

Sensitivitas Larutan Biji Mangga Harumanis (*Mangifera indica* L) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Sensitivity of Harumanis Mango Seed (*Mangifera indica* L) Solution toward *Aeromonas hydrophila*

Siti Telaumbanua^{1*}, Iesje Lukistyowati², dan Henni Syawal²

¹Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

*Email: siti_tel@yahoo.com

Abstrak

Diterima
15 Maret 2018

Disetujui
22 Maret 2019

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2017, di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L) terhadap *Aeromonas hydrophila*, *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan Lethal Dosis 50 (LD₅₀). Metode penelitian yang digunakan adalah metode cakram KIRBY-BAUER dosis; D1: 100%; D2: 90%; D3: 80%; D4: 70%; D5: 60%; D6: 50%; D7: 40%; D8: 30%; D9: 20% D10: 10%, dan K: Control (*Oxytetracyclin*). Ikan uji yang digunakan berukuran 7-9 cm. LD₅₀ dilakukan secara perendaman selama 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan biji mangga sensitiveterhadap bakteri *A. hydrophila* dan mampu menghambat *A. hydrophila* hingga pada dosis 0,09% dengan zona hambat 7,31 mm, *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) adalah 0,1% (1000 ppm) jumlah koloni 270,66 sel/ mL. Dosis LD₅₀ adalah 2115,85 ppm.

Kata kunci: Biji mangga harumanis, *Aeromonas hydrophila*, Antimikroba, LD₅₀

Abstract

Research was conducted from October to December 2017, at the labory Examination of Fish Disease, Fisheries and Marine Faculty of Universitas Riau. The Purpose of this study was to determine the sensitivity of harumanis mango seed (*Mangifera indica* L) as antimicrobial to *A. hydrophila*, the range of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and the lethal dose (LD₅₀) harumanis mango seed (*M. indica* L) solution against to catfish (*Pangasius pangasius*) (7-9 cm) by immersion. The research method used doses; D1: 100%; D2: 90%; D3: 80%; D4: 70%; D5: 60%; D6: 50%; D7: 40%; D8: 30%; D9: 20% D10: 10%, and K : Control (*Oxytetracyclin*).The results showed that mango seed solution was sensitive to *A. hydrophila* bacteri and was able to inhibit *A. hydrophila* up to 0.09% dose with inhibit zone of 7.31 mm. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is 0.1% (1000 ppm) number of colonies 270.66 CFU/ mL.The dose of LD₅₀ is 2115,85 ppm

Keyword: Manggo Seed, *Aeromonas hydrophila*, Antimicrobial, LD₅₀

1. Pendahuluan

Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan budidaya adalah penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Pada tahun 1980 di Jawa Barat terjadi kasus kematian ikan sebanyak 82,2 ton, tahun 2005 di Lubuk Pandan Sumatera Barat sebanyak 47 ton ikan konsumsi mati dan juga 2,1 juta ekor benih ikan gurame yang siap dipasarkan mengalami kematian (Anonim, 2009).

Penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dapat menggunakan bahan alami seperti biji mangga harumanis. Biji mangga harumanis (*M. indica* L) memiliki kandungan fitokimia yang tinggi, berupa tanin (Legesse dan Shimelis, 2012), selain itu terdapat juga kandungan kimia yang lain, seperti gallotanin, saponin, dan flavonoid yang memiliki aktivitas anti bakteri terhadap beberapa macam bakteri Gram positif (Engeles *et al.*, 2011). Prihandani *et al.* (2016) menyatakan ekstrak biji mangga harumanis mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan tanin, mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus aureus*, *Shigella* sp., dan *E. coli*.

Berdasarkan uraian di atas terlihat bahwa pemanfaatan ekstrak larutan biji mangga harumanis selama ini cenderung menghambat bakteri gram positif maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang sensitivitas larutan biji mangga harumanis terhadap pertumbuhan bakteri gram negatif seperti *A. hydrophila*.

2. Bahan dan Metode

2.1. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen dengan menggunakan metode cakram KIRBY-BAUER, yaitu menggunakan *disk blank* berdiameter 6 mm, untuk mengurangi tingkat kekeliruan maka dilakukan ulangan sebanyak 3 kali.

Dosis yang digunakan adalah sebagai berikut. K: Kontrol (*Oxytetracyclin*); D1: 100%; D2: 90%; D3: 80%; D4: 70%; D5: 60%; D6: 50%; D7: 40%; D8: 30%; D9: 20%) dan D10: 10%. Uji MIC menggunakan metode *pour plate /* metode sebar. Sedangkan untuk uji toksisitas LD₅₀ menggunakan metode *Reed and Muench* (1938) dalam Harmita dan Radji (2008).

2.2. Sterilisasi Alat

Sterilisasi dilakukan dengan cara terlebih dahulu mencuci alat-alat yang digunakan sampai bersih. Setelah kering, alat-alat dibungkus menggunakan kertas, hal ini bertujuan untuk mencegah alat-alat tersebut terkena air, selanjutnya alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk disterilisasi pada suhu 121⁰C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3. Pembuatan Media Tumbuh Bakteri

Media tumbuh untuk mendapatkan bakteri *A. hydrophila* digunakan media selektif GSP (*Pseudomonas-Aeromonas Selective Agar*) dengan perbandingan dalam 1 Liter akuades 45g/L, kemudian untuk memurnikan bakteri *A. hydrophila* digunakan media TSA (*Triptic Soy Agar*) dengan perbandingan 40g/L dan media cair TSB (*Triptic Soy Broth*) dengan perbandingan 30g/L yang masing-masing media dilarutkan dalam 1 liter akuades.

2.4. Persiapan Isolat Bakteri *A. hydrophila*

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Kepadatan bakteri yang digunakan adalah 108 Sel/mL dihitung menggunakan metode Mc-Farland.

2.5. Pembuatan Larutan Biji Mangga Harumanis (*M. indica* L)

Sampel buah mangga harumanis yang digunakan adalah buah mangga yang telah matang, dikupas dan daging buahnya dibuang sehingga yang tertinggal biji mangga. Selanjutnya dikupas lagi biji mangga hingga

didapatkan daging biji mangga, kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dikering anginkan selama 20 menit. Setelah kering diparut menggunakan parutan. Hasil parutan diperas menggunakan kain kasa yang sudah dicuci dengan akuades steril. Hasil perasan disaring menggunakan kertas saring *Whatman* nomor 42 μm sehingga didapatkan larutan stok 100 %. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 sampai 10%. Larutan biji mangga harumanis siap digunakan untuk uji sensitivitas, uji MIC, dan uji toksisitas LD_{50} (Silaban, 2008).

2.6. Uji Sensitivitas Larutan Biji Mangga (*M. indica* L) terhadap Bakteri *A. hydrophila*

Pengamatan zona hambat dengan menggunakan metode cakram KIRBY-BAEUR dengan menggunakan disk blank yang berdiameter 6 mm. Tahap awal, media TSA padat diberi suspensi bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/mL sebanyak 100 μL disebarakan secara merata menggunakan *spreader glass*. *Disk blank* diberi larutan biji mangga harumanis sebanyak 100 μL menggunakan mikropipet sesuai dosis yang telah ditentukan, didiamkan selama ± 5 menit. Masing-masing *disk blank* yang sudah diberi larutan biji mangga harumanis kemudian diletakkan pada media TSA yang telah diberi inokulan *A. hydrophila* secara aseptik. Selanjutnya, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28°C selama 24 jam. Pengamatan zona hambatan diukur menggunakan jangka sorong (Affandi *et al.*, 2009).

2.7. Uji MIC (Minimum inhibitory Concentration)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum dari larutan biji mangga harumanis untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Dosis yang digunakan berdasarkan hasil uji sensitivitas, yaitu dosis yang menghasilkan zona hambat terkecil sampai dosis yang tidak menghasilkan zona hambat. Selanjutnya, dosis tersebut dilakukan pengenceran hingga didapatkan berbagai dosis. Masing-masing dosis yang telah ditentukan ditambahkan 100 μL bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan bakteri 10^8 sel/mL, kemudian divortex agar homogen. Selanjutnya, suspensi bakteri diambil sebanyak 100 μL untuk ditumbuhkan pada media TSA dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C dalam inkubator. Setelah 24 jam, pertumbuhan koloni bakteri diamati dan dihitung jumlah koloni bakteri sesuai dengan kaidah statistik, yaitu cawan yang berisi 30-300 koloni bakteri (Waluyo, 2008).

2.8. Uji Toksisitas LD_{50}

Uji toksisitas diawali dengan mempersiapkan wadah berukuran 40 x 10x 30 cm, wadah dibersihkan menggunakan KMnO_4 (PK) dan didiamkan selama 24 jam, setelah itu dikeringkan. Volume wadah 10 L dicampur dengan larutan biji mangga harumanis dengan dosis yang digunakan berdasarkan dosis pada uji MIC dan kontrol. Ikan uji yang digunakan, yaitu ikan patin (*Pangasius* sp.) berukuran 7-9 cm sebanyak 10 ekor per wadah selanjutnya, ikan uji dipelihara selama 24 jam untuk mengamati tingkah laku ikan dan kematian ikan mencapai 50%. Data yang diperoleh ditabulasikan dan ditentukan LD_{50} dengan perhitungan metode *Reed and Muench* (1983) dalam Ibrahim *et al.* (2012).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Isolat Bakteri *A. hydrophila*

Isolat bakteri *A. hydrophila* yang berasal dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau yang ditumbuhkan pada media selektif GSP (*Pseudomonas-Aeromonas Selective Agar*) dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Isolat Bakteri *A. hydrophila* pada Media GSP

Bakteri *A. hydrophila* yang diisolasi pada media GSP akan mengubah warna media awalnya merah akan menjadi kuning. Hal ini sesuai dengan Merk (1984) dalam Fitria (2015), yang menyatakan bahwa akan terjadi perubahan warna media GSP yang awal media berwarna merah kemudian menjadi kuning, koloni bakteri yang berwarna kuning termasuk ke dalam golongan bakteri *A. hydrophila*.

Hasil uji Biokimia menunjukkan bahwa uji katalase merupakan positif, oksidase bersifat positif, O/F bersifat fermentatif, dan uji motilitas hasilnya positif. Menurut Anggraini *et al.* (2016) morfologi koloni *A. hydrophila* berbentuk batang pendek, tepi koloni licin, elevasi koloni cembung dan berwarna krem pada media TSA. Bakteri *A. hydrophila* termasuk Gram negatif berbentuk batang dan berukuran 0,7 – 0,8 μm , bakteri ini dapat bergerak karena mempunyai flagel

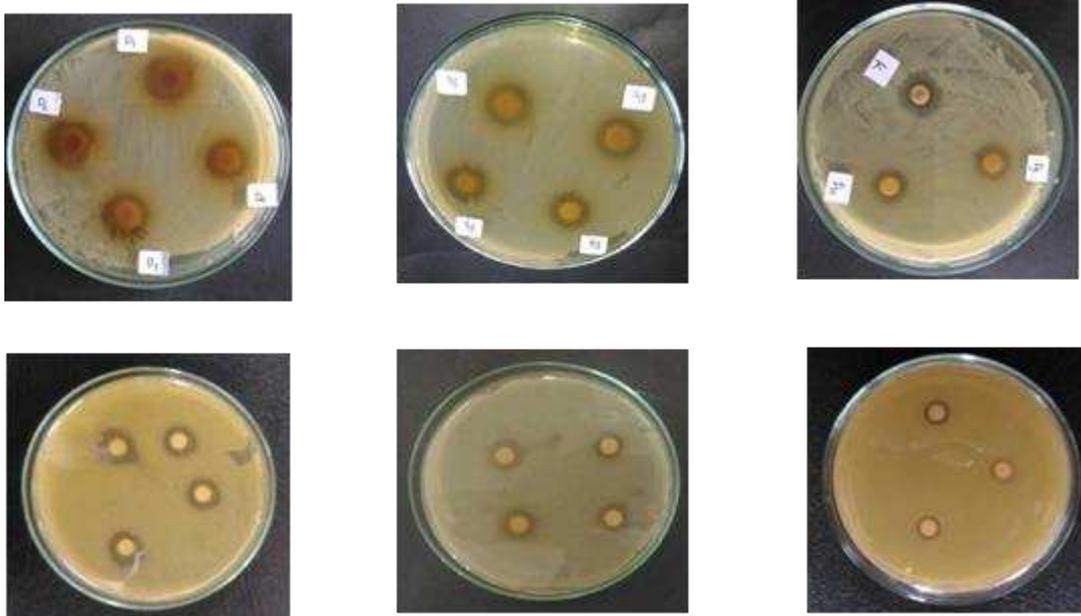
3.2. Hasil Sensitivitas Larutan Biji Mangga Harumanis (*M. indica L*) terhadap Bakteri *A. hydrophila*

Hasil uji sensitivitas larutan biji mangga harumanis dengan dosis 100% hingga 0,09% dan antibiotik *Oxytetracyclin* sebagai kontrol terhadap *A. hydrophila* menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda-beda. Uji sensitivitas antibiotik *Oxytetracyclin* terhadap *A. hydrophila* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 11,00 mm sedangkan untuk larutan biji mangga harumanis dengan dosis 100 % hingga 0,09% masing-masing menunjukkan diameter zona hambat yang beragam. Untuk lebih jelasnya diameter zona hambat larutan biji mangga dan *Oxytetracyclin* terhadap *A. hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Zona Hambat Larutan Biji Mangga Harumanis (*M. indica L*) terhadap bakteri *A. hydrophila*

Dosis (%)	Zona Hambat (mm) pada setiap ulangan			Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)
	1	2	3	
<i>Oxytetracyclin</i>	11,00	11,00	11,00	11,00
100%	16,25	17,50	17,27	17,00
90%	16,52	17,10	16,95	16,85
80%	16,23	16,85	16,64	16,57
70%	16,10	16,55	16,20	16,28
60%	15,90	16,35	16,10	16,11
50%	15,45	16,05	15,74	15,74
40%	15,15	15,75	15,40	15,43
30%	14,85	15,30	14,95	15,03
20%	14,40	14,80	14,40	14,53
10%	13,95	14,35	14,17	14,15
8%	13,50	13,90	13,65	13,68
6%	12,95	13,45	13,10	13,16
4%	12,52	12,87	12,78	12,72
2%	11,25	11,40	11,37	11,34
1%	10,97	11,17	11,15	11,09
0,8%	9,60	10,45	10,20	10,00
0,6%	9,20	9,76	9,15	9,36
0,4%	9,00	9,02	9,08	9,03
0,2%	8,45	8,70	8,60	8,52
0,1%	7,93	7,45	7,40	7,59
0,09%	7,40	7,20	7,35	7,31

Berdasarkan pada Tabel 1, diketahui bahwa larutan biji mangga harumanis (*M. indica* L) pada dosis 100% menghasilkan zona hambat sebesar 17,00 mm sedangkan rata-rata diameter zona hambat yang terkecil, pada dosis 0,09 % sebesar 7,31 mm. Diameter zona hambat larutan biji mangga harumanis yang terbentuk menunjukkan bahwa zat antimikroba yang terkandung dalam larutan biji mangga harumanis tergolong kuat. Hal ini sesuai dengan pendapat Susanto *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa aktivitas antibakteri tergolong lemah jika diameter zona hambat yang terbentuk kurang dari 5 mm, jika diameter zona hambat yang terbentuk berkisar antara 5-10 mm digolongkan sedang, kuat jika zona hambat yang terbentuk berkisar antara 10-20 mm, dan tergolong sangat kuat jika lebih dari 20 mm. Diameter zona hambat larutan biji mangga terhadap *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Zona hambat larutan biji mangga harumanis terhadap bakteri *A. hydrophila*

Zona hambat yang terbentuk berasal dari aktivitas antibakteri yang dimiliki biji mangga harumanis antara lain: flavonoid, tanin dan saponin, (Sahu *et al.*, 2013). Bahan aktif yang terkandung dalam larutan biji mangga harumanis tersebut mampu membunuh bakteri *A. hydrophila* dengan cara mendenaturasi protein merusak membran sel. Mekanisme zat aktif larutan biji mangga harumanis membunuh bakteri dengan cara melarutkan lemak pada dinding sel bakteri sehingga mampu merusak pada membran sel bakteri kemudian mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme dan kondisi ini pada akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri (Mariyono dan Sundana, 2002).

3.3. Uji MIC Larutan Biji Mangga Harumanis (*M. indica* L) terhadap bakteri *A. hydrophila*

Uji MIC bertujuan untuk melihat dosis minimum larutan biji mangga harumanis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Dosis yang digunakan berdasarkan pada hasil sensitivitas, yaitu 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1% dan 0,09%. Pada dosis 0,4% menunjukkan perubahan warna lebih jernih dibandingkan dosis lainnya. Hasil uji MIC dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *A. hydrophila* Setelah diberi Perlakuan Larutan Biji Mangga Harumanis (*M. indica* L)

Dosis (%)	Jumlah Koloni			Rata-rata Jumlah koloni yang Tumbuh (sel/mL)
	1	2	3	
0,4	107	99	110	105,33
0,3	162	169	174	168,33
0,2	242	260	240	247,33
0,1	265	270	277	270,66
0,09	∞	∞	∞	∞

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *A. hydrophila* yang diberi larutan biji mangga harumanis (*M. indica* L) dengan dosis 0,09 % menghasilkan jumlah koloni tak terhingga (∞) sedangkan dosis 0,1-0,4% rata-rata jumlah koloni sebanyak 270,66 - 105,33 sel/mL. Pada dosis 0,1% rata-rata jumlah koloni bakteri adalah 270,66 sel/mL dapat dikatakan dosis minimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Dwijoseputro (2010), pertumbuhan koloni bakteri yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah 30 – 300 koloni.

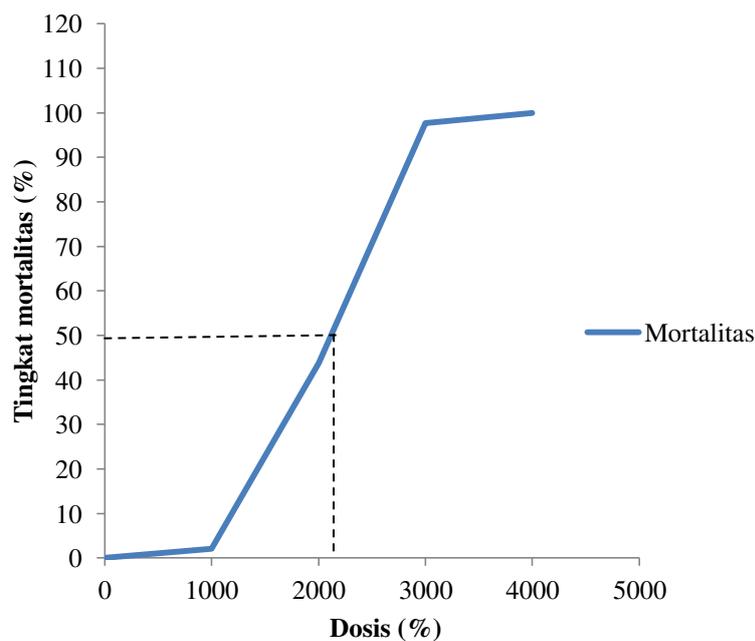
3.4. Pengamatan Letal Dosis₅₀ (LD₅₀) Larutan Biji Mangga Harumanis (*M. indica* L) terhadap Ikan Patin (*Pangasius* sp).

Uji toksisitas larutan biji mangga harumanis (*M. indica* L) dilakukan untuk mendapatkan dosis larutan yang menyebabkan kematian 50% selama 24 jam pada ikan patin yang diujikan sebanyak 10 ekor setiap perlakuannya. Dosis yang digunakan berdasarkan dari hasil uji MIC yang didapatkan, yaitu 0,4 % (4000 ppm), 0,3% (3000 ppm), 0,2% (2000 ppm) 0,1% (1000 ppm) dan kontrol. Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Penentuan LD₅₀ Menurut Metode Reed and Muench (1938) Selama 24 Jam

Dosis (ppm)	Mati	Hidup	Akumulasi			Ratio Kematian	% Kematian	LD ₅₀
			Mati	Hidup	Total			
4000	30	0	73	0	73	73/73	100	} 2115,85
3000	29	1	43	1	44	43/44	97,7	
2000	13	17	14	18	32	14/32	43,75	
1000	1	29	1	47	48	1/48	2,08	
0	0	30	0	77	77	0/77	0	

Berdasarkan Tabel 3 perhitungan LD₅₀ menurut Reed and Muench menunjukkan nilai LD₅₀ 24 jam adalah 2115,85 ppm. Menurut Wibisono (1989), bahwa nilai yang aman (*safety dosis*) bagi organisme dari daya racun toksisitas adalah 10% dari nilai LD₅₀. Oleh karena itu, dosis larutan biji mangga harumanis yang aman digunakan untuk ikan adalah 10% dari 2115,85 ppm, yaitu 211,58 ppm. Tingkat kematian ikan tertinggi, yaitu 100% ditunjukkan pada dosis 4000 ppm. Sedangkan tingkat kematian ikan terendah, yaitu 2,08% pada dosis 1000 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis pemberian larutan biji mangga harumanis maka semakin meningkat pula mortalitas pada ikan uji. Lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik mortalitas ikan patin (*Pangasius* sp) setelah direndam dalam larutan biji mangga harumanis (*M. indica* L) selama 24 jam.

Berdasarkan Gambar 3, semakin tinggi konsentrasi larutan yang diberikan maka semakin tinggi pula tingkat kematian ikan uji. Pada dosis 2115,85 ppm ikan mengalami tingkat kematian 50%. Peningkatan kematian ikan patin tersebut diakibatkan karena ketidakmampuan adaptasi ikan patin terhadap larutan biji mangga harumanis yang diberikan dalam media hidupnya sehingga ikan menjadi stres dan mengalami perubahan tingkah laku. Adapun tingkah laku ikan patin yang direndam dengan larutan biji mangga selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Tingkah Laku Ikan Patin yang Direndam dengan Larutan Biji Mangga Harumanis Selama 24 Jam

Dosis Perlakuan (ppm)	Waktu pengamatan (jam)			
	1-6	7-12	13-18	19-24
0	Ikan berenang normal.	Ikan berenang normal.	Ikan berenang normal.	Ikan berenang normal.
1000	Ikan diam di dasar akuarium.	Ikan berenang ke permukaan.	Ikan berenang ke permukaan.	Ikan berenang ke permukaan.
2000	Ikan diam di dasar akuarium.	Ikan berenang mendekati aerasi.	Ikan berenang ke permukaan.	Ikan berenang mendekati aerasi dan yang tidak tahan mengalami kematian.
3000	Ikan berenang ke permukaan akuarium.	Produksi lendir meningkat dan ikan melayang-layang lalu mengalami kematian	Ikan melompat ke permukaan, produksi lendir juga meningkat, dan ikan mengalami kematian.	Ikan berenang melayang-layang dan mengalami kematian.
4000	Ikan berenang ke permukaan akuarium.	Produksi lendir meningkat dan ikan melayang-layang lalu mengalami kematian	Ikan melompat ke permukaan, produksi lendir meningkat, dan ikan mengalami kematian.	Ikan berenang melayang-layang dan mengalami kematian.

Faktor lain yang menyebabkan kematian pada ikan patin selama pengamatan disebabkan karena larutan biji mangga harumanis mengandung senyawa aktif sebagai antimikroba, namun dalam konsentrasi yang tinggi dapat menjadi racun. Senyawa antimikroba yang bersifat racun bagi ikan jika dalam konsentrasi tinggi adalah saponin. Sebagaimana pendapat anonim (2009), dalam jumlah besar saponin bersifat toksik (racun) dan mengancam kehidupan spesies hewan tertentu. Saponin merupakan senyawa glikosida yang dapat menimbulkan busa bila di kocok dalam air dan dapat menyebabkan hemolysis eritrosit dan dapat bersifat racun pada hewan akuatik/ ikan dan dapat menyebabkan kematian (Lukistyowati, 2012).

4. Kesimpulan

Larutan biji mangga harumanis (*M. indica* L) sensitif dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* hingga dosis 0,09% dengan rata-rata zona hambat sebesar 7,31 mm. Dosis *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) larutan biji mangga harumanis (*M. indica* L) yaitu 0,1% (1000 ppm) dengan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh 270,66 sel/mL. Hasil uji toksisitas LD50 larutan biji mangga harumanis (*M. indica* L) terhadap ikan Patin (*Pangasius* sp) dengan cara perendaman selama 24 jam adalah 2115,85 ppm.

5. Referensi

- Affandi, A. A. Fauzia, dan S.D. Lesmana, 2009. Penentuan Dosis Hambat Minimal dan Dosis Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% Terhadap *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus aureus* Sensitif Metisilin (MSSA). Fakultas Kedokteran Bagian Mikrobiologi Universitas Riau.
- Anggraini, R., D. Aliza, S. Mellisa. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji mikrobiologi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Fakultas Kelautan dan Perikanan Unsyiah 16 hlm.
- Anonim, 2009. *Herbal Berkasiat Bukti Ilmiah dan Cara Racik* Vol 8. *Www.Trubus-Online.Co.Id. Trubus Info Kit*. 429 hlm.

- Dwijoseputro, D. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Djambatan Press.
- Engeles, C., S. Andreas, G.G. Michael. 2011. Inhibitory Spectra and Modes of Antimicrobial Action of Gallotannins from Mango Kernels (*Mangifera indica* L.) *Applied and Environmental Microbiology* 77(7): 2215–2223.
- Fitria, D. 2015. Sensitivitas Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau. Pekanbaru.
- Harmita dan M Radji. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta.
- Ibrahim, M., A. Akhyar., dan Y.N Ihsani. 2012. Uji Lethal Dose (LD₅₀) POLIHERBAL (*Curcuma xanthorrhiza*, *Kleinhovia hospita*, *Nigella sativa*, *Arcangelisia flava* dan *Ophiocephalus stiatius*) pada Herpamin terhadap Mencit (*Mus musculus*). Research and Development PT. Royal Medicalink Pharmalab. 6 hlm.
- Legesse, M.B., and A.E. Shimelis. 2012. Functional and Physicochemical Properties of Mango Seed Kernels and Wheat Flour and their Blends for Biscuit Production. *African Journal of Food Science and Technology* 3: 193–203.
- Lukistyowati, I. 2012. Studi Efektifitas Sambilotto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* Pada Ikan Patin (*Pangasius hypothalamus*). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*. 40 (2): 56-74.
- Mariyono dan Sundana. 2002. Teknik Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Bercak Merah pada Ikan Air Tawar yang disebabkan oleh Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Buletin Teknik Pertanian. Badan Litbang Pertanian. Jakarta 36.
- Prihandani, S.S, M.S. Noor, Adriani, P. Masniari. 2016 Efektivitas Ekstrak Biji Mangga Harumanis terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Shigella* sp. dan *Escherichia coli*. *Jurnal Veteriner*. 17(1): 45-50.
- Sahu, S., B. Kumar, J. Pradhan, B.C. Mohapatra, B.K. Mishra and N. Sarangi. 2007. *Effect of Mangifera indica Kernel as a Feed Additive on immunity and Resistance to Aeromonas hydrophila in Labeo rohita Fingerlings*. *Fish and Shellfish Immunology*, 23: 109-118.
- Silaban, G.M.P. 2008. Sensitivitas Bakteri *Vibrio* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Ekstrak Buah Pare (*Momordica Charanthia* L). [Skripsi]. Pekanbaru: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. 57 hlm.
- Soleha, T.U. 2015. Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. [Jurnal] Fakultas Kedokteran Bagian Mikrobiologi Universitas Lampung. *Juke Unila* 5(9): 119-123.
- Susanto, D., Sudrajat dan Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Journal Mulawarman Scientifie*. 11(2): 181-190.
- Tompo, A., Tjaronge dan S. Tahe. 2010. Pengaruh Pemberian Saponin dengan Dosis yang Berbeda sebagai Obat Bius pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos forsskal*) Umpan. *Jurnal Bidang Biologi Perikanan*.
- Waluyo, L. 2008 *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi: Teknik Pengenceran dan Penghitungan bakteri*. Malang: UMM Press.
- Wibisono, L. 1989. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 50% Umbi Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lood) terhadap Sel Kanker MCF-7 In Vitro. Media Litbang Kesehatan.