

POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius*) TERHADAP *Vibrio harveyi* SECARA *IN VITRO*

Antibacteria Potential of Jeruju (Acanthus ilicifolius) Leaf Extracts on the in Vitro Growth of the Vibrio harveyi

Gina Saptiani¹, Slamet Budi Prayitno², dan Sutrisno Anggoro³

¹Laboratorium Mikrobiologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman, Samarinda

²Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Semarang

³Laboratorium Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Semarang

E-mail: gina_saptiani@yahoo.com

ABSTRAK

Untuk mengetahui potensi antibakteri dan konsentrasi optimal jeruju (*Acanthus ilicifolius*), dilakukan uji daya hambat ekstrak dan fraksi daun terhadap pertumbuhan *Vibrio harveyi*, bakteri penyebab penyakit pada udang. Daun yang sudah dikeringanginkan diekstraksi dengan metanol, sehingga didapatkan ekstrak kasar (*crude*). Sebagian dari ekstrak kasar dilakukan fraksinasi dengan metode kolom silika gel dengan pelarut n-heksan, etil asetat, n-butanol, etanol, dan metanol. Uji daya hambat dilakukan dengan *agar disc diffusion method*. Perlakuan yang diberikan adalah ekstrak kasar, fraksi n-heksan, etil asetat, n-butanol, etanol, dan metanol yang masing-masing konsentrasinya 50-1000 ppm, yang diberikan pada kultur *V. harveyi* pada media *Triptic Soy Agar* (TSA). Fraksi etil asetat menunjukkan daya hambat terbaik (12 mm), diikuti ekstrak (11,33 mm), dan fraksi n-butanol (11 mm).

Kata kunci: *Acanthus ilicifolius*, ekstrak dan fraksi, daya hambat, *Vibrio harveyi*

ABSTRACT

Acanthus ilicifolius, was one of the some mangrove species which has traditional medicinal used. To known its potential in eradicated pathogenic bacteria, the research was done to investigate the leaf extract and the extract fractioned, as a potential compound and its optimal concentration to inhibit the growth of *Vibrio harveyi*, bacteria that cause disease on marine shrimp. The dried leaf was extracted using methanol, and evaporated to make crude extract. A part of crude extract then fractionated using column method with silica gel, with some solvens that are n-hexane, ethyl acetate, n-buthanol, ethanol and methanol. *Acanthus ilicifolius* leaf in form of crude extract, fractionated in n-hexane, ethyl acetate, n-buthanol, ethanol and methanol in concentration between 50 and 1000 ppm then were tested its inhibition effect by in vitro agar disc diffusion method on *V. harveyi* culture in *Triptic Soy Agar* (TSA). The leaf extract fractioned in ethyl acetate, in crude extract form, and fractioned in n-buthanol showed best antibacterial activity, with inhibition zone as width as 12 mm, 11.33 mm, and 11 mm respectively.

Key words: *Acanthus ilicifolius*, extract and fraction, inhibition test, *Vibrio harveyi*

PENDAHULUAN

Kalimantan Timur mempunyai potensi di bidang perikanan, khususnya udang windu. Masalah penyakit masih menjadi kendala, baik saat di *hatchery* ataupun saat dibudidayakan di tambak. Penyakit *vibriosis* dapat menimbulkan kematian, mulai stadia larva sampai dewasa, saat sudah dipelihara di tambak (Kumaravel *et al.*, 2010). Udang yang terserang *vibriosis* menunjukkan gejala hitam kemerahan, beberapa organ luar tampak merah, terutama pada insang dan anggota gerak. Udang yang mendapat serangan penyakit parah, akan nampak menyala pada malam hari atau pada kondisi gelap, yang kemudian diikuti terjadinya kematian masal (Saptiani dan Hartini, 2008).

Umumnya pengusaha *hatchery* di Kalimantan Timur masih menggunakan antibiotik dan bahan kimia untuk mengatasi adanya serangan penyakit. Penggunaan bahan kimia dan antibiotik ini tidak terkontrol dan justru menimbulkan masalah baru, yaitu resistensi. Selain itu menurut para petambak, larva-larva yang berasal dari *hatchery* yang banyak menggunakan bahan kimia dan antibiotik justru banyak mengalami kematian saat ditebar di tambak. Melihat kondisi tersebut, maka perlu dicari

alternatif untuk mengatasi hal tersebut di atas, yaitu mencari senyawa bioaktif dari alam yang berasal dari tanaman lingkungan sekitar yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan antibakteri.

Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) adalah tumbuhan golongan mangrove yang mempunyai senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai bahan antibakterial (Manilal *et al.*, 2009). Jeruju banyak dijumpai di wilayah pesisir Kalimantan Timur, biasanya di daerah yang salinitasnya agak rendah, membentuk perdu di sekitar tumbuhan nipah di areal pertambakan (Saptiani *et al.*, 2012a). Tumbuhan ini mengandung senyawa glukosida, alkaloid, flavonoid, asam lemak, steroid, lignan, dan komponen fenol dan terpenoid (Kanchanapoom *et al.*, 2001; Wostmann dan Liebezeit, 2008).

Penelitian ini mengaji potensi antibakterial dari ekstrak dan fraksi daun jeruju dan mengetahui konsentrasi efektif untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* secara *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya. Selain itu sebagai alternatif dalam upaya pencegahan dan menanggulangi penyakit *vibriosis* secara alami dengan memanfaatkan tumbuhan yang ada di sekitar tambak.

MATERI DAN METODE

Bahan penelitian adalah daun jeruju yang berasal dari pertambakan di Kecamatan Muara Badak Kabupaten Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. Ekstraksi dan fraksinasi dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi, sedangkan uji *in vitro* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman Samarinda.

Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Jeruju

Daun jeruju dicuci, ditiriskan, dan dicincang, selanjutnya dikeringanginkan di ruangan yang tidak terpapar matahari secara langsung sampai kering, dengan suhu ruang 30° C. Daun yang sudah kering dimaserasi dalam metanol sampai jernih. Hasilnya diekstraksi menurut metode Aknin *et al.* (1999) dan Manilal *et al.* (2009). Kandungan garam yang terdapat pada hasil ekstraksi dipisahkan dengan metode cair-cair (*liquid extraction*). Sebagian hasil ekstraksi dievaporasi, sehingga didapatkan pelet ekstrak kasar (*crude*). Hasil ekstrak lainnya difraksinasi dengan metode kolom silika gel, menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, n-butanol, etanol, dan metanol. Masing-masing pelarut dilakukan evaporasi sampai cairan menjadi berbentuk pelet. Hasilnya diperoleh satu bahan ekstrak dan lima fraksi, yaitu n-heksana, etil asetat, n-butanol, etanol, dan metanol yang digunakan sebagai bahan *inhibition test* (uji daya hambat).

Uji Patogenitas *V. harveyi*

Koloni bakteri *V. harveyi* berasal dari Balai Riset Perikanan Air Payau Maros Sulawesi Selatan. Sebelum digunakan bakteri diinjeksikan pada udang windu secara intramuskular dengan dosis 0,1 ml (10^5 cfu/ml). Setelah empat hari udang menunjukkan gejala klinis kemerahan, maka *V. harveyi* diisolasi dari hepatopankreasnya. Selanjutnya, *V. harveyi* dikultur pada media *thiosulfate citrate bile salt sucrose agar* (TCBSA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 33° C. Uji ini dilakukan sebanyak 3 kali, sampai bakterinya ganas dan koloninya berpendar. Sebelum digunakan untuk uji patogenitas, *V. harveyi* disuburkan kembali pada media *triptic soy agar* (TSA).

Aktivitas Antibakteri (*Inhibition Test*)

Inhibition test (*agar disc diffusion method*) secara *in vitro* dilakukan menurut Davis dan Stout (1971) dan Khajure dan Rathod (2010). Masing-masing bahan ekstrak dan fraksi dari daun jeruju, dilakukan uji daya

hambat terhadap *V. harveyi*. Isolat bakteri dikultur pada media *triptic soy broth* (TSB) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 33° C. Selanjutnya bakteri diencerkan (10^5 cfu/ml) dan dikultur pada media TSA dalam cawan petri.

Perlakuan terdiri atas ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, n-butanol, etanol, dan metanol, masing-masing dengan konsentrasi 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, dan 1.000 ppm serta kontrol negatif dengan larutan *phosphat buffer saline* (PBS) 0,85% dan kontrol positif digunakan larutan antibiotik teramisin 5 mg/ml. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Perlakuan diberikan dengan cara meneteskan larutan ekstrak pada kertas saring Whatman (*Whatman filter paper disc*) dengan ukuran 6 mm, selanjutnya ditanam dan ditata sedemikian rupa pada kultur bakteri di atas dan diinkubasi pada suhu 33° C. Pengamatan dan pemeriksaan dilakukan terhadap ukuran diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas saring Whatman, mulai jam ke- 12, 18, 24, 36, 48, dan 72 setelah inkubasi. Hasil pengukuran diameter zona hambat dianalisis secara diskriptif dan penentuan aktivitas antibakteri mengikuti standar Mayer (2007), seperti yang disajikan pada Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Vibrio harveyi digunakan untuk uji potensi antibakteri ekstrak daun jeruju, karena bakteri ini yang paling sering menimbulkan penyakit pada budidaya udang di tambak maupun saat di *hatchery* di wilayah Kalimantan Timur (Saptiani dan Hartini, 2008). Menurut Suginta *et al.* (2010), *V. harveyi* adalah golongan bakteri Gram negatif yang ada di perairan laut yang menyebabkan timbulnya *luminous vibriosis* pada udang, dan menyebabkan penyakit serius pada budidaya udang. Pada bakteri Gram negatif, dinding selnya mengandung peptidoglikan dan juga lipopolisakarida, yang fungsinya melindungi sel (Austin dan Zhang, 2006; Owens dan Busico-Salcedo, 2006). Bakteri ini sulit diberantas dengan obat antibiotik, yang sudah terserang umumnya tidak dapat disembuhkan. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik dapat mentransfer gen resisten ke bakteri lain melalui air, udang, pakan, peralatan maupun aktivitas manusia (Sarac dan Ugur, 2007; Steenackers *et al.*, 2010).

Hasil pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat pada jam ke-12 setelah inkubasi adalah ≥ 8 mm, kecuali pada fraksi metanol dengan konsentrasi 50-800 ppm (7,00-7,67 mm), sedangkan pada kontrol negatif berkisar 7,33 mm. Diameter zona hambat

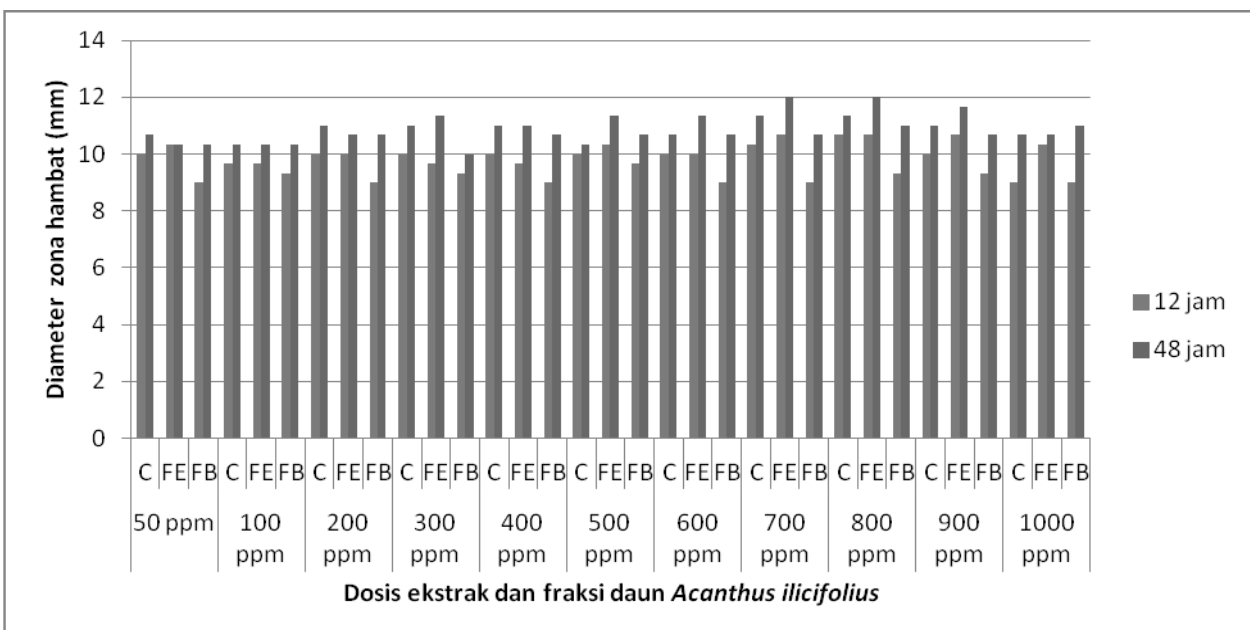
Tabel 1. Diameter zona hambat beberapa antibiotik (Mayer, 2007)

Antibiotik	Kategori daya hambat (mm)		
	Resisten	Intermediate	Rentan
<i>Choramphenicol</i>	≤ 12	13-17	≥ 18
<i>Erythromycin</i>	≤ 13	14-17	≥ 18
<i>Nalidixid Acid</i>	≤ 13	14-18	≥ 19
<i>Streptomycin</i>	≤ 11	12-14	≥ 15
<i>Tetracyclin</i>	≤ 14	15-18	≥ 19
<i>Trimethoprim</i>	≤ 10	11-15	≥ 16

terluas adalah 10,67 mm, terdapat pada perlakuan fraksi etil asetat pada konsentrasi 700-900 ppm dan ekstrak pada konsentrasi 800 ppm. Diameter zona hambat yang terbentuk pada semua perlakuan ekstrak dan fraksi daun jeruju pada inkubasi jam ke-12, termasuk kategori antibakteri sedang, seperti yang disampaikan Davis dan Stout (1971), bahwa diameter zona hambat 5-10 mm, termasuk kategori sedang. Khajure dan Rathod (2010), mengatakan aktivitas antimikrob ekstrak daun jeruju lebih tinggi dibanding bagian akarnya. Demikian juga yang disampaikan oleh Saptiani *et al.* (2011), ekstrak daun jeruju mempunyai daya hambat lebih tinggi dibanding dengan akar, buah, dan bunganya. Sejalan dengan pernyataan tersebut, hasil pengamatan setelah inkubasi pada jam ke-12, menunjukkan ekstrak dan fraksi daun jeruju mempunyai potensi sebagai bahan antibakteri. Hasil pengamatan pada jam ke-18, 24, 36, 48, dan 72 setelah inkubasi, fraksi etil asetat juga menunjukkan kemampuan aktivitas antibakteri lebih baik dibanding ekstrak dan fraksi lainnya. Diameter zona hambat fraksi etil asetat pada inkubasi 18 jam tertinggi, yaitu 10,67 mm pada konsentrasi 700-1000 ppm, ekstrak tertinggi 10,67 mm pada konsentrasi 800-900 ppm, sedangkan fraksi n-butanol dan yang lain di bawah 10 mm. Pada inkubasi jam ke-24 dan ke-36, diameter zona hambat semakin lebar, pada fraksi etil asetat pada semua konsentrasi, berkisar 10-11,33 mm, ekstrak berkisar 10-11 mm, fraksi n-butanol berkisar 9,33-11 mm, fraksi etanol berkisar 8,33-9,67 mm, fraksi n-heksana 8-9,33 mm, dan pada fraksi metanol berkisar 7,33-8,67 mm. Setelah inkubasi 48 jam, pada fraksi etil asetat, ekstrak dan fraksi n-butanol menunjukkan rata-rata diameter zona hambat $\geq 10,33$ mm pada semua konsentrasi perlakuan (Gambar 1). Namun setelah inkubasi jam ke-48, umumnya zona hambat pada semua perlakuan relatif tidak menunjukkan pertambahan luas diameter.

Sebagaimana hasil pengamatan jam ke-12 setelah inkubasi, pengamatan jam ke-18 sampai 48 setelah inkubasi, ternyata fraksi etil asetat menunjukkan diameter zona hambat yang paling luas dibandingkan dengan perlakuan ekstrak dan fraksi daun yang lain. Diameter zona hambat ini termasuk kategori antibakteri yang kuat menurut Davis dan Stout (1971). Diameter zona hambat tertinggi terjadi pada perlakuan fraksi etil asetat setelah inkubasi 48 jam, yaitu 12 mm pada perlakuan dengan konsentrasi 700 dan 800 ppm. Menurut Mayer (2007), jika dibandingkan dengan antibiotik *trimethoprim*, diameter zona hambat tersebut termasuk kategori *intermediate*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bioaktif jeruju bersifat vibrosidal. Menurut Saptiani *et al.* (2012b), ekstrak etanol tumbuhan jeruju dapat menghambat pertumbuhan *V. harveyi* secara *in vitro*. Manilal *et al.* (2009), mengatakan daun jeruju secara *in vitro* bersifat vibriosidal dengan daya hambat terhadap tiga spesies vibrio, yaitu *V. alcaligenes* (8 mm), *V. vulnificus* (9 mm), dan *V. alginolyticus* (10 mm).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai diameter zona hambat paling luas dan reaksi daya hambat paling cepat. Diameter zona hambat fraksi etil asetat sekitar 12 mm, tergolong sebagai bakterisid dalam kategori *intermediate* (Mayer, 2007) dan termasuk kategori antibakteri kuat (Davis dan Stout, 1971). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun jeruju mempunyai potensi sebagai bahan antibakteri, terutama pada ekstrak, fraksi etil asetat, ataupun n-butanol. Ekstrak dan fraksi daun ini, kemungkinan banyak mengandung senyawa fenolik yang mempunyai potensi antibakteri, seperti yang dikemukakan oleh Kanchanapoom *et al.* (2001) dan Wostmann dan Liebezeit (2008), bahwa jeruju banyak mengandung komponen senyawa fenolik, seperti alkaloid dan flavonoid, sedangkan Huoab *et al.* (2003),



Gambar 1. Diameter zona hambat ekstrak (*crude* = C), fraksi etil asetat (F-E) dan fraksi n-butanol (F-B) daun *A. ilicifolius* terhadap *V. harveyi* pada inkubasi jam ke-12 dan 48

melaporkan jeruju mempunyai komponen glukosida yaitu 5, 11-*epoxymegastigmane* glukosida. Menurut Citarasu (2009), herbal yang mengandung komponen seperti fenolat, polifenol, alkaloid, kuinon, terpenoid, lektin, dan polipeptida sangat efektif sebagai antibiotik. Namun demikian, ekstrak tumbuhan menunjukkan efek antimikrob yang berbeda terhadap setiap jenis mikroorganisme (Kirbag *et al.*, 2009). Menurut Mayer (2011), suatu bahan dapat dikategorikan antibiotik karena bersifat bakteriostatik, jika mampu menghambat pertumbuhan bakteri, atau bakterisid jika mampu membunuh bakteri. Jika antibiotik yang bersifat bakteriostatik digunakan untuk terapi, maka harus cukup menimbulkan mekanisme immunitas seluler dan humoral untuk membasmi bakteri.

Pada penelitian ini terbukti ekstrak dan fraksi daun jeruju mempunyai potensi antibakteri terhadap *V. harveyi*, sehingga dapat dikembangkan sebagai bahan antibakteri pada usaha penanggulangan serangan vibriosis di lingkungan budidaya udang maupun ikan, baik di *hatchery* ataupun budidaya di tambak. Menurut Saptiani *et al.* (2012a), ekstrak *A. ilicifolius* dapat menghambat pertumbuhan *V. harveyi* pada udang, dan dapat menurunkan prevalensi serangan serta meningkatkan kelangsungan hidup. Citarasu (2009) mengatakan, produk bio-medisinal herbal merupakan bahan alternatif yang dapat digunakan pada sistem budidaya, karena memiliki karakter sebagai pemacu pertumbuhan (*growth promoting ability*) dan tonikum untuk memperbaiki sistem imunitas, berperan sebagai perangsang nafsu makan, meningkatkan konsumsi, memacu maturasi, dan mempunyai kapasitas sebagai antibakteri dan juga antistres tanpa menimbulkan gangguan lingkungan.

KESIMPULAN

Ekstrak daun jeruju mempunyai potensi menghambat pertumbuhan *V. harveyi*. Fraksi etil asetat daun jeruju mempunyai daya hambat tercepat dan terbaik setelah inkubasi 12-48 jam, diikuti ekstrak dan fraksi n-butanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian Hibah Disertasi Doktor yang dibiayai oleh Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DP2M Ditjen Dikti) Kementerian Pendidikan Nasional tahun anggaran 2011 melalui DIPA Undip Nomor: 0596/023-04-2-16/13/201. Terima kasih disampaikan kepada Dirjen Dikti, Rektor, Direktur Pascasarjana, dan Ketua Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan (MSDP), Universitas Diponegoro Semarang, Dekan Farmasi beserta staf di Laboratorium Kimia Farmasi, serta teman sejawat di Laboratorium Mikrobiologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman Samarinda.

DAFTAR PUSTAKA

- Aknin, M., T.L.A. Dayan, A. Rudi, Y. Kashman, and E.M. Gaydou. 1999. Hydroquinone antioxidant from the Indian ocean tunicate *Aplidium savignyi*. **J. Agricult. Food Chem.** 47:4175-4177.
- Austin, B. and X.H. Zhang. 2006. *Vibrio harveyi*: A significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. **Lett. Appl. Microbiol.** 43:119-124.
- Citarasu, T. 2009. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. **Aquaculture International** 18(3):403-414.
- Davis, W.W. and T.R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. **Appl. Microbiol.** 22(4):659-665.
- Huoab, C., H. Lianga, G. Tuc, Y. Zhaoa, and W. Lina. 2003. A new 5, 11-epoxymegastigmane glucoside from *Acanthus ilicifolius*. **Phytochemistry** 63(4):491-495.
- Kanchanapoom, T., M.S. Kamel, R. Kasai, K. Yamasaki, C. Picheansoonthon, and Y. Hiraga. 2001. Lignan glucosides from *Acanthus ilicifolius*. **Phytochemistry** 56:369-372.
- Khajure, P.V. and J.L. Rathod. 2010. Antimicrobial activity of extracts of *Acanthus ilicifolius* extracted from the mangroves of Karwar Coast Karnataka. **RRST.** 2(6):98-99.
- Kirbag, S., F. Zengin, and M. Kursat. 2009. Antimicrobial activities of extracts of some plants. **Pak. J. Bot.** 41(4):2067-2070.
- Kumaravel, K., S. Ravichandran, and S. Sritama-Bose. 2010. *In vitro* antimicrobial activity of shrimps haemolymph on clinical pathogens. **African J. Microbiol. Research** 4(23):2592-2596.
- Manilal, A., I.S. Sujith, G.S. Kiran, J. Selvin, and C. Shakir. 2009. Biopotentials of mangroves collected from the Southwest Coast of India. **Glo. J. Biotechnol.** 4(1):59-65.
- Mayer, G. 2007. **Medical Microbiology and Immunology.** 3^{ed}. Univ. of South Carolina School of Medicine, Carolina.
- Mayer G. 2011. Bacteriology. Antibiotics-Protein Synthesis, Nucleic Acid synthesis and Metabolism. **Microbiology and immunology On-line.** University of South Carolina School of Medicine, Carolina.
- Owens, L. and N. Busico-Salcedo. 2006. *Vibrio Harveyi*: Pretty Problem in Paradise. In **The Biology of Vibrio**. Thompson, F.L., B. Austin, and J. Swings (Eds). Washington Dc. ASM Press, Washington.
- Saptiani, G. dan Hartini. 2008. Daya hambat dan daya lindung ekstrak daun sirih (*Piper bettle* L) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara *in vitro* dan *in vivo* pada post larva udang windu (*Penaeus monodon* F.). **Konferensi Indonesian Aquaculture.** Indoaqua, Yogyakarta.
- Saptiani, G., S.B. Prayitno, dan S. Anggoro. 2011. Daya hambat ekstrak jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap pertumbuhan *Vibrio harveyi*. **Symposium Nasional Kimia Bahan Alam XIX (SimNasKBA-2011).** Himpunan Kimia Bahan Alam. Samarinda.
- Saptiani, G., S.B. Prayitno, dan S. Anggoro. 2012a. The effectiveness of *Acanthus ilicifolius* in protecting tiger prawn (*Penaeus monodon* F.) from *Vibrio harveyi* infection. **J. of Coast. Dev.** 15(2):217-224.
- Saptiani, G., S.B. Prayitno, dan S. Anggoro. 2012b. Aktivitas antibakteri ekstrak jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap pertumbuhan *Vibrio harveyi* secara *in vitro*. **J. Veteriner.** 13(3):257-262
- Sarac, N. and A. Ugur. 2007. Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. **Eur. Asia J. Biosci.** 4:28-37.
- Steenackers, H.P., J. Levin, J.C. Janssens, A. De Weerd, J. Balzarini, J. Vanderleyden, D.E. De Vos, and S.C. De Keersmaecker. 2010. Structure-activity relationship of brominated 3-alkyl-5-methylene-2(5h)-furanones and alkylmaleic anhydrides as inhibitors of salmonella biofilm formation and quorum sensing regulated bioluminescence in *Vibrio harveyi*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** 18:5224-5233.
- Suginta, W., D. Chuenark, M. Mizuhara, and T. Fukamizo. 2010. Novel β -N-acetylglucosaminidases from *Vibrio harveyi* 650: Cloning, expression, enzymic properties, and subsite identification. **BMC Biochemistry** 11(40):1-12.
- Wostmann, R., and G. Liebezeit. 2008. Chemical composition of the mangrove holly *Acanthus ilicifolius* (Acanthaceae)—review and additional data. **Senckenbergiana Maritima** 38(1):31-37.