

**Uji Daya Hambat Dari Ekstrak Tanaman Pacar Air (*Impatiens balsamica* L)
Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila***

**(The Inhibitory Power Extract Of Balsamica Plant (*Impatiens balsamica* L) On
Aeromonas hydrophila Bacteria Growth)**

Galih Arif Kusuma¹, Sammy N.J. Longdong², Reiny A. Tumbol²

¹) Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

²) Staf Pengajar Pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

Email: Galiharif_kusuma@yahoo.co.id

Abstract

This research aimed to assess the potential use of extracts of leaves, flowers, and stems of the *balsamica* plant increase inhibitory effect on the growth of *Aeromonas hydrophila*. The content of the plant contains a compound *balsamica* naphthoquinone, coumarin derivatives, tannins, flavonoids, and steroids. The active compounds have the ability as an antimicrobial. *A hidrophyla* bacteria, including opportunistic pathogens are almost always found in water and often cause disease when the fish in adverse conditions. Antibacterial activity test in this research using the spread plate method. Data obtained in the form of the extract, the results of bacterial inoculation, and the inhibition test results, will be analyzed, displayed with pictures and described descriptively. The result of the process of maceration extraction using ethanol 70% was obtained three extracts are concentrated leaf extract: 28.75 g, flower: 12.82 g, and rods: 29.48 g. The result of antibacterial extracts of leaves, stems, and flowers *balsamica* plant showed inhibitory activity on the *A hydrophila* bacteria that seems to be indicated by a clear zone around the paper disc. Based on the classification of leaf extract and extract of the stem can be classified in the class of strong, because the inhibition zone formed by the leaf extract is equal to 11.2 mm, and extract stem with 13.7 mm inhibition zone. Ability flower extract in inhibiting the growth of *A hidrophila* bacteria with 21.4 mm inhibition zone showed that the extract was included in a very strong class.

Keywords: The ethanol extract *balsamica*, *Impatiens balsamica* L, *Aeromonas hydrophila*, antibacterial activity test.

PENDAHULUAN

Dalam usaha budidaya perairan, ikan senantiasa hidup dalam lingkungan yang mengandung berbagai patogen seperti virus, bakteri, jamur, dan parasit. Pengembangan usaha budidaya ikan yang dilaksanakan secara intensif berdampak negatif apabila tidak ditangani dengan baik terhadap usaha budidaya khususnya

terhadap kesehatan ikan yang dipelihara. Jika tidak diikuti dengan penerapan manajemen budidaya yang baik, maka berbagai permasalahan yang dapat menekan kerugian akan muncul. Salah satu masalah yang menjadi pembatas keberhasilan usaha budidaya adalah penyakit yang dapat mengakibatkan kerugian berupa penurunan pertumbuhan atau bahkan kematian, sampai kerugian

ekonomi. Indonesia memiliki keanekaragaman jenis tanaman yang sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia, salah satunya dalam hal pengobatan. Obat – obatan alamiah saat ini mulai dilirik karena obat – obatan kimia terbukti lama kelamaan mengakibatkan efek samping yang negatif.

Hasil alam yang berpotensi tinggi dalam pengobatan penyakit, salah satunya yaitu tanaman pacar air (*Impatiens balsamica* L). Tanaman pacar air belum begitu populer di masyarakat umum, padahal tanaman ini sudah tumbuh di Indonesia kurang lebih satu abad. Seiring berjalannya waktu, tanaman pacar air kini sudah mulai dikenal luas sebagai tanaman berkhasiat obat. Berbagai usaha penanggulangan terhadap penyakit telah banyak dilakukan seperti penggunaan obat – obatan termasuk antibiotik dan penggunaan vaksin sebagai upaya pencegahan terhadap munculnya penyakit (Gaby, 2007).

Beberapa tahun belakangan ini, telah terdapat peningkatan strain patogen yang resisten terhadap antibiotik. Hal tersebut menyebabkan munculnya strain bakteri baru yang *multi-resisten*. Oleh karena itu, dibutuhkan berbagai usaha untuk mencari dan menemukan bahan senyawa baru dari sumber alam yang terbukti secara alamiah bersifat sebagai antimikroba. Pemanfaatan berbagai tanaman sebagai sumber bahan dan senyawa alami dengan tujuan untuk menemukan senyawa aktif yang berpotensi sebagai sumber antimikroba baru terus digalakkan. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba adalah tanaman pacar air (*I balsamica* L). (Aibinu, *et al* 2007 dalam Gaby 2007).

Tanaman pacar air (*I balsamica* L). mengandung senyawa naftoquinon,

turunan kumarin, tanin, flavanoid, dan steroid. Hal ini juga didukung oleh penelitian Adfa (2007) dari uji pendahuluan metabolit sekunder diketahui bahwa tanaman pacar air (*Impatiens balsamica* L). mengandung kumarin, flavonoid, kuinon, saponin dan steroid. Senyawa aktif tersebut mempunyai kemampuan

Pacar air (*I balsamica* L), berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara, ada juga yang menyebutkan dari India. Tanaman ini diperkenalkan di Amerika pada abad ke-19. Tanaman ini memiliki bunga dengan beragam warna, semisal pink, merah, putih, oranye, peach, atau salem. Tinggi dari tanaman pacar air ini mencapai 30-80 cm, biasanya bagian yang dijadikan ekstrak yaitu daun, batang, dan bunga. Habitat dari tanaman pacar air ini dapat hidup pada daerah beriklim semi tropical, namun tidak dapat hidup pada daerah yang kering dan gersang. Tanaman pacar air merupakan tumbuhan yang dapat di pelihara dengan gampang, tingginya 30 – 80 cm (Dalimartha, 2014). Tanaman ini sangat peka terhadap hama, begitu terkena hama, tanaman akan langsung busuk, biasanya tumbuh di pekarangan rumah pada ketinggian 1-900 m dengan hanya menebar biji dari buah tanaman pacar air (Nuzul, 2012).

Antibakteri adalah senyawa - senyawa kimia alami kadar rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu bahan anti bakteri adalah antibiotik. Antibiotik adalah golongan senyawa, yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia dalam organisme khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri. Antibakteri alamiah dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya didapatkan langsung dari

organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan proses pengestrakan (Setyaningsih 2004 *dalam* Majid 2009).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotik dapat menghambat proses sintesis dinding sel. Tekanan osmotik dalam sel mikroba lebih tinggi dari pada di luar sel, sehingga kerusakan dinding sel mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar dari efek bakterisidal terhadap mikroba yang peka (Effionora 1990 *dalam* Majid 2009).

Bakteri adalah suatu organisme yang jumlahnya paling banyak dan tersebar luas dibandingkan dengan organisme lainnya di bumi. Bakteri umumnya merupakan organisme uniseluler (bersel tunggal), prokariota/prokariot, tidak mengandung klorofil, serta berukuran mikroskopik (sangat kecil). Dalam tumbuh kembang bakteri baik melalui peningkatan jumlah maupun penambahan jumlah sel sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yakni seperti pH, suhu temperatur, kandungan garam, sumber nutrisi, zat kimia dan zat sisa metabolisme (Godam, 2008).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan ekstraksi adalah memisahkan bahan padat dan bahan cair suatu zat dengan bantuan pelarut. Ekstraksi dapat memisahkan campuran senyawa dengan berbagai sifat kimia yang berbeda. Ekstraksi bahan alam umumnya dilakukan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. DepKes

RI, (1995) *dalam* Kusumaningtyas (2011). Proses ekstraksi terdiri dari beberapa tahap, yaitu penghancuran bahan, penimbangan, perendaman dengan pelarut, penyaringan, dan tahap pemisahan (Khopkar 2003 *dalam* Oktavianus 2013).

Maserasi dilakukan sesuai dengan yang tertera pada Farmakope Indonesia dengan patokan sebagai berikut : Kecuali dinyatakan lain, masukan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, tuangi dengan 75 bagian cairan penyari, tutup agar terlindung dari cahaya sinar matahari sambil dikerai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya, kemudian saring. (DepKes RI, 1979 *dalam* Kusumaningtyas 2011). Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagian cairan penyari adalah air, etanol, etanol – air atau eter. Etanol 70% dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimen yang dilakukan di Laboratorium Patologi & Klinik Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT.

Variabel Penelitian

Variabel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun, bunga, batang tanaman pacar air yang diperoleh dari Desa Lapangan lingkungan 1, Kecamatan Mapanget Barat, Kota Manado. Tanaman Pacar air diperoleh dengan cara batang tanaman pacar air di potong, kemudian bunga serta daunnya dipetik langsung.

Prosedur Percobaan

Sampel berupa daun, batang dan bunga tanaman pacar air dikumpulkan, dicuci dan diserkai. Kemudian masing – masing sampel daun, batang dan bunga tanaman pacar air dibuat menjadi potongan kecil, kemudian timbang, 50 gram simplisia daun, batang dan bunga tanaman pacar air dimaserasi dengan cairan penyari (etanol 70%) hingga mencapai 375 ml. Simplisia yang dimaserasi, dibiarkan selama 24 jam di tempat sejuk yang terlindung dari cahaya sinar matahari (disimpan dalam suhu kamar), diserkai, peras. Dilakukan 2 kali pengulangan. Larutan ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 35-40°C sampai diperoleh ekstrak pekat segar. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk kemudian disimpan di freezer (-20°) yang nantinya akan digunakan untuk uji selanjutnya.

Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat melakukan uji difusi dilakukan sterilisasi. Sterilisasi alat menggunakan sterilisasi secara fisik, yaitu dengan menggunakan udara panas atau uap air panas dengan tekanan tinggi, Proses sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 – 20 menit.

Pembuatan media agar

Media TSA sebanyak 4 gram dicampurkan dengan aquadest 100 ml, pada penelitian ini dilakukan pemanasan dengan hotplate atau di atas nyala api bunsen yang bertujuan untuk mencampur zat sampai menjadi homogen, kemudian masukan dalam autoclave selama 15-20 menit, hal ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya kontaminan yang masuk. Setelah diperoleh media yang telah dipanaskan tersebut dibagi kedalam beberapa cawan petri yang telah tersedia. Proses pemindahan mikroba secara aseptik sangat membutuhkan ketelitian yang tinggi. Jika tidak, kesalahan dalam teknik sedikit saja akan mempengaruhi semua hasil pengamatan. Proses inokulasi bakteri membutuhkan ruangan yang bersih dan steril.

Kultur bakteri

Biakan bakteri *Aeromonas hydrophila* diambil sebanyak 2 ose dari stok petri bakteri diperoleh dari Balai Budidaya Air Tawar Tatelu Minahasa Utara, diinokulasi dengan metode gores zigzag dengan kawat jarum ose steril yang telah dipijarkan dalam api bunsen dilakukan pada media TSA padat bentuk lempeng yang telah dibuat, selanjutnya diinkubasi pada incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri yang telah dikultur dan tumbuh berupa koloni kemudian dibawa di Laboratorium untuk melewati Uji Bakteriologi di Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Utara untuk diperiksa kembali untuk memastikan bahwa bakteri ini adalah bakteri *A hydrophila*.

Pengenceran bakteri

Sebanyak 2 ose bakteri *A hydrophila* yang sudah diremajakan diambil dari media agar pada cawan petri lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi NaCl 0.9% sebanyak 10 ml kemudian digoyang (shecker) hingga homogen dan menghasilkan kekeruhan.

Uji Aktifitas Antibakteri

Uji aktifitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode Difusi Lempeng Agar. Biakan bakteri *A hydrophila* yang sudah diremajakan terlebih dahulu dimasukan kedalam tabung reaksi steril yang berisi 10 ml NaCl 0.9%. Uji aktifitas antibakteri ini menggunakan metode cawan sebar (*Spread plate*) dimana teknik di dalam media TSA dengan cara menuangkan stok kultur bakteri di atas media TSA yang telah memadat kemudian diratakan dengan batang L. Sebanyak 0,1 ml bakteri dalam tabung reaksi dimasukan ke dalam media petri TSA yang telah disterilkan terlebih dahulu, selanjutnya pijarkan pinset diatas lampu bunsen, dan pinggiran cawan petri yang berisi *paper disc* (kertas cakram) Whatman no. 42 berdiameter 5 mm, ambil satu kertas cakram menggunakan pinset, kemudian dicelupkan kedalam ekstrak daun, bunga, dan batang tanaman pacar air. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Respon adanya potensi antibakteri ditentukan dengan mengukur zona hambat bakteri di atas permukaan agar yang kelihatan bening kemudian diukur luas diameter daerah hambatannya.

Pengambilan Data

Data yang akan dikumpulkan yaitu ukuran diameter pada zona bening dari aktifitas daya hambat dari ekstrak daun, bunga, dan batang tanaman pacar air. Besarnya zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong (vernier kaliper) dengan satuan mm.

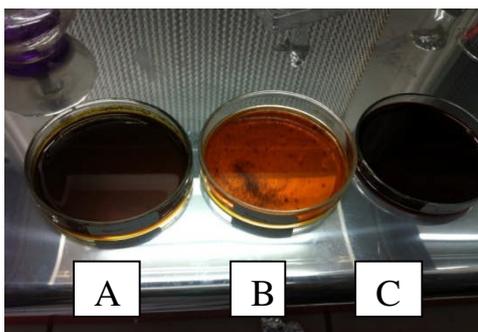
Analisis Data

Data yang diperoleh berupa hasil ekstrak berdasarkan pelarut, hasil inokulasi bakteri, dan hasil uji daya hambat diameter zona bening dari masing-masing ekstrak, akan dianalisis dan dijelaskan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi daun, bunga, dan batang tanaman pacar air.

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder daun, bunga, batang tanaman pacar air dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol (Gaby, 2007). Dari hasil ekstraksi diperoleh ekstrak daun, bunga, dan batang tanaman pacar air berdasarkan pelarutnya. Hasil dari proses maserasi diperoleh tiga ekstrak segar pekat yaitu ekstrak daun, bunga dan batang. Hasil ekstrak daun yaitu : 28.75 g, bunga : 12.82 g, dan batang : 29.48 g. Nilai berat ekstrak diperoleh dari hasil penimbangan cawan dengan mengurangi bobot awal cawan.



Gambar 1. (a) Ekstrak daun (b) batang (c) bunga

Hasil isolasi kultur bakteri.

Pembiakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan dengan memindahkan isolate stok pada medium TSA dalam cawan petri dengan cara penggoresan secara zigzag. Hasil pembiakan murni selanjutnya diperiksa di Laboratorium Bakteriologi, Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Utara. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa bakteri ini benar adalah bakteri *A hydrophila*. Stok bakteri yang telah diuji ini selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin untuk digunakan pada uji antibakteri.

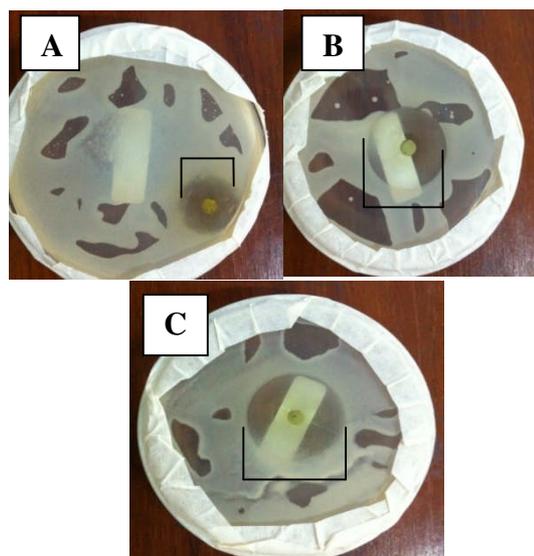


Gambar 2. Hasil isolasi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Hasil uji aktifitas antibakteri

Berdasarkan hasil uji daya hambat ekstrak daun, batang, dan bunga tanaman pacar air (*Impatiens balsamica* L) terhadap

pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan metode difusi agar, menunjukkan adanya daya hambat ekstrak terhadap bakteri uji. Aktifitas daya hambat yang dihasilkan diindikasikan dengan nampaknya bulatan zona bening pada sekitar kertas cakram (*paper disc*). Zona bening di sekitar paper disc menunjukkan adanya aktifitas antibakteri.



Gambar 3. (a) Daya hambat yang dihasilkan ekstrak daun (b) Daya hambat yang dihasilkan ekstrak batang (c) Daya hambat yang dihasilkan ekstrak bunga

Penilaian zona hambat digolongkan menjadi (1) tidak ada zona hambat, (2) lemah yaitu zona hambat kurang dari 5 mm, (3) sedang yaitu zona hambat 5-10 mm, (4) kuat yaitu zona hambat 11-20, dan (5) sangat kuat yaitu zona hambat 21-30 mm (Wangidjaja, 2004 dalam Kolopita, 2005). Berdasarkan penggolongan tersebut, maka ekstrak daun dapat digolongkan dalam golongan kuat, karena zona hambat yang terbentuk yaitu sebesar 11,2 mm, sedangkan ekstrak batang dapat digolongkan dalam golongan kuat, karena zona hambat yang terbentuk yaitu 13,7 mm. Kemampuan ekstrak bunga dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *A hydrophila* dengan zona hambat 21,4 mm menunjukkan bahwa ekstrak tersebut termasuk dalam golongan sangat kuat.

A hydrophila merupakan bakteri gram negatif, bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan Gram. *A hydrophila* berbentuk batang pendek (1,3-2,0 x 0,8-1,3 μm), motil atau bergerak, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob, resisten terhadap 0/129, pertumbuhan optimum pada suhu 22°C, G+C ratio 57-63%, memproduksi brown pigmen yang diffusible (untuk strain *typical*). Koloni bakteri ini berwarna putih, kecil, bulat, dan cembung (Nurfitrirahim (2013)).

Bakteri *A hydrophila* termasuk patogen oportunistik yang hampir selalu terdapat di air dan seringkali menimbulkan penyakit apabila ikan dalam kondisi yang kurang baik. Salah satu jenis penyakit yang sering dijumpai pada organisme budidaya adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *A hydrophila*, dimana merupakan bakteri patogen penyebab penyakit “*Motil Aeromonas Septicemia*” (MAS), terutama untuk spesies ikan air tawar di perairan tropis. Penyakit yang disebabkan oleh *A hydrophila* ditandai dengan adanya bercak merah pada ikan dan menimbulkan kerusakan pada kulit, insang dan organ dalam. Penyebaran penyakit bakterial pada ikan umumnya sangat cepat serta dapat menyebabkan kematian yang sangat tinggi pada ikan-ikan yang diserangnya. Gejala klinis yang timbul pada ikan yang terserang infeksi bakteri *A hydrophila* adalah gerakan ikan menjadi lamban, ikan cenderung diam di dasar akuarium;

luka/borok pada daerah yang terinfeksi; perdarahan pada bagian pangkal sirip ekor dan sirip punggung, dan pada perut bagian bawah terlihat buncit dan terjadi pembengkakan. Ikan sebelum mati naik ke permukaan air dengan sikap berenang yang labil (Susantiheni, 2012).

Berdasarkan hasil pengujian aktifitas daya hambat dari ekstrak daun, batang, dan bunga tanaman pacar air, penggunaan tanaman pacar air ini memiliki potensi antibakteri pada ekstrak terhadap bakteri *A hydrophila* untuk digunakan sebagai obat pengganti antibiotik, sehingga penerapan ini mampu menekan kerugian yang lebih besar apabila terjadi penyakit, dan memiliki kualitas yang lebih terjangkau karena terbuat langsung dari bahan alamiah atau tanaman herbal. Pengembangan penggunaan ekstrak dari tanaman pacar air ini masih perlu terus dilakukan sehingga dapat diimplementasikan bagi usaha budidaya perikanan yang berkelanjutan dan menjaga pengamanan untuk melindungi kesehatan baik ikan atau organisme budidaya lain.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan didapati sampel ekstrak segar daun, batang, dan bunga tanaman pacar air (*Impatiens balsamica* L) melalui hasil maserasi dengan menggunakan pelarut etanol. Hasil pengujian aktifitas daya hambat dari ekstrak segar daun, batang, dan bunga tanaman pacar air (*I balsamica* L) menunjukkan adanya potensi antibakteri pada ekstrak terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Potensi ini diindikasikan dengan besarnya zona bening di sekitar *paper disc*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adfa, 2007. Senyawa Antibakteri Dari Daun Pacar air (*Impatiens Balsamica Linn.*) Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Bengkulu. Indonesia. Vol.4 No.1 Januari 2008 : 318-322.
- Dalimartha, 2014. Tanaman Obat Di Lingkungan Sekitar. Penerbit Puspa Swara. Jakarta
- Gaby, 2007. Bioaktifitas Ekstrak Metanol daun Pacar air (*Impatiens Balsamica L*) terhadap Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Penyebab Cantengan. Skripsi. Fakultas Matematika, Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar. Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Godam, 2008. Definisi/Pengertian Bakteri, Ciri – Ciri Dan Peranan Bakteri Bagi Kehidupan Manusia. http://Definisi_Pengertian-Bakteri,-Ciri-Ciri-Dan-Peranan-Bakteri-Bagi-Kehidupan-Manusia-ILMU.htm. 25/08/2014. 16.05. Wita.
- Kolopita, 2005. Thesis. Potensi Asap Cair Mangrove Sebagai Antibakterial Dalam Mengendalikan Infeksi Buatan *Vibrio harveyi*, Pada Udang Windu, *Penaeus monodon*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Kusumaningtyas, 2011. Skripsi. Penetapan Kadar Vitamin C Pada Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L*) Dengan Metode Spektrofotometri. Skripsi. Program Studi Diploma III. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah. Manado.
- Majid, 2009. Senyawa Antibakteri Dan Mekanisme Kerjanya. Universitas Diponegoro. Semarang. <http://Majid-Undip-Senyawa-Antibakteri-Dan-Mekanisme-Kerjanya.htm>. 26/08/2014. 17.56. Wita.
- Nurfitrirahim, 2013. Buku Laporan Pembuatan Media Agar Untuk Bakteri Dan Jamur. <http://wordpress.com/2013/01/18/laporan-pembuatan-media-agar-untuk-bakteri-dan-jamur>. 13/10/2014. 22.11 Wita
- Nuzul, 2012. Aktifitas Antibakteri Fraksi Saponin Dari Daun Tumbuhan Pacar air (*Impatiens Balsamica L.*) Skripsi. Fakultas Tarbiyah Institut Agama Islam Negeri Walisongo. Semarang.
- Oktavianus S, 2013. Skripsi. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Jurusan Ilmu Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Susantiheni, 2012. Telaah Penyakit Ikan Yang Disebabkan *Aeromonas hydrophila*. <http://susantiheni.wordpress.com/2012/12/04/aeromonashydrpyla/> /htm. 17/10/2014. 02.37. Wita