



Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung

Defin Ari Pastra*, Melki, Heron Surbakti

Program Studi Ilmu Kelautan, FMIPA, UNSRI, Indralaya, SumSel
*E-mail: definariPastra@yahoo.co.id

Received 10 October 2011; received in revised form 28 October 2011;
accepted 20 November 2011

ABSTRACT

This research was conducted in October 2010 - January 2011. Sampling of sponge was conducted in the waters of the Tegal island Lampung. This study aims to obtain symbiotic bacteria of sponge that has material potential as antibacterial and know the biochemical nature of the symbiotic bacterium of sponges that has the potential material as antibacterial.

Bacteria of sponges were inoculated on NA media with for casting method. Results of inoculation were purified by the bowls scratch method. Purification selected 10 bacteria isolates to be performed screening of antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Bacteria was capable to forming inhibition zone was characterized to determine biochemically characteristic.

This study found two isolate of symbiotic bacteria of sponges that can produce bioactive compounds that are antibacterial, bacteria A_2^3 can restrain the bacteria *S. aureus* and *E. coli* and the bacteria A_2^5 can only restrain the bacteria *S. aureus*. A_2^3 bacteria are gram-positive bacteria ferment carbohydrates into lactic acid but don't produce high concentration acid compounds, able to use carbon sources from citrat, produce the enzyme of urease, catalase, oxidase, gelatinase, and motility. A_2^5 bacteria are gram-negative bacteria, ferment carbohydrates into lactic acid but don't produce high concentration of acid compounds, can ferment carbohydrates 2,3 butanediol, able to use carbon sources from citrat, produce the enzyme urease, catalase, oxidase

Key word : Antagonist, Antibacterial, Bacteria, Screening, Symbiotic, Sponge

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2010 - Januari 2011. Sampel spons diambil di Perairan Pulau Tegal Lampung. Tujuan penelitian adalah untuk memperoleh isolat bakteri simbiosis spons yang berpotensi sebagai penghasil bahan antibakteri dan mengetahui sifat biokimia bakteri simbiosis spons yang berpotensi sebagai penghasil bahan antibakteri tersebut

Bakteri pada sampel spons diinokulasi pada media NA dengan metode agar tuang. Hasil inokulasi dimurnikan dengan metode cawan gores. Pemurnian memilih 10 isolat bakteri yang kemudian dilakukan penapisan aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri yang mampu membentuk zona hambat kemudian dikarakterisasi untuk mengetahui sifat-sifat biokimianya.

Penelitian ini mendapatkan dua isolat bakteri simbiosis spons yang dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri yaitu bakteri A_2^3 dapat menghambat bakteri *S aureus* dan *E coli* dan bakteri A_2^5 yang hanya dapat menghambat bakteri *S aureus*. Bakteri A_2^3 adalah bakteri gram positif memfermentasikan karbohidrat menjadi asam laktat namun tidak menghasilkan asam dengan konsentrasi tinggi, dapat menggunakan sumber karbon dari citrat, menghasilkan enzim urease, katalase, oksidase, gelatinase dan melakukan motilitas. Bakteri A_2^5 adalah bakteri gram negatif, memfermentasikan karbohidrat menjadi asam laktat namun tidak menghasilkan asam dengan konsentrasi tinggi, memfermentasikan karbohidrat 2,3 butanediol, dapat menggunakan sumber karbon dari citrat, menghasilkan enzim urease, katalase, oksidase

Kata kunci : Antagonis, Antibakteri, Bakteri, Penapisan, Simbiosis, Spons

I. PENDAHULUAN

Bakteri patogen masih sering menjadi masalah dalam dunia kesehatan karena menyebabkan banyak penyakit. Untuk mengatasi berbagai penyakit yang diakibatkan bakteri patogen biasanya digunakan bahan kimia yang dapat membunuh bakteri. Bahan kimia kadang-kadang dapat menimbulkan efek samping dan menyebabkan bakteri resisten terhadap bahan antibakteri tertentu. Terbatasnya bahan antibakteri yang sudah diketahui juga masih menjadi masalah dalam dunia kesehatan saat ini.

Untuk mengatasi masalah tersebut perlu dilakukan pencarian bahan-bahan antibakteri baru. Bahan antibakteri dapat berasal dari zat bioaktif yang terdapat pada ekstrak tumbuhan dan hewan serta zat-zat bioaktif yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Menurut Lee, et al (2001) beberapa jenis spons mengandung senyawa yang bersifat antibiotik.

Senyawa yang bersifat antibiotik tentu bersifat antibakteri, tetapi jika spons diekstrak untuk dijadikan bahan antibakteri secara besar-besaran bertentangan dengan kepentingan konservasi. Biota-biota laut terutama spons hidupnya bersimbiosis dengan beraneka ragam jenis bakteri. Bakteri yang bersimbiosis dengan organisme kemungkinan besar banyak melakukan interaksi biokimia dengan organisme inangnya. Interaksi biokimia tersebut memungkinkan bakteri yang bersimbiosis menghasilkan zat bioaktif yang sama dengan inangnya. Sehingga beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons diperkirakan dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan anti bakteri (Mearns-Spragg et al.1998; Armstrong et al. 2001 dalam Nofiani et al. 2009; Lee, et al. 2001)

Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons. Bakteri yang diisolasi kemudian dimurnikan, setiap koloni murni diberi kode, setelah diperoleh koloni-koloni bakteri murni barulah dilakukan penapisan aktifitas antibakteri terhadap bakteri wakil gram positif dan gram negatif. Bakteri *Staphylococcus aureus* mewakili gram positif dan *Escherichia coli* mewakili gram negatif disebut bakteri uji, bakteri yang

bersimbiosis dengan spons disebut bakteri yang diuji. Isolat bakteri yang telah teruji mampu menghambat atau membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* kemudian dikarakterisasi untuk diketahui sifat biokimianya

II. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel spons, air laut, aquades, medium NB, medium NA, biakan bakteri *S. aureus*, biakan bakteri *E.coli*, medium OF, medium nutrient gelatin, medium MR-PV broth, medium simmon's citrate agar, medium urea broth, alcohol, KOH 3%.

2.2. Pengambilan Sampel

Sampel spons diambil di perairan pulau Tegal Lampung pada kedalaman sekitar 1,5 m. Spons dimasukan kedalam kantong plastik steril kemudian disimpan di dalam *ice box* dan dibawa ke laboratorium.

2.3. Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons

Bakteri yang terdapat pada sampel spons diinokulasi pada media NA dengan metode agar tuang yang mengacu pada Lay, (1994) dan Hadioetomo, (1995). Sampel spons dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian diambil sebanyak 1 gr dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut. Dilakukan pengenceran hingga konsentrasi menjadi 10^{-6} , tujuan pengenceran adalah supaya diperoleh isolat yang tidak begitu padat dan mewakili semua jenis bakteri yang terdapat pada sampel. Kemudian sampel diinokulasi dengan metode agar tuang, diambil sebanyak 1 ml untuk diinokulasi pada media NA dalam cawan petri ± 15 ml secara aseptik kemudian diinkubasi pada suhu 37°C di dalam inkubator selama 2 x 24 jam. Isolat bakteri menunjukan ciri morfologi yang berbeda-beda seperti warna dan bentuk koloni. Semua dilakukan dalam kondisi aseptik dengan menggunakan api bunsen dan dilakukan didalam bilik laminar dan blender yang digunakan untuk menghaluskan sampel dimana sebelumnya

disterilkan dengan menggunakan sinar UV di dalam bilik laminar.

2.4. Pemurnian isolat bakteri

Pemurnian isolat bakteri bertujuan untuk memisahkan hasil inokulasi yang terdiri dari banyak koloni bakteri yang berlainan jenis sehingga didapat koloni bakteri murni pada setiap biakan bakteri. Koloni bakteri yang diambil untuk dimurnikan adalah koloni yang dominan. Pemurnian dengan menggunakan metode cawan gores

2.5. Penapisan aktifitas antibakteri

Penapisan aktifitas antibakteri bertujuan untuk mencari bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E coli* dan bakteri *S aureus* sebagai bakteri uji. Bakteri uji harus mewakili bakteri gram positif dan gram negatif. Sebelum melakukan penapisan aktifitas antibakteri persiapan yang harus dilakukan adalah menginokulasi bakteri uji dan bakteri yang akan diuji pada media NB sehingga diperoleh suspensi bakteri uji dan suspensi bakteri yang akan diuji (Nofiani et al. 2009).

Metode penapisan aktifitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode yang sama dengan uji efektivitas senyawa namun yang berperan sebagai senyawa yang diuji adalah suspensi bakteri spons yang diinokulasi pada media NB. Suspensi bakteri uji diambil sebanyak 200 μ l dan dimasukkan kedalam 15 ml NA yang mulai mendingin namun masih cair kemudian dikocok hingga merata dan dituangkan ke cawan petri kemudian dibiarkan hingga membeku. Setelah membeku letakkan kertas cakram yang telah dibasahi dengan suspensi bakteri spons yang akan diuji kemudian diinkubasi selama 24 jam, setelah diinkubasi dilihat apakah terdapat zona bening disekitar koloni bakteri yang diuji yang tumbuh disekitar kertas cakram (Gambar 9). Jika terdapat zona bening maka bakteri tersebut menghasilkan senyawa bioaktif sebagai antibakteri (Nofiani et al. 2009).

2.6. Karakterisasi

Karakterisasi bertujuan untuk mengetahui sifat biokimia dan motilitas bakteri yang sudah diketahui dapat menghasilkan zona hambat.

Dalam penelitian ini dilakukan 10 uji biokimia yaitu Uji reaksi dengan KOH, Uji Oksidase /Fermentasi (O/F), Uji Fermentasi Karbohidrat (Glukosa, Laktosa, dan Sukrosa), Uji *Methyl Red* dan *Voges Proskauer*, Uji Citrat dan Urea, Uji Katalase, Uji Oksidase, Uji Hidrolisis Gelatin, dan pengamatan dengan mikroskop untuk mengetahui ada atau tidaknya motilitas bakteri

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Isolasi Bakteri Dari Spons

Isolasi bakteri dari spons merupakan inokulasi tahap awal menghasilkan isolat bakteri yang belum murni. Hasil inokulasi dengan metode agar tuang pada sampel yang diencerkan sangat beragam pada setiap pengenceran. Koloni bakteri hasil inokulasi pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 10^{-6} sangat jarang, yang paling ideal untuk mewakili adalah hasil inokulasi pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} karena tidak begitu padat namun cukup mewakili semua koloni bakteri yang ada. Semua bentuk koloni bakteri yang dijumpai di hasil inokulasi pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 10^{-6} dapat dijumpai di hasil inokulasi pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Hasil inokulasi yang paling ideal untuk dimurikan adalah pada cawan petri hasil inokulasi sampel dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} karena tidak begitu padat yaitu lebih dari 30 dan kurang dari 300 koloni. Menurut Lay (1994) jumlah koloni pada cawan petri yang representatif untuk menggambarkan jumlah dan komposisi sel bakteri pada sampel cair dengan teknik agar tuang adalah 30 sampai dengan 300 koloni, Hasil inokulasi pada pengenceran 10^{-1} diberi kode A₁ dan hasil inokulasi pada pengenceran 10^{-2} diberi kode A₂

3.2. Pemurnian Bakteri

Koloni-koloni bakteri hasil inokulasi yang diberi kode A₁ dipilih lima koloni yang dominan untuk dimurnikan dan diberi kode A₁¹, A₁², A₁³, A₁⁴, A₁⁵. Demikian juga dengan koloni-koloni bakteri hasil inokulasi yang diberi kode A₂ juga dipilih lima koloni yang dominan untuk dimurnikan dan diberi kode A₂¹, A₂², A₂³, A₂⁴, A₂⁵

3.3. Penapisan Aktifitas Antibakteri

Hasil penapisan aktifitas antibakteri didapat 1 isolat yang dapat menghasilkan zona hambat pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yaitu isolat bakteri A₂³. dan 1 isolate yang dapat menghasilkan zona hambat pada bakteri *S. aureus* saja yaitu isolat bakteri A₂⁵

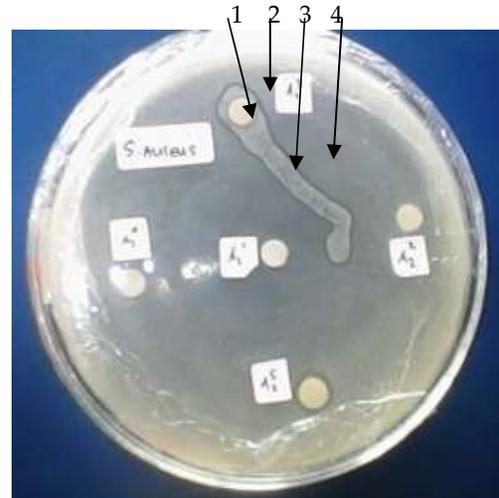
Hasil penapisan ini menerima hipotesis. Hipoteses penelitian ini yaitu beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan anti bakteri. Dari hasil penapisan didapat dua isolat bakteri simbiosis spons yang dapat membentuk zona hambat pada bakteri uji. Menurut Nofiani et al (2009) terbentuknya zona hambat pada koloni isolate bakteri yang diuji menandakan bahwa isolate bakteri yang diuji melakukan aktifitas antimikroba Menurut Dwidjoseputro (1998) suatu hubungan yang asosial dimana bakteri tidak dapat hidup berdampingan dengan bakteri lain disebut hubungan Antagonisme. Spesies yang satu menghasilkan sesuatu yang meracuni spesies yang lain, sehingga pertumbuhan spesies yang terakhir itu sangat terganggu karenanya zat yang dihasilkan oleh spesies yang antagonis mungkin berupa ekskret, mungkin juga zat tersebut merupakan zat sisa makanan, yang jelas zat tersebut menantang kehidupan mikroorganisme yang lain. Oleh karena itulah maka zat penentang tersebut dinamakan zat antibiotik

Tabel 1. hasil Penapisan Aktifitas Antibakteri

Isolat bakteri spons	Hasil penapisan aktifitas antibakteri	
	<i>E coli</i>	<i>S aureus</i>
A ₁ ¹	-	-
A ₁ ²	-	-
A ₁ ³	-	-
A ₁ ⁴	-	-
A ₁ ⁵	-	-
A ₂ ¹	-	-
A ₂ ²	-	-
A ₂ ³	+	+
A ₂ ⁴	-	-
A ₂ ⁵	-	+

Keterangan:

- + : Terdapat zona hambat
- : Tidak terdapat zona hambat



Gambar 1. Hasil penapisan aktifitas antibakteri dengan bakteri uji *S aureus*



Gambar 2. Hasil penapisan aktifitas antibakteri dengan bakteri uji *E coli*

Keterangan:

- 1 : Kertas cakram
- 2 : Zona hambat
- 3 : Koloni bakteri yang diuji (simbiosis spons)
- 4 : Bakteri uji

3.4. Karakterisasi

Tabel 2. Hasil karakterisasi

No	Pengujian	Hasil	
		A ₂ ³	A ₂ ⁵
1	Uji reaksi dengan KOH	+	-
2	Uji Oksidase /Fermentasi	F	F
3	Uji Fermentasi Karbohidrat (Glukosa,Laktosa,&Sukrosa)	+	+
4	Uji <i>Methyl Red</i>	-	-
5	Uji <i>Voges Proskauer</i>	-	+
6	Uji Citrat	+	+
7	Uji Urea	+	+
8	Uji Katalase	+	+
9	Uji Oksidase	+	+
10	Uji Hidrolisis Gelatin	+	-
11	Motilitas	+	-

Ketika jarum ose diangkat suspensi bakteri A₂³ tidak terangkat dengan jarum ose berarti bakteri A₂³ adalah bakteri gram positif. Suspensi A₂⁵ berubah menjadi berlendir, lengket dan terangkat seperti benang bersama jarum ose berarti bakteri A₂⁵ adalah bakteri gram negatif.

Bakteri gram positif mempunyai struktur dinding sel yang tebal, yaitu 15-80 nm dan berlapis tunggal. Komposisi dinding sel terdiri dari lipid dengan kandungan rendah, peptidoglikan sebagai lapisan tunggal memiliki jumlah sekitar 90% dari berat dinding sel dan mengandung asam tekoat. Bakteri gram negatif mempunyai struktur dinding sel yang tipis yaitu 10-15 nm dan berlapis tiga (multi). Komposisi dinding sel terdiri dari lipid dengan kandungan tinggi. Peptidoglikan berada dalam lapisan kaku sebelah dalam dan jumlahnya sedikit sekitar 10% dari berat dinding sel serta tidak mengandung asam tekoat (Madigan et al, 2003).

Hasil uji Oksidase /Fermentasi (O/F) perubahan warna media pada bakteri A₂³ menjadi kuning terjadi pada kedua tabung perubahan ini menunjukkan metabolisme fermentatif. Demikian juga dengan bakteri A₂⁵ perubahan warna media menjadi kuning terjadi pada kedua tabung. Kesimpulannya adalah kedua jenis bakteri tersebut bersifat fermentatif.

Uji fermentasi karbohidrat (Glukosa, Laktosa, dan Sukrosa) bakteri A₂³ dan baktri A₂⁵ menunjukkan pada masing-masing media cair yang mengandung karbohidrat (glukosa, laktosa, dan lukrosa) dari merah menjadi kuning. Perubahan warna tersebut tidak disertai dengan adanya gas yang terbentuk pada tabung durham.

Menurut Lay (1994 : 82) dalam proses fermentasi, bakteri yang ditumbuhkan dalam media cair yang mengandung karbohidrat, maka hasil fermentasi berupa asam. Asam yang dihasilkan akan menurunkan pH media biakan. Pembentukan asam laktat akan ditandai oleh perubahan warna media menjadi kuning, perubahan warna dengan diikuti terbentuknya gas pada tabung durham merupakan fermentasi asam campuran dan fermentasi tanpa adanya perubahan warna tetapi terbentuk gas pada tabung durham menandakan terjadinya fermentasi alkohol. Dengan demikian hasil Uji fermentasi karbohidrat (Glukosa, Laktosa, dan Sukrosa) bakteri A₂³ dan baktri A₂⁵ menunjukkan bahwa bakteri A₂³ dan bakteri A₂⁵ dapat memfermentasikan karbohidrat (Glukosa, Laktosa, dan Sukrosa) sehingga membentuk asam laktat.

Meskipun menghasilkan asam laktat tetapi bakteri A₂³ dan baktri A₂⁵ tidak menghasilkan asam dengan konsentrasi tinggi, hal ini diketahui dari hasil negatif pada uji *Methyl Red*. Hasil negatif ditandai dengan media pada tabung tetap berwarna kuning setelah ditetesi methyl red. Menurut Lay (1994) jika media pada tabung menjadi merah setelah ditetesi methyl red menandakan pH media 4,4 dan tetap berwarna kuning dalam lingkungan dengan pH 6,2

Uji *Voges Proskauer* Isolat bakteri A₂³ hasil negatif, karena pada uji tidak terbentuk warna merah pada media setelah ditetesi reagen barrit A dan barrit B. Isolat bakteri A₂⁵ menunjukkan hasil yang positif, karena pada uji terbentuk warna merah pada medium setelah ditetesi reagen barrit A dan barrit B. Menurut Lay (1994) Uji *Voges Proskauer* digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang melaksanakan fermentasi 2,3 butanadiol. Dari hasil uji yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa hanya

isolat bakteri A₂⁵ yang memfermentasikan karbohidrat 2,3 butanadiol hal ini ditandai dengan terbentuknya warna merah pada medium.

Uji citrat reaksi positif pada bakteri A₂³ dan baktri A₂⁵ hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru. Menurut Ernawati (2008) reaksi positif pada uji citrat menandakan bahwa isolat bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon

Hasil uji katalase bakteri A₂³ dan baktri A₂⁵ bersifat positif. Menurut Ernawati (2008) reaksi positif pada uji katalase menunjukkan bahwa isolat bakteri memiliki enzim katalase yang dapat mendegradasi hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan O₂

Hasil uji oksidase bakteri A₂³ dan baktri A₂⁵ bersifat positif. Hasil uji positif ditandai dengan kertas tertrametil berwarna ungu. Menurut Lay (1994), bakteri yang bersifat positif pada uji oksidasi ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki enzim oksidase.

Hasil uji hidrolisis gelatin pada bakteri A₂³ media tetap mencair ini menandakan uji bersifat positif. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada bakteri yang diberi kode A₂⁵ namun hasil uji bersifat negatif karena media membeku. Menurut Lay (1994) hasil positif pada uji hidrolisis gelatin menandakan bahwa bakteri menghasilkan enzim gelatinase. Enzim gelatinase adalah enzim yang dapat membantu menguraikan gelatin

Hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop menunjukan bakteri A₂³ bergerak dan bakteri A₂⁵ tidak bergerak.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Terdapat dua isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri yaitu isolat bakteri A₂³ dapat menghambat bakteri *S aureus* dan *E coli* dan isolat bakteri A₂⁵ yang haya dapat menghambat bakteri *S aureus*
2. Bakteri A₂³ adalah bakteri gram positif memfermentasikan karbohidrat menjadi asam laktat namun tidak menghasilkan asam dengan konsentrasi tinggi, dapat

menggunakan sumber karbon dari citrat, menghasilkan enzim urease, katalase, oksidase, glatinase dan melakukan motilitas. Bakteri A₂⁵ adalah bakteri gram negatif, memfermentasikan karbohidrat menjadi asam laktat namun tidak menghasilkan asam dengan konsentrasi tinggi, memfermentasikan karbohidrat 2,3 butanadiol dapat menggunakan sumber karbon dari citrat, menghasilkan enzim urease, katalase, oksidase

Penulis berharap penelitian ini dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu mengidentifikasi senyawa yang dihasilkan bakteri A₂³ karena bakteri ini mampu membunuh bakteri wakil gram positif dan gram negatif. Identifikasi senyawa yang dihasilkan bakteri tersebut saja tidak cukup yang terpenting adalah penelitian untuk mencari cara efektif membiakan bakteri A₂³ serta cara efektif untuk mengambil senyawa yang dihasilkan bakteri tersebut dalam skala besar serta cara efektif untuk mengekstrak senyawa yang dihasilkan oleh bakteri tersebut

DAFTAR PUSTAKA

- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan: Malang.
- Ernawati, 2008. *Prosedur Pemeriksaan Bakteri Lab. Bakteriologi Balai Karantina Ikan Kelas I. Sultan Mahmud Badarudin II*.
- Hadioetomo, R. S. 1995. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia
- Lay. B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 167 hlm.
- Lee. Y. K, Hyun. L. J, Kum. H. L. 2001. *Simbiosis Mikroba Dalam Spons Laut*. Korea Ocean Research & Development Institute: Seoul
- Madigan MT, Martinko JM, and Parker J. 2003. *Brock Biology of Microorganisms*. Ed ke-10. Prentice hall. New York
- Nofiani. R, Nurbetty. S, Sapar. A. 2009. *Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons Dari Pulau Lemukutan Kalimantan Barat*. Universitas Tanjung Pura: Pontianak.