

Pengaruh Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In vitro*

MUNTI SARIDA, TARSIM, DAN IWAN FAIZAL

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Lampung, Indonesia

INTISARI: Penyakit Vibriosis disebabkan serangan bakteri *Vibrio* sp. berupa penyakit kunang - kunang khususnya *V. harveyi*. Penggunaan obat dan antibiotik dilarang karena membahayakan manusia dan menimbulkan sifat resisten. Buah mengkudu mengandung zat aktif antibakteria yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah mengkudu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*, pengujian dilakukan dengan dua metode yaitu metode tanam menggunakan media tumbuh TSA 2,5% NaCl dan metode sebar menggunakan media tumbuh TSB 2,5% NaCl dengan kepadatan bakteri 10^5 cfu/ml. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 perlakuan volume uji ekstrak buah mengkudu yaitu 0,25 ml ; 0,50 ml ; 0,75 ml dan 0 ml (kontrol), tiap perlakuan 4 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah mengkudu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* ($P < 0,01$). Perlakuan 0,5 ml dan 0,75 ml memiliki efektivitas yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* yaitu selama 48 jam waktu inkubasi. Volume optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* adalah 0,50 ml ekstrak buah mengkudu dengan rerata zona hambat maksimum $5,25 \pm 0,85$ mm dan daya hambat selama 48 jam waktu inkubasi.

KATA KUNCI: *vibrio harveyi*, penyakit kunang-kunang, mengkudu

ABSTRACT: *Vibrio harveyi* is known as marine bacteria and commonly seen on shrimp breeding media, it has apotunist characteristic. The luminescent vibriosis disease caused *Vibrio harveyi* bacteria. Noni fruit (*Morinda citrifolia L.*) is known as herbal pesticide containing active antibacterial agent which is able to inhibit the growth of pathogenic bacteria. This research was aimed to determine the effect of extract noni in inhibiting growth of *V. harveyi* bacteria *in vitro*, the tests were performed in two methods: inoculation method using growth media *Tryptic Soy Agar* (TSA) 2.5% NaCl and spread methods using *Tryptic Soy Borth* (TSB) 2.5% NaCl with bacteria's density 10^5 cfu/ml. The research was designed using Completely Random Design with three volume test treatments of extract noni 0.25 ml; 0.50 ml; 0.75 ml; and 0 ml (control) respectively, each treatment was repeated 4 times. The results showed that the extract noni was able to inhibit *V. harveyi* growth *in vitro*. The control and 0.75 ml are not significant different, but 0.5 ml and 0.75 ml had have the same effectivity in inhibiting *V. harveyi* growth for 48h incubation. The optimum dosage 0,50 ml treatment which is maximum inhibition zone (5.25 ± 0.85 mm) and resistivity 48h incubation.

KEYWORDS: *vibrio harveyi*, the luminescent vibriosis, extract noni fruit

E-MAIL: munti@unila.ac.id

September 2010

1 PENDAHULUAN

Penyakit vibriosis disebabkan oleh infeksi bakteri *Vibrio* Sp. *Vibrio harveyi* adalah spesies bakteri penyebab penyakit kunang-kunang (*luminescent vibriosis*) pada larva udang windu (*Penaeus monodon Fabr*)^[1,2]. Udang windu pada fase zoea paling rentan terhadap serangan bakteri *V. harveyi*^[3]. Selama ini antibakteria sintetis banyak digunakan dalam *aquaculture* seperti *Cloramphenicol* dan *Oxytetracycline* untuk menghambat atau membunuh bakteri patogen pada udang windu. Dampak dari penggunaan an-

tibakteria sintetis banyak menimbulkan masalah baru seperti resistensi bakteri, retensi bahan toksik dan bersifat residu bagi tubuh konsumen. Hal ini berimbas pada penolakan hasil perikanan yang diduga masih menggunakan pestisida^[4].

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) yang diduga memiliki kandungan skopoletin, antrakuinon, acubin, dan alizarin yang merupakan zat fitokimia dan antibakteria^[5,6]. Ekstraksi buah mengkudu dengan pelarut etanol mampu menghambat dan membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila*^[7]. Dalam rangka menghasilkan produk perikanan non-toksik, perlu dilakukan

penggunaan bahan-bahan alami seperti ekstrak buah mengkudu yang diharapkan dapat menekan penyakit *luminescent vibriosis* yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*.

Tanaman mengkudu merupakan salah satu tanaman tropika yang cukup banyak ditemukan diberbagai tempat. Secara keseluruhan daun mengkudu mengandung zat nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh seperti protein, vitamin dan mineral. Daun Mengkudu mengandung protein, khususnya Asam Amino Essensial dan non Essensial, vitamin (Provitamin A; Vit A ; Vit C; Vit B5; Vit B1; Vit B2) dan mineral (Ca, P, Se, Fe) Mengkudu mengandung alkaloid penting yaitu Proxeronin (jenis asam koloid yang tidak mengandung gula, asam amino atau asam nukleat dengan bobot molekul lebih dari 16.000), dalam jumlah besar. Xeronin ini membantu memperluas lubang usus kecil sehingga memudahkan proses penyerapan makanan, memperbaiki tugas kelenjar tiroid dan timus yang penting untuk kekebalan tubuh dan perlawanan menghadapi infeksi dari luar, mengaktifkan enzim-enzim dan mengatur fungsi protein di dalam sel^[5,6]. Daun mengkudu mengandung antrakuinon, glikosida sebagai anti kanker^[6]. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

2 METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian meliputi enam tahap yaitu: Persiapan Penelitian. Persiapan penelitian diawali dengan persiapan dan sterilisasi alat. Pertri dan tabung reaksi disemprot dengan alkohol 70% dan dibersihkan menggunakan tisu. Sebelum dioven alat dibungkus dengan kertas kopi yang bertujuan untuk mencegah alat terkena air. Pengovenan alat sekitar 2,5 jam pada suhu 170°C.

Penghomogenisasian Media. Penelitian ini menggunakan media umum TSA dan TSB dengan penambahan 2,5% NaCl. Sebanyak 30 g media TSA ditambah dengan 18,75 g NaCl dan dilarutkan ke dalam 750 ml aquades. Homogenisasi media menggunakan labu erlenmeyer sebagai wadah dan *stirrer magnetic* alat pengaduk media. Media dihomogenkan di atas *hot plate* dengan kecepatan sekitar 500 rpm, selanjutnya media yang homogen disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media TSA steril dituang ke dalam petri, setiap petri berisikan sebanyak 15 ml media TSA 2,5% NaCl.

Sebanyak 1,6 g media TSB dilarutkan ke dalam 50 ml aquades dan ditambah 1,25 g NaCl. Homogenisasi media menggunakan labu erlenmeyer sebagai wadah dan *stirrer magnetic* alat pengaduk media. Media

yang homogen selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media TSB steril dituang ke dalam 16 tabung reaksi bervolume 5 ml, setiap tabung reaksi berisikan 3 ml media TSB 2,5% NaCl.

Reinokulasi Bakteri *Vibrio harveyi*. Reinokulasi bakteri *V. harveyi* dengan cara penumbuhan berulang (2-3 kali) pada media tumbuh TSA. Sebanyak satu lup *V. harveyi* diinokulasi pada media tumbuh TSA 2,5% NaCl dengan menggunakan jarum *ose* secara *continue streak*. Sedangkan reinokulasi bakteri *V. harveyi* pada media TSB 2,5% NaCl diawali dengan pengenceran bakteri *V. harveyi*. Sebanyak 1 ml *V. harveyi* dengan kepadatan 105 cfu/ml dimasukkan ke dalam 3 ml media TSB 2,5% NaCl.

Ekstaksi Buah Mengkudu. Buah mengkudu diekstraksi dengan cara diblender dan disaring (*mesh size* 0,5 mm). Pengujian dalam bentuk ekstrak cair (*liquid*) dalam satuan volume.

Pembuatan Agar Bor. Pembuatan agar bor menggunakan pipa aluminium berdiameter 10 mm dan ketebalan pipa 1 mm. Penanaman ekstrak buah mengkudu pada agar bor dengan cara membuat perbandingan antara ekstrak mengkudu : media TSA 2,5% NaCl yaitu P1 (7,5 : 22,5 ml), P2 (15 : 15 ml), P3 (22,5 : 7,5 ml), dan kontrol (30 ml media TSA). Selanjutnya campuran media TSA dan ekstrak buah mengkudu dituang ke dalam petri dan dididamkan selama 15 menit hingga mengeras, media TSA 2,5% NaCl yang padat ditusuk menggunakan pipa aluminium hingga sebagian agar terambil dan membentuk agar bor.

Pengujian Bakteri *V. Harveyi*. Pengujian bakteri *V. harveyi* dengan metode tanam dengan menginokulasi satu lup koloni bakteri *V. harveyi* diinokulasi secara *continue streak* pada permukaan media TSA 2,5% NaCl steril. Selanjutnya agar bor diletakkan di atas goresan koloni bakteri *V. harveyi*. Pada penelitian zona hambat, terdapat 16 unit percobaan dan setiap unit percobaan diberi satu potongan agar bor sesuai perlakuan. Bakteri *V. harveyi* diinkubasi pada suhu 26°C - 29°C dalam inkubator, pengukuran zona hambat dilakukan setelah bakteri diinkubasi selama 48 jam. Pengujian bakteri *V. harveyi* dengan metode sebar, sebanyak delapan tabung reaksi disiapkan, masing-masing tabung diisi dengan 3 ml media TSB 2,5% NaCl dan ekstrak buah mengkudu sesuai dengan perlakuan. Empat tabung reaksi ditambahkan 1 ml bakteri *V. harveyi* dengan kepadatan 105 cfu/ml sebagai kontrol positif (+) dan empat tabung tanpa bakteri *V. harveyi* sebagai kontrol negatif (-).

Tiap tabung diberi label dan diinkubasi selama 96 jam pada suhu 26°C - 29°C. Pengamatan pada media TSB dan penumbuhan bakteri *V. harveyi* pada media TSA dilakukan setiap 12 jam, pengamatan pertama dimulai pada jam ke-36 setelah inkubasi. Bakteri *V. harveyi* yang tumbuh pada jam pengamatan diberi tanda positif (+) dan bakteri yang tidak tumbuh pada saat pengamatan diberi tanda negatif (-).

Parameter Diameter Zona Hambat (*inhibiting zone*). Menguji bakteri patogen secara *in vitro* penting untuk mengetahui kerentanan bakteri terhadap suatu bahan antibakteria. Metode difusi *disk* merupakan metode yang sesuai untuk menentukan kerentanan bakteri terhadap antibakteria. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang tampak di sekitar *disk* berkorelasi dengan nilai *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC)^[8]. Antibakteria yang terdifusi ke permukaan media tumbuh bakteri akan membentuk cincin hambatan di area pertumbuhan bakteri yang padat^[9]. Tingkat sensitivitas suatu zat antibakteria ditunjukkan melalui kepekaan bakteri dengan membentuk zona hambat (*inhibiting zone*)^[10]. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah 48 jam bakteri diinkubasi, pengukuran menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,02 mm. Bagian yang diukur yaitu diameter zona hambat terpanjang dan saling tegak lurus dengan agar bor.

Parameter Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi*.

Pengamatan pertumbuhan bakteri *V. harveyi* melalui metode sebar dilakukan dengan dua tahap yaitu tahap pertama membandingkan kekeruhan media TSB 2,5% NaCl antara kontrol positif dan kontrol negatif dengan melihat endapan koloni pada media, tahap kedua dilakukan inokulasi bakteri *V. harveyi* pada media TSA 2,5% NaCl dan diinkubasi 24 jam. Untuk bakteri *V. harveyi* yang tumbuh pada jam pengamatan tersebut diberi tanda positif (+) dan bakteri *V. harveyi* yang tidak tumbuh diberi tanda negatif (-). Pengamatan pada media TSB dan inokulasi bakteri *V. harveyi* pada media TSA dilakukan pada jam ke-36, 48, 60, 72, 84, dan 96, pengamatan koloni dengan bantuan cahaya pada *colony counter*.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

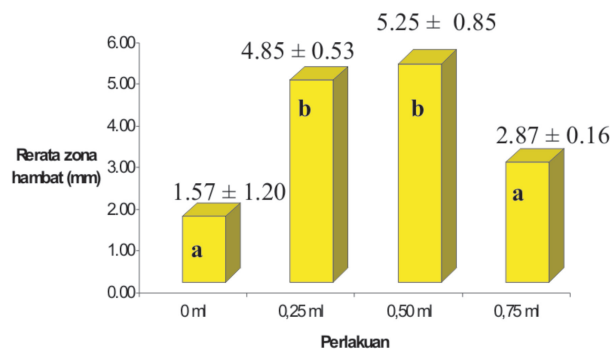
Zona hambat adalah daerah bening di sekitar agar bor yang tidak ditumbuhi koloni bakteri *V. harveyi* (Gambar 1). Pada media tumbuh TSA, bakteri *V. harveyi* berwarna kuning (*yellow*), sedangkan agar bor berwarna coklat, di antara agar bor dan koloni bakteri *V. harveyi* terdapat daerah transparan yang disebut zona hambat. Zona hambat menggambarkan sensitivitas antibakteria buah mengkudu dalam menghambat

pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.



GAMBAR 1: Zona hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah mengkudu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat. Zona hambat terbentuk melalui perpanjangan dari fase adaptasi bakteri *V. harveyi* di sekitar agar bor (Gambar 1). Pada penelitian ini diduga ada tiga adaptasi bakteri *V. harveyi* yaitu adaptasi fisik, adaptasi kimia, dan adaptasi biologis. Adaptasi fisik merupakan proses penyesuaian secara bertahap oleh bakteri terhadap agar bor pada media tumbuh, sedangkan adaptasi kimia merupakan proses penyesuaian bakteri terhadap bahan kimia buah mengkudu, dan adaptasi biologis merupakan penyesuaian kemampuan biologis bakteri *V. harveyi*, seperti bahan aktif antibakteria/pestisida yang akan terabsorpsi melalui rantai metabolisme bakteri^[11].



GAMBAR 2: Histogram zona hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*

Pada penelitian bakteri *V. harveyi* diinkubasi pada suhu 26°C - 29°C dikarenakan bakteri *V. harveyi* tergolong bakteri mesofil yang memiliki toleransi luas terhadap perubahan suhu. Diduga selama inkubasi bakteri *V. harveyi* pada suhu tersebut kepadatan agar bor berkurang dan selanjutnya bahan agar terdifusi ke permukaan media TSA 2,5% NaCl. Bahan agar yang bersifat kaku akan menutupi koloni *V. harveyi* yang berada di sekitar agar bor sehingga aktivitas sel

bakteri terganggu dan zona hambat terbentuk pada unit kontrol (0 ml ekstrak buah mengkudu). Agar merupakan senyawa kompleks karbohidrat, sebagai bahan pematid media tumbuh dan mengeras pada suhu 45°C.

Bahan aktif antibakteria dalam buah mengkudu yaitu antrakuinon dan skopoletin yang bersifat lisozim terhadap sel bakteri^[12]. Antrakuinon pada buah mengkudu adalah morindon dan skopoletin merupakan senyawa aromatik, kedua zat tersebut bekerja secara non-spesifik terhadap membran sitoplasma (membran sel) bakteri *V. harveyi*.

Antibakteria buah mengkudu bekerja seperti senyawa fenol yang dapat mengganggu aktivitas enzim yang diproduksi oleh bakteri^[8]. Sehingga pada penelitian ini diduga antibakteria buah mengkudu mampu menekan produksi enzim degradatif bakteri *V. harveyi* seperti enzim protease yang akan mengurai protein menjadi asam amino yang akan dibentuk menjadi protein penyusun sel bakteri *V. harveyi*. Difusi antibakteria dipercepat dengan kadar air buah mengkudu. Kadar air buah mengkudu (*M. citrifolia L.*) sekitar 85,50%^[6]. Hal ini berpengaruh terhadap besar kecilnya diameter zona hambat yang terbentuk pada media tumbuh bakteri *V. harveyi*.

Bakteri *V. harveyi* memperoleh bahan organik dari media tumbuh bakteri, bahan aktif buah mengkudu akan diabsorpsi oleh bakteri *V. harveyi* bersamaan dengan bahan organik. Bahan organik akan didegradasi oleh bakteri di ruang periplasma oleh enzim degradatif yang akan dipecah menjadi molekul sederhana^[12]. Bahan aktif buah mengkudu (*morindon* dan *skopoletin*) merupakan senyawa organik yang bersifat non-polar dalam bentuk glikosida dan kumarin yang relatif sulit untuk didegradasi oleh bakteri *V. harveyi*. Hal ini diduga terkait dengan cincin benzen pada senyawa tersebut.

Bahan aktif buah mengkudu akan tertimbun pada membran sitoplasma. Keberadaan bahan aktif buah mengkudu pada membran sitoplasma akan menekan sintesis enzim lain yang diperlukan untuk penguraian nutrisi. Selain itu proses transpor aktif menjadi terhambat sehingga pertumbuhan bakteri *V. harveyi* akan terhambat. Diduga melalui proses adaptasi kimia, bakteri *V. harveyi* mampu mensintesis enzim hidrolase untuk melisis gugus-gugus fungsi bahan aktif buah mengkudu. Enzim hidrolase termasuk ke dalam kelompok enzim yang bekerja sebagai katalis pada reaksi hidrolisis senyawa glikosida^[13].

Bahan aktif buah mengkudu juga berpengaruh terhadap aktivitas sel bakteri *V. harveyi*. Bahan aktif tersebut dapat menyebabkan lisis pada sel bakteri. Pada penelitian ini diduga sel bakteri *V. harveyi* mampu beradaptasi terhadap bahan aktif buah mengkudu yaitu dengan cara mencegah terjadinya sferoplas pada sel bakteri *V. harveyi*. Sferoplas adalah

keadaan sel bakteri yang tidak memiliki komponen peptidoglikan sehingga sel tidak memiliki sifat kaku yang akan memelihara tekanan osmosis^[12].

Adaptasi biologis bakteri *V. harveyi* merupakan respon negatif dari adaptasi fisik dan kimia yang berdampak terhadap gangguan metabolisme sel bakteri. Pertumbuhan bakteri *V. harveyi* terhambat karena keadaan biak bakteri, selama penelitian bakteri *V. harveyi* dikultur pada media tumbuh statik yang tidak dilakukan penambahan nutrisi dan pembuangan sisa metabolisme yang mengakibatkan ketersediaan bahan organik berkurang. Selain itu sisa metabolit bakteri *V. harveyi* seperti ammonia akan terakumulasi pada media tumbuh sehingga menjadi faktor pembatas (*limiting factor*) bagi pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Perlakuan dengan 0,25 ml ekstrak buah mengkudu yang diuji tanpa pengenceran mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* yaitu dengan membentuk diameter zona hambat sebesar 4,85±0,53 mm. Sedangkan konsentrasi 20% ekstrak buah mengkudu, pengenceran dengan aquades tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*^[13]. Diduga antibakteria buah mengkudu akan lebih aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri apabila tidak dilakukan pengenceran, glikosida antrakuinon mudah terhidrolisis.

Pada penelitian ini perlakuan 0,50 ml ekstrak buah mengkudu dari 500 g buah sampel membentuk zona hambat seluas 5,25 ± 0,85 mm terhadap bakteri *V. harveyi*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada volume uji yang sama dengan jumlah buah sampel yang lebih banyak (400 g) menghasilkan sensitivitas yang berbeda terhadap bakteri *V. harveyi*. Hal ini diduga proporsi buah sampel akan menambah akumulasi bahan antibakteria yang terdapat dalam ekstrak buah mengkudu sehingga daya hambat antibakteria meningkat terhadap bakteri *V. harveyi*. Pada perlakuan 0,75 ml ekstrak buah mengkudu, sensitivitas bakteri *V. harveyi* menurun (Gambar 1). Diduga pada perlakuan tersebut kadar organik buah mengkudu lebih tinggi sehingga antibakteria buah mengkudu bersifat ototoksik terhadap bakteri *V. harveyi*. Pada kadar organik kurang dari 50 ppm masih layak untuk meminimalisir tingkat populasi *V. harveyi*^[1]. Selain itu bakteri *V. harveyi* dapat beradaptasi terhadap tekanan lingkungan melalui berbagai cara yang efektif seperti pada konsentrasi tembaga 40 ppm bakteri *V. harveyi* mampu tumbuh tetapi kemampuan sel bakteri untuk memancarkan cahaya berkurang yang dikarenakan komunikasi antar sel menjadi terhambat^[14].

Antibakteria buah mengkudu memiliki daya hambat yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Pada kontrol (0 ml) dan 0,75 ml tidak berbeda nyata (Gambar 1), tetapi 0,75 ml memiliki daya hambat yang sama dengan 0,50 ml yaitu meng-

hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* selama 48 jam (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa bahan aktif buah mengku pengaruh yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Perlakuan dengan 0,50 ml ekstrak buah mengkudu merupakan dosis optimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* karena pada 0,50 ml menghasilkan rerata zona hambat maksimum $5,25 \pm 0,85$ mm dan memiliki daya hambat selama 48 jam terhadap bakteri *V. harveyi*.

TABEL 1: Daya hambat antibakteria buah mengkudu terhadap pertumbuhan; (+): Bakteri *V. harveyi* tumbuh, (-) : Bakteri *V. harveyi* tidak tumbuh

Ekstrak (ml)	Pengamatan Jam Ke-					
	36	48	60	72	84	96
0	+	+	+	+	+	+
0,25	-	+	+	+	+	+
0,50	-	-	+	+	+	+
0,75	-	-	+	+	+	+

4 SIMPULAN

Dari hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa Ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) memiliki pengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*. Perlakuan dengan 0,50 ml ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) merupakan dosis optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* karena membentuk zona hambat maksimum $5,25 \pm 0,85$ mm dan daya hambat selama 48 jam waktu inkubasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Bapak Ir. Putu Sumardiana, M.P. selaku kepala Stasiun Karantina Ikan Kelas II Panjang, Bandar Lampung atas izin utnuk pelaksanaan penelitian ini. Bapak Mino, dan Staf Stasiun karantina atas segala bantuan selama analisis di laboratorium dan yang banyak membantu demi kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rukyani, A., P. Taufik, dan Taufhid, 1992, Penyakit Kunang-kunang (*Luminescent vibriosis*) Di Hatchery Udang Windu dan Cara Penanggulangannya, *J. Puslitbang Perikanan*, No. 42, Staf Peneliti Hama dan Penyakit Ikan dan Udang, p 49 - 50
- [2] Lavilla-Pitogo C.R., E.M. Leanö, and M.G. Paner, 1998, Mortalities of pond cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent vibriosis in the rearing environment, *Aquaculture*, 164:337-349
- [3] Mariyono, A. Wahyudi, dan Sutomo, 2002, Teknik Penanggulangan Penyakit Udang Menyala Melalui Pengendalian Populasi Bakteri Di Laboratorium, *J. Buletin Teknik Pertanian*, Vol. 7, p. 26
- [4] Maryani, D. Dana, dan Sukenda, 2002, Peranan ekstrak kelopak dan buah mangrove *Sonneratia caseolaris* (L) terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon* FAB.), *Akuakultur Indonesia I* (3), 129-138
- [5] Djauhariya, E., 2003, Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Tanaman Obat Potensial, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, *J. Perkembangan Teknologi TROL*, Vol. XV, No. 1, p. 21
- [6] Djauhariya, E., M. Raharjo, dan Ma'mun, 2006, Karakteristik Morfologi dan Mutu Buah Mengkudu, *Buletin Plasma Nutfah*, Vol.12, No 1, Th 2006, Balai Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor, Hal. 6
- [7] Widyaanita, H., 2006, Daya Antibakteri Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) yang Diekstraksi dengan Etanol dan Yang Diekstraksi dengan Air Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara *in vitro*, Abstrak, *JIPTUNAIR*, Universitas Airlangga, Surabaya
- [8] Katzung, B.G., 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi 8, Salemba Medika, Jakarta, p. 186
- [9] Schlegel, H.G. dan K. Schmidt, 1994, *Mikrobiologi Umum*, Edisi Ke-6. Terjemahan Tedjo Baskoro, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, p 3, 33, 34, 116, 218, 224
- [10] Effendi, I., 1997, Studi Pendahuluan Tumbuhan Mangrove Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Penyakit Udang *Vibrio Parahaemolyticus* dan *V. harveyi*, Abstrak, *Mikrobiologi Laut Stasiun Kelautan Dumai*,
- [11] Petrus, R., P. Masak, E. Supriyono, K. Nirmala, dan S. Koesoemadinata, 2006, Laju Penyerapan Insektisida Triklorfon Pada Udang Windu (*P. monodon*), *J. Riset Aquaculture*, Vol 1, No. 1, Pusat Riset Perikanan Budidaya, Jakarta, p. 108
- [12] Irianto, K., 2006, *Mikrobiologi*, Jilid 1, YramaWidya, Bandung, P. 36, 77, 78.
- [13] Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, Universitas Indonesia, Jakarta, pp. 1 dan 155.
- [14] Nakayama, T., N. Nomura, dan M. Matsumura, 2006, The Effect of Copper Conterations on The Virulence of Pathogenic *Vibrio harveyi*, *J. of Applied Microbiology*, Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Japan, pp. 1300-1304.