19,33 ± 3,06 mm, dan untuk biakan baketri *A. hydrophila* 20,33 ± 0,58 mm (Tabel 1). Diameter zona hambatan yang terbentuk untuk *V. harveyi* lebih besar daripada *A. hidrophila* dan *V. parahaemolyticus* untuk semua konsentrasi dari ekstrak *Namanereis* sp yang diekstrasi dengan pelarut etil acetate. Hal ini sesuai dengan pengamatan Sutton *et al.*(2011) yang mengemukakan bahwa uji aktivitas antibakteri dikatakan sangat kuat apabila rata-rata diameter zona hambat lebih dari 20 mm, aktivitas kuat jika zona hambatnya antara 10-20 mm, aktivitas sedang jika diameter hambatnya antara 5-10 mm, dan aktivitas lemah jika zona hambatnya kurang dari 5 mm. Zona hambatan yang terbentuk untuk bakteri *A. hydrophila* dan *V. parahaemolyticus* lebih kecil, namun sudah menampakkan adanya aktivitas antibakteri yang terbentuk dengan melihat diamter zona hambatan yang terbentuk (Tabel 1.).

Zona hambatan yang terbentuk tidak cukup besar pada pada konsentrasi ekstrak *Namanereis* sp sebesar 6,25% pada biakan *V para*haemolyticus dan *V. harveyi* (7,67 ± 0,58 mm dan 6,67 ± 0,58 mm), hal ini tetap menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak *Namanereis* sp. Pada biakan *A. hydrophila,* pada konsentrasi ekstrak *Namaneris sp* senesar 6,25% menunjukkan diameter zona hambatan 11,00 ± 1,00 mm (Tabel 1). Ekstrak *Namanereis* sp dengan pelarut etil acetate mampu menghambat biakan bakteri *A hidrophila*, *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*. Bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri yang menyerang hewan air atau zoonosis. Bakteri ini dapat hidup di air payau hingga air tawar. Bakteri ini banyak dijumpai pada perairan budidaya seperti ikan dan udang. *A. hydrophila* adalah bakteri pathogen yang tumbuh dan berkembang dari banyaknya sisa pakan ikan dan udang yang tertumpuk. Bakteri *A. hydrophila* resisten terhadap berbagai kondisi lingkungan, seperti perubahan suhu, pH (tingkat keasaman) dan faktor yang mempengaruhi

Tabel 1. Zona hambatan (mm) yang dihasilkan dari aktivitas antibakteri dari ekstrak Namanereis sp dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *A. hidrophila, V. parahaemolyticus dan V. harveyi*

Jenis Bakteri	Diameter zona hambatan yang terbentuk (mm)						
	Ulangan	6,25%	12,50%	25%	50%	100%	K+
Aeromonas hydrophila	1	12	18	15	17	21	33
	2	11	15	15	18	20	
	3	13	18	16	19	20	
	Rata-rata	12	17	15,33	18	20,33	
	SD	1,00	1,73	0,58	1,00	0,58	
V. *parahaemolyticus*	1	8	12	15	13	20	20
	2	8	13	14	14	22	
	3	7	11	13	14	16	
	Rata-rata	7,67	12	14	13,67	19,33	
	SD	0,58	1,00	1,00	0,58	3,06	
V. *harveyi*	1	7	11	18	19	22	24
	2	7	11	17	20	20	
	3	6	12	17	18	21	
	Rata-rata	6,67	11,33	17,33	19	21	
	SD	0,58	0,58	0.58	1,00	1,04	

kelangsungan hidup (Awan *et al*., 2018). Dengan demikian pemberian pakan alami dengan cacing *Namanereis* sp baik untuk pertumbuhan udang dan ikan karena adanya ketahanan tubuh dari serangan bakteri *A. hydrophila.* banyak ditemukan pada udang Penaeus maupun udang Vannamei (Ghenem *et al*., 2017). Jika jumlah koloni dari bakteri tersebut melimpah pada tambnak udang maka akan mengakibatkan pertumbuhan dan produksi udang menjadi menurun dan menyebabkan kematian udang secara masal (Ghenem *et al*., 2017).

Bukan hanya serangan dari bakteri *A. hydrophila* namun juga serangan dari *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*. Bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi* termasuk dalam bakteri Gram-Negatif. *V. parahaemolyticus* dan *V. Harveyi.*

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dengan terbentuknya zona hambatan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Namaneries* sp dengan pelarut etil asetat mampu menghambatan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila, V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat berjalan dengan baik berkat bantuan para teknisi dari Laboratorium Biologi Laut serta dari pihak teknisi Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Aquatik (MKHA) BBPBAP Jepara.

REFERENSI

Apriyanti, D., & Tumiran. 2018. Teknik Identifikasi Polychaeta di Delta Mahakam, Kalimantan Timur. *Buletin Teknik Litkayasa*, 16(1): 49-50

Awan, F., Dong, Y., Wang, N., Liu, J., Ma, K., & Liu, Y. 2018. The fight for invincibility: environmental stress response mechanisms and *Aeromonas hydrophila*. *Microbial pathogenesis*, 116: 135-145.

Chen, M.X., Zeng, S., Li, H., & Chen, B. 2012. Composition and distribution of TCBS bacteria groups from sediments of Jiulong River estuary*. Acta Microbiologica Sinica,* 52(5): 637−644.

Chiang, B.Y., Chen, T.C., Pai, C.H., Chou, C.C., Chen, H.H., Ko, T.P., Hsu, W.H., Chang, C.Y., Wu, W.F., Wang, A.H.J. & Lin, C.H., 2010. Protein S-Thiolation by Glutathionylspermidine (GSP) The role of *Escherichia coli* Gsp Synthetase/ Amidase in Redox Regulation. *The Journal of Biological Chemistry,* 285(33): 25345-25353.

Coutinho, M.C.L., Valeria L.T. & Santos, C.S.G. 2017. A Review of "Polychaeta" Chemicals and thei Possible Ecological Role. *Journal of Echemical Ecology*, 44: 72-94, DOI : 10.1007/s10886-017-0915-z

Erviani, A.E., Arif, A.R. & Nurfahmiatunnisa. 2019. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Cacing Laut *Eunice siciliensis*. Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan, 10(1):1-7.

Elayaraja, E., Murugesan, P., Vijayalakshmi, S., & Balusubramanian, T. 2010. Antibacterial and Antifungal Activities of Polychaeta *Perinereis cultifera. Indian Journal of Marine Sciences,* 39(2):267-261.

Ghenem, L., Elhadi, N., Alzahrani, F., & Nishibuchi, M. 2017. *Vibrio parahaemolyticus*: a review on distribution, pathogenesis, virulence determinants and epidemiology. *Saudi Journal of Medicine & Medical Sciences*, *5*(2): p.93.

Jekti, D.S.D., Purwoko, A.A. & Muttaqin, Z. 2008. Nyale Cacing Laut Sebagai Bahan Antibakteri. *Jurnal Ilmu Dasar*, 9(1): 120-126.

Kharisma, A. & Manan, A. 2012. Kelimpahan Bakteri Vibrio sp. pada air pembesaran udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebagai dekteksi dini serangan penyakit vibriosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4(2): 129-134

Lapage, S.P, Shelton, J.E. & Mitchell, T.G. 1970. Methods in microbiology. Eds. Norris J.R and Ribbpons D.W. Vol. 3A. Academic Press. London. P.116.

Mayer, A.M.S., Rodriguez, A.D., Berlinck, R.G.S. & Fusetani, N. 2011. Marine Pharmacology in 2007-8: Marine Compound with Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti-inflammatory, Antimalarial, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antviral Activities; Affecting the Immune and Nervous System and Other Miscellaneous Mechanisms of Action. *Comparative biochemistry and Physiology Part C,* 153: 191 -222.

Meunpol, O., Iam-Pai, S., Suthikrai, W. & Piyatiratitivorakul, S. 2007. Identification of Progesterone and 17alfa-hydroxyprogesterone in polychaeta (*Perinereis* sp.) and the effects of hormone extracts on penaeid oocyte development in vitro. *Aquaculture*, 270 : 485–492. DOI : 10.1016/j.aquaculture. 2007.05.031.

Meunpol, O., Meejing, P., & Piyattiratitivorakul, S. 2005. Maturation Diet Based on Fatty Acid Content For Male *Penaeus monodon* (fabricius) Broodstock. *Aquaculture Research*, 36: 1216-1225.

Meunpol, O., Duangjai, E., Yoonpun, R. & Piyatiratitivorakul, S. 2010. Detection of Prostaglandin E_2 in Polychaete *Perinereis* sp. and its Effect on *Penaeus monodon* Oocyte Development in vitro. *Fisheries Science,* 76 : 281-286. DOI : 10.1007/s12562-009-0208-8

Pan, W.H. 2019. Two New Species of Nereidids (Annelida, Polychaeta) from Taiwan. *Zootaxa,* 4652(3): 54-556. DOI : 10.11646/zootaxa4652.3.10

Pringgenies, D., Sari, E., Widianingsih, W., & Nateewathana, A. 2021. Exploitation of Bioactive Compounds Potency of Extract Namanereis sp. (polychaeta: Annalida) as an Antibacterial Agent Against *Escherichia coli* and *Staphyllococcus aureus*. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*. 26(3): 182-188.

Ramadhani, I., & Wahyuni. 2020. Dasar-dasar Praktikum Mikrobiologi. CV Pena Persada, Purwokerto, 85 hlm.

Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validantion Technology,* 17 (1) : 46-49.

Widianwari, P. & Widianingsih. 2011. Komunitas Cacing Laut Dalam (Polychaeta) Selat Flores, Lamakera dan Alor, Nusa Tenggara Timur. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences,* 16(4):219-228.