



PEMANFAATAN EKSTRAK BUAH *Rhizophora* sp. SEBAGAI ANTI BAKTERI TERHADAP BAKTERI PATOGEN IKAN AIR TAWAR

Herman Apriyanto^{*†}, Esti Harpeni[‡], Agus Setyawan[‡], dan Tarsim[‡]

ABSTRAK

Buah *Rhizophora* sp. mengandung berbagai macam senyawa anti bakteri dan berpotensi sebagai antibiotik alami. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari potensi anti bakteri dari ekstrak buah *Rhizophora* sp. terhadap beberapa bakteri patogen pada ikan air tawar. Buah *Rhizophora* sp. diekstraksi dengan menggunakan tiga pelarut yaitu metanol, etil asetat, dan heksana. Ekstrak diuji aktivitas anti bakterinya terhadap empat spesies bakteri air tawar *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Streptococcus iniae* dengan beberapa jenis pengujian yaitu sensitifitas, zona penghambatan, MIC (Konsentrasi Penghambatan Minimum), MBC (Konsentrasi Bakterisidal Minimum), toksisitas dan ITC (*Inhibition Time Course*). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak buah *Rhizophora* sp. yang diekstraksi dengan etil asetat, memiliki kemampuan paling besar untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae* dengan nilai 500 mg/L dan MBC sebesar 600 mg/L. Pengujian toksisitas dengan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) ekstrak buah *Rhizophora* sp. dengan etil asetat bersifat toksik dengan nilai LC_{50} 610,9 mg/L (< 1000 mg/L). Dan pengujian ITC selama 24 jam tidak menghasilkan penghambatan terhadap pertumbuhan *S. iniae*.

Kata kunci : antibakteri, mangrove, polaritas, patogen, *in vitro*

Pendahuluan

Penyakit merupakan salah satu pembatas keberhasilan usaha budidaya perikanan yang diakibatkan oleh virus, jamur, parasit, dan juga bakteri (Purwaningsih dan Tauhid, 2010). Beberapa penyakit bakterial yang sering

menyerang ikan dan patogennya antara lain *Aeromonas* sp. penyebab penyakit *aeromoniasis* pada ikan air tawar seperti lele (*Clarias* sp.), ikan mas (*Cyprinus carpio*), dan gurame (*Osphronemus gouramy*) (Jayavignesh *et al.*, 2011), *Streptococcus* sp. penyebab penyakit *streptococcosis* pada nila

* Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

† Email : MidzanAprian@gmail.com

‡ Dosen Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

Alamat : Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung Jl. Soemantri Brojonegoro Gedong Meneng No. 1 Bandar Lampung 35145

(*Oreochromis niloticus*) (Purwaningsih dan Taukhid, 2010), dan *Edwardsiella* sp. penyebab penyakit edwardsiellosis (Nadirah, 2012).

Selama ini pencegahan dan pengobatan terhadap serangan bakteri dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia yang residunya bisa berdampak buruk terhadap lingkungan perairan. Akan tetapi pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antibiotik menjadi tidak efektif (Trianto dkk., 2004).

Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan penyakit bakterial adalah dengan menggunakan antibiotik alami dari tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai antibakteri, karena antibiotik alami memiliki keunggulan mudah didapat, ramah lingkungan dan murah (Wardani dkk., 2012). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami adalah mangrove *Rhizophora* sp. karena mengandung senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan juga tanin (Rohaeti dkk., 2010).

Rhizophora sp. telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk pengobatan alami seperti pada bagian kulit kayu, bunga, dan daunnya (Purnobasuki, 2004). Bagian lain dari *Rhizophora* sp. yang dapat dimanfaatkan adalah buahnya yang merupakan tempat penyimpanan cadangan makanan. Bagian ini juga diduga mengandung senyawa-senyawa antibakteri yang berguna bagi pengobatan infeksi oleh bakteri (Priyono, 2010). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi antibakteri buah *Rhizophora* sp. terhadap bakteri-bakteri patogen pada

ikan air tawar. Penelitian ini penting dilakukan untuk membuka potensi baru penggunaan bahan-bahan alamiah untuk pengobatan penyakit ikan.

Bahan dan Metode

Ekstraksi Buah Mangrove Rhizophora sp.

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi (Wardani dkk., 2012). Buah yang matang (berwarna hijau kecoklatan) dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan pada suhu ruangan, selanjutnya buah dihaluskan menggunakan blender sampai didapatkan bubuk halus.

Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam 500 gram bubuk buah *Rhizophora* sp. dengan 3 jenis pelarut yaitu hexan, etil asetat dan metanol masing-masing sebanyak 2500 ml selama 2x24 jam. Larutan disaring dengan menggunakan kertas saring (Whatman) dan dievaporasi menggunakan *vacum evaporator* sehingga didapatkan ekstrak buah *Rhizophora* sp.

Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak buah *Rhizophora* sp. murni yang dilarutkan menggunakan 3 pelarut berbeda terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas stutzeri*, dan *Streptococcus iniae* dengan metode difusi (*diffusion test*) menggunakan kertas cakram. Sebanyak 20 μ l isolat cair bakteri uji masing – masing dengan kepadatan 10^7 cfu/ml ditetaskan pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*) lalu diratakan dengan *spreader*. Kertas cakram dengan diameter 6 mm yang telah direndam di dalam masing-masing

ekstrak buah *Rhizophora* sp selama 15 menit, kemudian diletakkan pada permukaan media TSA dan diinkubasi selama 18-24 jam. Pengamatan Uji sensitivitas dilakukan dengan melihat zona hambat ekstrak buah *Rhizophora* sp. yang terbentuk terhadap bakteri *A. hydrophilla*, *E. tarda*, *P. stutzeri*, dan *S. iniae*. Hasil dari uji sensitivitas yg menunjukkan diameter terbesar dipakai di dalam uji zona hambat.

Uji Zona Hambat

Uji zona hambat dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Sebanyak 20 µl isolat cair bakteri hasil uji sensitivitas dengan kepadatan 10^7 cfu/ml ditetaskan pada media TSA lalu diratakan dengan *spreader*. Kertas cakram dengan diameter 6 mm yang telah direndam selama 15 menit di dalam ekstrak buah *Rhizophora* sp. pada konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 mg/L, kemudian ditempelkan pada TSA. Kontrol positif dilakukan dengan memberikan kertas cakram yang direndam antibiotik *oxytetracycline*, sedangkan kontrol negatif berupa kertas cakram netral (hanya diberi akuades). Setelah diinkubasi selama 24 jam, diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur dengan jangka sorong.

Uji MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

Uji MIC bertujuan untuk mencari konsentrasi terendah bahan anti bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Langkah awal yang dilakukan yaitu memasukkan 4,5 ml media MHB (*Mueller-Hinton Broth*) ke dalam 8 buah tabung reaksi. Ekstrak buah *Rhizophora* sp. dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600 mg/L, dan kontrol positif (antibiotik *oxytetracycline*) dimasukkan sebanyak

0,5 ml ke dalam masing-masing tabung reaksi. Kemudian suspensi bakteri uji dengan kepadatan 10^7 cfu/ml sebanyak 0,1 ml ditambahkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Hasil pengamatan dibandingkan dengan larutan pembanding (larutan MHB dan ekstrak) sehingga dapat diketahui adanya media yang jernih yang menunjukkan nilai MIC.

Uji MBC (Minimum Bactericidal Concentration)

Penentuan MBC dapat dilakukan setelah menginokulasikan larutan dari tabung MIC terjernih pada media. Diambil 0,1 ml suspensi bakteri dari tabung pada perlakuan yang menunjukkan nilai MIC, kemudian ditumbuhkan dalam medium TSA. Diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada TSA. Nilai MBC ditentukan dari konsentrasi terendah ekstrak yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni pada cawan petri.

Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test)

Uji toksisitas yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam dengan menggunakan *Artemia salina* (Juniarti dkk., 2009). Sampel yang akan diuji BSLT adalah 0,5 : 1 : 1,5 : 2 : 2,5 : 3 kali dari hasil uji MIC dengan masing-masing 3 kali ulangan. Penambahan larutan ekstrak dan air laut sampai 2 ml. Larva *A. salina* dimasukkan masing-masing 20 ekor dengan menggunakan pipet ke dalam wadah uji. Larutan dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang hidup dan mati dari tiap perlakuan. Perhitungan

dengan log konsentrasi sebagai sumbu X terhadap mortalitas sebagai sumbu Y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier $y = a + bx$. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm (Juniarti dkk., 2009).

Uji Inhibition Time Course (ITC)

Uji *Inhibition Time Course* bertujuan mengamati kecepatan ekstrak dapat menghambat bakteri. Uji *inhibition time course* dengan membuat media TSB (*Tryptic Soy Broth*), lalu dimasukkan ke dalam tiap tabung erlenmayer sebanyak 50 ml, kemudian ekstrak dimasukkan ke dalam tiap tabung erlenmayer sehingga dosis ekstrak menjadi 1xMIC, 2xMIC, dan 3xMIC, dengan kontrol positif menggunakan *oxytetracycline*, dan kontrol negatif tanpa pemberian antibiotik. Kemudian, sebanyak 50 μ l dengan kepadatan 10^5 sel/ml inokulasi bakteri yang telah disiapkan 1 hari sebelumnya dimasukkan ke dalam erlenmayer. Pengamatan dilakukan

setiap 3 jam sekali selama 24 jam menggunakan spektrofotometer.

Hasil dan Pembahasan

Uji Sensitivitas

Hasil uji sensitivitas menunjukkan hanya bakteri *S. iniae* yang sensitif terhadap ekstrak buah *Rhizophora* sp. dengan tiga pelarut yang berbeda. Sedangkan *E. tarda* hanya sensitif terhadap ekstrak buah *Rhizophora* sp. dengan pelarut heksana (Tabel 1). Suada (2012) mengkategorikan daya hambat suatu bahan dengan berdasarkan diameter zona hambatnya, yaitu sangat kuat (> 20 mm), kuat (10 - 20 mm), sedang (5 - 10 mm), dan lemah (< 5 mm). Berdasarkan pada kategori respon hambat tersebut, ekstrak buah *Rhizophora* dengan pelarut etil asetat memiliki respon hambat yang sangat kuat terhadap *S. iniae* karena diameter zona hambatnya lebih dari 20 mm. Sedangkan ekstrak dengan pelarut metana dan heksana tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *S. iniae*.

Tabel 1. Diameter zona hambat (mm) ekstrak buah *Rhizophora* sp. terhadap 4 jenis bakteri

Ekstrak Buah <i>Rhizophora</i> sp.	Jenis Bakteri			
	<i>A. hydrophilla</i>	<i>E. tarda</i>	<i>P. stutzeri</i>	<i>S. iniae</i>
Metanol	-	-	-	19,35 mm
Etil Asetat	-	-	-	28,50 mm
Heksana	-	6,25 mm	-	11,5 mm

Bakteri *Streptococcus iniae*, yang merupakan gram-positif (Locke *et al.*, 2007), cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding selnya yang lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Sedangkan pada

bakteri *E. tarda*, yang merupakan gram-negatif (Park *et al.*, 2012) struktur selnya lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar yang berupa *lipoprotein*, lapisan tengah berupa *lipopolisakarida*, dan lapisan dalam yang berupa *peptidoglikan*. Hal inilah yang menyebabkan bakteri *S. iniae*

memiliki daerah hambatan yang lebih besar dibandingkan bakteri *E. tarda*.

Uji Zona Hambat

Hasil uji zona hambat menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan akan menghasilkan diameter zona hambat yang semakin luas (Tabel 2). Zona hambat yang terbentuk pada ke-6 konsentrasi ekstrak sangat lemah (< 5 mm) (Suada, 2012). Pada konsentrasi 100 mg/L tidak terbentuk zona hambat sama sekali. Zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 600 mg/L sekitar 2,93 mm. Namun masih sangat jauh bila dibandingkan dengan diameter zona hambat pada kontrol

positif yang menggunakan antibiotik OTC, yakni sekitar 28,75 mm.

Uji MIC

Hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ditunjukkan dengan media MHB yang jernih dengan konsentrasi terendah (Tabel 3). Pada konsentrasi 200 – 600 mg/L MHB terlihat keruh sedangkan pada konsentrasi 500 mg/L dan 600 mg/L MHB terlihat jernih. Hal menunjukkan nilai MIC terdapat pada konsentrasi 500 mg/L. MHB yang keruh menunjukkan adanya bakteri yang tumbuh, sedangkan MHB yang bening menunjukkan bakteri yang tidak tumbuh.

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak *Rhizophora* sp. terhadap bakteri *Streptococcus iniae*

Konsentrasi ekstrak (mg/L)	Diameter Zona Hambat (mm)
Kontrol (+) (OTC 300 mg/L)	28,75
Kontrol (-)	0
100	0
200	1,03
300	1,87
400	2,25
500	2,65
600	2,93

Uji MBC

Hasil inokulasi pada konsentrasi 600 mg/L tidak ada bakteri yang tumbuh, sementara pada konsentrasi 500 mg/L bakteri masih tumbuh (Tabel 4). Pada media TSA yang di inokulasikan MHB konsentrasi ekstrak 500 mg/L menunjukkan sedikit koloni bakteri

yang tumbuh. Sedangkan pada TSA yang telah diinokulasikan MHB konsentrasi ekstrak 600 mg/L tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh. Hal ini dapat disimpulkan ekstrak dengan konsentrasi 600 mg/L merupakan nilai MBC karena mampu membunuh bakteri secara total.

Tabel 3. Hasil Uji MIC Bakteri *S. iniae* dengan konsentrasi Ekstrak 200 – 600 mg/L. Tanda (+) menunjukkan MHB yang keruh, sedangkan tanda (-) menunjukkan MHB yang jernih

Konsentrasi Ekstrak (mg/L)	Pertumbuhan Bakteri
Kontrol (+)	-
Kontrol (-)	+
200	+
300	+
400	+
500	-
600	-

Tabel 4. Hasil Uji MBC Bakteri *S. iniae* dengan konsentrasi ekstrak 500 dan 600 mg/L. Tanda (+) menunjukkan masih adanya koloni bakteri yang tumbuh, sedangkan tanda (-) menunjukkan tidak ada koloni bakteri yang terlihat.

Konsentrasi Ekstrak (mg/L)	Pertumbuhan Bakteri
Kontrol (+)	-
Kontrol (-)	+
500	+
600	-

Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test)

Semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi mortalitas artemia. Hasil pengamatan dan perhitungan hasil uji

toksisitas dari penelitian ini menunjukkan ekstrak buah *Rhizophora* sp. bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ 610,9 mg/L (< 1000 mg/L) (Juniarti dkk., 2009) (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil perhitungan uji toksisitas

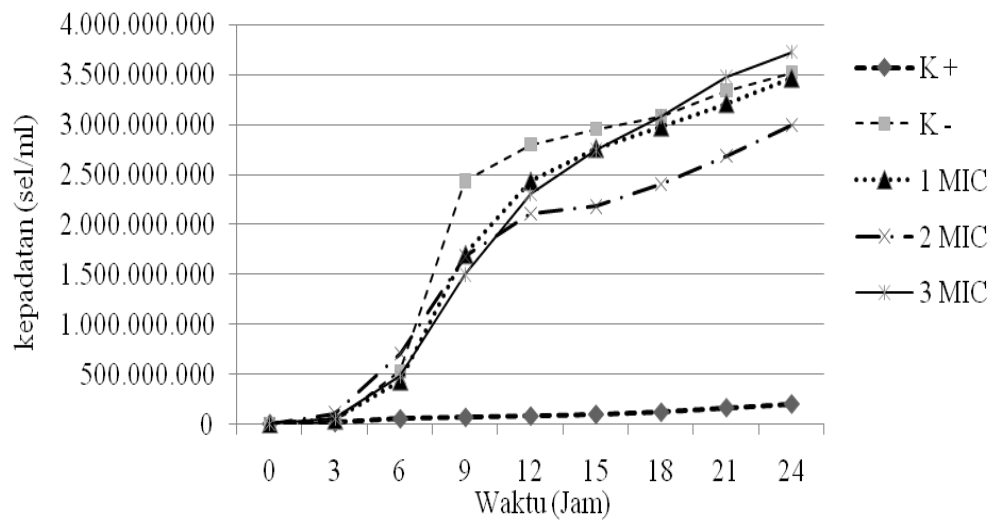
Konsentrasi (mg/L)	Angka hidup	Angka mati	Akumulasi mati	Akumulasi hidup	Akumulasi mati / total	Mortalitas	LC ₅₀
0	60	0	0	202	0/202	0 %	610,9 mg/L
250	37	23	23	142	23/165	14 %	
500	31	29	52	105	52/157	33 %	
750	24	36	88	74	88/162	54 %	
1000	19	41	129	50	129/179	72 %	
1250	17	43	172	31	172/203	85 %	
1500	14	46	218	14	218/232	94 %	

Tingginya mortalitas pada artemia terjadi karena tingginya aktivitas bioaktif dari ekstrak buah *Rhizophora* sp. yang mengandung senyawa seperti alkaloid, saponin, dan fenolik (Rohaeti dkk., 2010). Adanya senyawa-senyawa tersebut, dengan kadar tertentu, memiliki potensi dalam membunuh *Artemia salina*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka akan semakin tinggi mortalitas artemia. Dengan nilai LC₅₀ 610,9 mg/L menunjukkan ekstrak *Rhizophora* sp. bersifat toksik (LC₅₀ < 1000 mg/L) dan

tidak dapat digunakan pada uji *In vivo* (uji tantang pada ikan uji).

Uji Inhibition Time Course

Pada konsentrasi ekstrak *Rhizophora* sp. 1x MIC (500 mg/L) dan 3x MIC (1500 mg/L) hampir menyamai pertumbuhan pada kontrol negatif. Pertumbuhan pada konsentrasi ekstrak 2x MIC (1000 mg/L) dibawah konsentrasi ekstrak 1x MIC dan 3x MIC. Sedangkan pertumbuhan bakteri pada kontrol positif (antibiotik *oxytetracycline*) terjadi secara perlahan namun masih jauh dibawah konsentrasi ekstrak 1x MIC, 2x MIC, dan 3x MIC (Gambar 1)



Gambar 1. Kepadatan bakteri uji *inhibition time course* bakteri *Streptococcus iniae* selama 24 jam

Pertumbuhan bakteri terus meningkat setiap 3 jam pada konsentrasi ekstrak 500 mg/L (1xMIC), 1000 mg/L (2x MIC), dan 1500 mg/L (3x MIC). Peningkatan terpesat dimulai pada jam ke-6 dan terus naik hingga jam ke-24. Setelah 24 jam, grafik pertumbuhan bakteri pada tiga dosis ekstrak masih menunjukkan kenaikan (fase pertumbuhan eksponensial) dan belum menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan (fase kematian) ataupun pertumbuhan yang konstan (fase stasioner) bakteri. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ekstrak buah *Rhizophora* ini memiliki waktu mulai hambat yang lama (> 24 jam). Hal ini sangat kontras dengan antibiotik *oxytetracycline* (kontrol positif) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae* pada 3 jam pengamatan pertama. Disamping itu, kelemahan dari alat Spektrofotometer adalah bakteri-bakteri yang telah mati ikut terhitung juga, sehingga tidak dapat diketahui adanya penurunan jumlah kepadatan, tapi grafik akan menunjukkan keadaan

yang konstan jika kepadatan bakteri tidak bertambah lagi. Setelah 24 jam kepadatan bakteri pada dosis ekstrak 500 mg/L (1MIC) dan 1500 mg/L (3 MIC) berada di sekitar $3,5 \times 10^9$ sel/ml, sedangkan pada dosis 1000 mg/L (2 MIC) kepadatan bakteri sekitar 3×10^9 sel/ml. Pada kontrol positif, bakteri *S. iniae* mengalami peningkatan kepadatan walaupun tidak terlalu tinggi, yaitu masih dibawah 5×10^7 sel/ml setelah 24 jam.

Kesimpulan

Ekstrak buah *Rhizophora* sp. mampu menghambat bakteri *S. iniae* meskipun respon hambatnya sangat lemah, uji toksisitas menunjukkan ekstrak buah *Rhizophora* sp. bersifat toksik sehingga tidak dapat digunakan pada uji *In vivo*, tetapi dapat dikembangkan menjadi obat antikanker. Uji *Inhibition Time Course* selama 24 jam belum menunjukkan waktu ekstrak buah *Rhizophora* sp. menunjukkan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae*

DAFTAR PUSTAKA

- Jayavignesh, V., K. Sendesh Kannan, and Abhijith D. Bath. 2011. Biochemical Characterization and Cytotoxicity of the *Aeromonas hydrophila* Isolated from Catfish. Archives of Applied Science Research 3: 85-93.
- Juniarti, D., Osmeli, dan Yuhernita. 2009. Kandungan Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.). Makara Sains 13: 50-54.
- Locke, J.B., Kelly M. Colvin, Nissi Varki, Mike R. Vicknair, Victor Nizet, and John T. Buchanan. 2007. *Streptococcus iniae* B-Hemolysin Streptolysin S is a Virulence Factor in Fish Infection. Disease of Aquatic Organisms 76: 17-26.
- Nadirah, M., Najiah M., and Teng S.Y. 2012. Characterization of *Edwardsiella tarda* Isolated from Asian Seabass, *Lates calcarifer*. International Food Research Journal 19: 1247-1252.
- Park, S. B., T. Aoki and T.S. Jung. 2012. Pathogenesis of and Strategies for Preventing *Edwardsiella tarda* Infections in Fish. Veterinary Research 43:67-72.
- Priyono, A. 2010. Panduan Praktis Teknik Rehabilitasi Mangrove di Kawasan Pesisir Indonesia. Kesemat. Semarang. 64 p.
- Purnobasuki, H. 2004. Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat. Biota 9: 125-126.
- Purwaningsih, U dan Tauhid. 2010. Vaksin Anti *Streptococcus* spp. Inaktivasi Melalui Heatkilled untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. p.901-904
- Rohaeti, E., Batubara, I., Lieke, A., dan Darusman, LK. 2010. Potensi Ekstrak *Rhizophora* sp. Sebagai Inhibitor Tirosinase. Prosiding Semnas Sains III. IPB, Bogor, 13 November 2010. p. 196-201
- Suada, I. K. 2012. Keragaman Aktivitas Antifungi Biota Laut terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* Penyebab Busuk Batang Vanili. Jurnal Bumi Lestari 12: 66-70.
- Trianto A. Wibowo, E. Suryono, dan Sapta R. 2004. Ekstrak daun mangrove *Aegiceras corbiculatum* sebagai antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Ilmu kelautan 9:186-189.
- Wardani, R.K., Wahyu T., dan Budi S.R. 2012. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper rocatum*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro. Jurnal Ilmiah dan Kelautan 4: 59-64