

EKSTRAK BUAH MANGROVE (*Sonneratia alba*) PADA *Artemia salina* DALAM MENGHAMBAT INFEKSI *Vibrio harveyi* TERHADAP SINTASAN BENUR UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) SECARA INVIVO

MANGROVE FRUIT (*Sonneratia alba*) EXTRACT TO *Artemia salina* INHIBITING THE INFECTION OF *Vibrio harveyi* IN SURVIVAL RATE *Penaeus monodon* BY INVIVO

Jimmy Cahyadi¹ ; Gloria Ika Satriani¹; Ery Gusman¹; Sabri¹

¹Program Studi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Borneo Tarakan
jim.borneo@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit vibriosis *Vibrio harveyi* sering menjatuhkan produksi udang windu pada tambak tradisional pesisir Kalimantan Utara. Tujuan penelitian ini mengetahui senyawa aktif ekstrak buah *Sonneratia alba* menghambat infeksi *Vibrio harveyi* diuji tantang pada larva udang windu stadia *post larva* 12 melalui bioenrichment pakan alami *Artemia salina*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak buah mangrove mengandung Alkaloid, Fenol hidrokuinon, Flavonoid, Saponin, Steroid dan Tanin. Bioenrichment *Artemia salina* berhasil meningkatkan kelangsungan hidup larva udang windu 78,33% pada perlakuan III (20 ppm). Hasil pengukuran kualitas air menunjukkan kisaran pada batas normal bagi kehidupan benur udang windu (*Penaeus monodon*).

Kata Kunci : Udang Windu, *Artemia salina*, *Vibrio harveyi*, Ekstrak *Sonneratia* sp.

ABSTRACT

Vibriosis disease Vibrio harveyi often drops Penaeus monodon production on the traditional coastal ponds of North Kalimantan. The purpose of this study was to find out the active compound extract of Sonneratia alba fruit inhibiting the infection of Vibrio harveyi, which was tested on the larvae of Penaeus monodon in post larvae 12 through the bioenrichment of natural feed Artemia salina. This study used an experimental method performed with a Completely Randomized Design (CRD) of 4 treatments and 3 replications. The results showed mangrove fruit extracts containing alkaloids, phenol hydroquinone, flavonoids, saponins, steroids and tannins. Artemia salina bioenrichment succeeded in increasing the survival of Penaeus monodon larvae 78.33% in treatment III (20 ppm). The results of water quality measurements indicate the range at the normal limit for the life of the Penaeus monodon larvae.

Keywords : *Penaeus monodon*, *Artemia salina*, *Vibrio harveyi*, Extract *Sonneratia alba*

PENDAHULUAN

Upaya pencapaian hasil produksi pada usaha budidaya udang windu (*Penaeus monodon*) nampaknya masih menemukan berbagai permasalahan. Salah satu permasalahan adalah tingginya tingkat serangan penyakit baik yang bersifat infeksius. Berbagai jenis penyakit pada budidaya udang windu sebagaimana besar diakibatkan oleh infeksi bakteri *Vibrio harveyi* (Trianto *et al.*, 2004).

Serangan penyebab vibriosis tersebut sering terjadi pada stadia nauplius, stadia zoea, stadia mysis dan kadang-kadang post larva saat pemeliharaan di tambak sampai sekitar umur 1-1,5 bulan (Saptiani *et al.*, 2012). Bakteri *Vibrio harveyi* umumnya bersifat patogen oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan dan berkembang dari sifat saprofitik menjadi patogenik, apabila kondisi lingkungan dan inang memburuk (Diggles *et al.*, 2000).

Beberapa penelitian penggunaan bahan herbal atau fitofarmaka telah dilakukan pada biota akuatik, seperti yang telah dilakukan Maryani *et al.*, (2002) yaitu peneliti menggunakan ekstrak kelopak dan buah mangrove *Sonneratia caseolaris* sebagai antibakterial terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon*).

Ekstrak pasta kental etanol *Sonneratia alba* memiliki kandungan senyawa aktif berupa *alkaloid, flavonoid, triterpenoid, karbohidrat, karotenoid, tannin*, dan *kumarin* berdasarkan penelitian Satriani, *et al.* (2017). Analisa fitokimia terhadap sampel ekstraksi etanol buah pedada diketahui bahwa bahan aktif yang terkandung dalam pasta tersebut berpeluang sebagai kandidat anti bakteri. Beberapa penelitian melaporkan bahwa

mangrove memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. Harveyi*. Naiborhu *et al.*,(2002) menyatakan bahwa ekstrak daun, kelopak, buah dan biji *Sonneratia caseolaris* membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Menurut Satriani *et al*, (2017) hasil pengujian fitokimia ekstrak buah pedada (*Sonneratia alba*), hanya senyawa saponin yang tidak terkandung pada ekstrak buah pedada. Umumnya senyawa saponin terkandung pada tanaman yang memiliki cita rasa pahit seperti daun pepaya dan buah pare sedangkan buah pedada memiliki cita rasa asam yang hampir serupa dengan cita rasa asam jawa.

Selanjutnya pada pengujian bakteri *V.harveyii* secara *in vitro* di media selektif TCBSA melalui teknik difusi kertas cakram (yang direndam konsentrasi ekstrak etanol buah *S.alba*) terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* menunjukkan mampu menghasilkan daya hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening berdiameter sebesar $2,50 \pm 0,31$ cm pada konsentrasi 2% (Satriani, *et al.*, 2017).

Berdasarkan permasalahan dan upaya yang ada maka penelitian pengaruh ekstrak buah mangrove (*Sonneratia alba*) sebagai imunostimulan terhadap bakteri *Vibrio harveyi* yang diaplikasikan secara *in vivo* pada benur udang windu dilakukan. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi manfaat ekstrak buah mangrove *Sonneratia alba* dalam menekan penyakit vibriosis pada benur udang windu melalui pemberian *bioenrichment Artemia salina*.

METODOLOGI

Penelitian ini Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan pada awal Tahun 2018. Alat

dan bahan yang digunakan meliputi : Evaporator, Autoclave Inkubator, Oven Akuarium, Perlengkapan aerasi, Buah *S. alba*, TCBS, *A. salina*, *V. harveyi*, Etanol, NaCl, Asam sulfat 2N, Pereaksi wagner, FeCl₃ 5%, HCl 2N, Asam asetat. Prosedur Penelitian meliputi

- a. Ekstraksi simplisia. Buah *S. alba* segar dan muda sebanyak 35 kg, dengan kriteria buah berwarna hijau muda dengan ukuran 2-3 cm. Proses maserasi dilakukan dengan merendam simplisia ke dalam larutan etanol 96% dengan perbandingan simplisia dan etanol adalah 1:4. Selanjutnya dilakukan penyaringan antara larutan dan ampas simplisia menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk memisahkan bahan aktif dan pelarut etanol 96% sehingga diperoleh ekstrak berbentuk pasta encer. Pasta encer yang terbentuk selanjutnya diuapkan dengan oven pada suhu 40°C secara konstan selama 3x8 jam sampai diperoleh pasta kental *S. alba* (Puspitasari dan Proyogo, 2016).
- b. Fitokimia. Pengujian fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk menjelaskan kandungan positif antibakterial simplisia meliputi *Alkaloid*, *Fenol hidroquinon*, *Flavonoid* dan *Saponin* mengacu (Harbone, 1987) sementara uji *Steroid* dan *Tanin* mengacu pada (Indarto, 2011).
- c. *Bioenrichment* Artemia. *Bioenrichment* pakan alami *Artemia salina* mengacu pada metode (Cahyadi *et al*, 2017). Kista artemia ditimbang sebanyak 0.5 gram lalu ditetaskan dalam 1 liter air bersalinitas 32 mg/L dan diaerasi kuat selama 24 jam kemudian dipanen. Perendaman ekstrak dengan konsentrasi pada P1 (kontrol), P2 (25

ppm), P3 (20 ppm), P4 (15 ppm). Hasil pengujian ekstrak *Sonneratia alba* pada *Artemia salina* menunjukkan hasil LC₅₀ sebesar konsentrasi 20 ppm.

- d. Benur Udang Windu. Benur udang windu (lokal) diperoleh dari *hatchery* pembenihan di Kota Tarakan. Benur udang windu yang akan digunakan dalam penelitian terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1-3 hari, hal ini bertujuan agar benur dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya. Benur yang sehat terlihat aktif bergerak melawan arus dan apabila diberi pakan benur aktif memakan pakan yang diberikan.
- e. Inokulasi *V. harveyi*. Isolat murni bakteri *V. harveyi* yang didapatkan dari BPBAP Jepara, diremajakan kembali kedalam media selektif TCBSA. Secara kualitatif dilakukan analisis nilai (OD) *Optical Density* menggunakan *spektrofotometer* dengan panjang gelombang 600 nm hingga diperoleh nilai > 0,600 asumsi paling padat. Selanjutnya biakan tersebut diambil 0,1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 0,9 ml APW (Pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁷) (Hadioetomo, 1990).
- f. Pengamatan Benur Udang Windu. Menggunakan 24 media yang bervolume 5 liter yang berisi air laut 2 Liter setiap media sebanyak 20 ekor PL 10. Pemberian pakan *A. salina* ± 20 ekor/benur selama 12 hari dan dilanjutkan uji tantang penginfeksi *Vibrio harveyi* selama 48 jam meliputi pengamatan gejala klinis udang windu dan hitung jumlah kelangsungan hidup gelondongan udang windu.
- g. Identifikasi Bakteri. Identifikasi bakteri dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri yang menyerang benur

udang windu pada saat penelitian dan pasca penelitian, selain dengan melihat bentuk dan warna koloni bakteri, Uji biokimia dengan pewarnaan dilakukan berdasarkan prosedur (Holt, *et al.*, 1994 dalam Cahyadi dan Gusman, 2009).

- h. Kualitas Air. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari untuk mengetahui suhu, pH, salinitas kemudian untuk parameter amoniak dilakukan pengukuran kadar amoniak pada hari ke 0, 5, 12 mengacu kepada SNI, No.06-6989.30-2005.
- i. Desain Penelitian. Penelitian ini menggunakan metode ekperimental yang dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan.

Perlakuan 1 : Pakan Artemia tanpa perendaman 0 ppm (Kontrol)

Perlakuan 2 : Pakan yang ditambahkan ekstrak pedada 25 ppm

Perlakuan 3 : Pakan yang ditambahkan ekstrak pedada 20 ppm

Perlakuan 4 : Pakan yang ditambahkan ekstrak pedada 15 ppm

- j. *Survival Rate* (SR) Benur Udang. Menurut Effendie (2002), Kelulusan hidup benur udang windu dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Kelangsungan Hidup (%)

Nt = Jumlah benur pada akhir penelitian

No = Jumlah benur pada awal penelitian

- k. Analisis Data. Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dianalisis

secara deskriptif dan statistik. Untuk analisis statistik menggunakan metode Analisis Sidik Ragam/ANOVA untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kelangsungan hidup benur udang Windu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa *bioenrichment A. salina* yang diberikan perlakuan perendaman ekstrak buah *S. alba* menunjukkan hasil positif mengandung senyawa *alkaloid, flavonoid, saponin, steroid* serta *fenol* sedangkan *tanin* negatif atau tidak terdeteksinya warna pada saat pengujian.

Hasil perendaman *bioenrichment* artemia selama 24 jam menunjukkan bahwa ekstrak *S. alba* (Cahyadi *et al*, 2018) dapat diserap oleh artemia. Menurut Djariah, (1995) artemia memiliki sifat atau cara makan *non selective filter feeder* atau penyaring tidak selektif sehingga artemia akan memakan apa saja yang dapat dimakan disekitarnya termasuk ekstrak *S. alba*. Menurut Wibisono (1989), bahwa nilai yang aman (*safety concentration*) bagi organisme dari daya racun toksisitas adalah 10% dari nilai LC₅₀.

Hasil negatif yang dihasilkan pada uji *tanin* diduga karena kandungan senyawa tanin merupakan senyawa yang dapat mengikat protein membentuk ikatan kompleks protein tanin sehingga artemia yang memiliki kandungan protein yang tinggi tidak dapat menyerap ekstrak *S. alba* (Zamsari, *et al.*, 2012). Pada artemia non *bioenrichment* juga terdapat beberapa senyawa yang positif sama yang terkandung dalam ekstrak buah *S. alba* akan tetapi pada senyawa *steroid* dan *tanin* negatif. Beberapa senyawa yang memiliki kemampuan dalam

menghambat pertumbuhan bakteri seperti pada senyawa *alkaloid* memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun *peptidoglikan* pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina, 2008).

Mekanisme senyawa *fenol* sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran dari inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa *fenol* berkongulasi dengan protein seluler sehingga aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan *fosfolipid* di sekeliling sel sedang dalam kondisi sangat tipis sehingga senyawa *fenol* dapat dengan mudah merusak isi sel (Volk and Wheller, 1984)

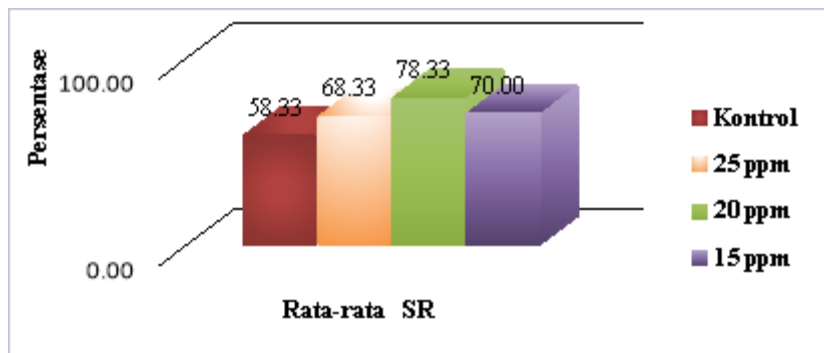
Menurut Sabir (2005), Senyawa *flavonoid* memiliki mekanisme kerja sebagai anti bakteri yaitu dapat merusak permeabilitas dinding sel mikroba yakni kemampuan untuk berikatan dengan protein fungsional sel dan DNA sehingga mampu menghambat pertumbuhan mikroba.

Senyawa *steroid* banyak terdapat di alam sebagai fraksi *lipid* dari tanaman atau hewan. Zat ini sangat penting sebagai pengatur aktivitas biologis dalam organisme hidup. *Steroid* merupakan senyawa yang terdapat pada lapisan lilin daun dan buah yang berfungsi sebagai pelindung dari serangan dan serangan mikroba (Harbone, 1987).

Benur udang windu PL (*Post Larva-12*) dipelihara selama sepuluh hari dan diberi pakan alami artemia yang sebelumnya telah dilakukan perlakuan perendaman dengan ekstrak *S. alba*. Pada saat pemeliharaan selama sepuluh hari dan dilanjutkan uji tantang dua hari dilakukan pengamatan gejala klinis secara langsung diperoleh benur udang windu yang hidup tertinggi pada konsentrasi 20 ppm (78,33%) ; 25 ppm (68,33%) ; 15 ppm (70%) dan 0 ppm (58.33%).

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada hari ke-11 dan 12 pada perlakuan kontrol setelah uji tantang terjadi penurunan aktifitas gerak ditandai dengan berkurangnya aktivitas gerak dan cenderung berdiam di dasar, pola renang menjadi miring dengan posisi badan cenderung miring kekanan, dan terjadi penurunan nafsu makan terlihat dari banyaknya artemia yang tidak termakan, begitu pula dengan perlakuan 15 ppm terjadi penurunan aktifitas gerak, pola renang cenderung normal namun gerak reflek cenderung agresif di karenakan adanya pertahanan tubuh alami dalam tubuh udang dan juga pemberian *bioenrichment Artemia salina* sehingga benur dapat bertahan dari serangan bakteri *V. harveyi*.

Menurut Gultom (2003), udang yang terinfeksi secara akut akan menyebabkan penurunan konsumsi pakan secara cepat dan ketahanan tubuh menjadi semakin lemah, sehingga menyebabkan kematian.



Gambar 1. Grafik Kelangsungan Hidup (SR) Benur Udang Windu

Demikian juga menurut Saptiani dan Hartini (2008) dan Saptiani *et al.*, (2012), mengemukakan ciri-ciri udang yang terserang adalah udang terlihat lemah dan cenderung tidak berenang dan pada bagian tubuh terlihat bercak-bercak merah.

Survival rate benur udang windu dihitung rata-rata kelulushidupannya pada akhir penelitian setelah diberikan *bioenrichment* selama 10 hari dan ujiantang selama 2 hari. Rata-rata benur udang windu yang hidup dapat dilihat pada gambar 1.

Kelangsungan hidup benur pada perlakuan kontrol mengalami penurunan paling tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan 20 ppm dikarenakan daya imunitas tubuh benur udang windu semakin melemah hingga menyebabkan kematian benur selama penginfeksi bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rukyani *et al.*, (1992) bahwa penyakit yang diakibatkan bakteri *V. harveyi* bersifat sangat akut dan ganas karena dapat memusnakan populasi yang terserang, hanya dalam waktu 1-3 hari sejak gejala awal tampak.

Tingkat kelangsungan hidup yang tertinggi terdapat pada perlakuan 20 ppm yaitu 78,33%, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak dengan perlakuan 20 ppm mampu menghambat pertumbuhan dan infeksi bakteri *V. harveyi*, sesuai dengan pendapat

Purushotham *et al.*, (2010), bahwa senyawa *flavonoid*, *alkaloid*, *tanin*, *naphthaquinones* dan *antrakuinon* yang terkandung pada buah pedada merupakan senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. kecuali pada perlakuan kontrol mengalami penurunan tertinggi menjadi 58,33 %. Hasil analisis uji ANOVA berdasarkan persentase kelangsungan hidup benur udang windu yang diberikan *bioenrichment S. alba* dengan konsentrasi 25 ppm, 20 ppm, dan 15 ppm secara perendaman memberikan pengaruh yang nyata dengan taraf signifikan ($\alpha=0,05$) dengan perolehan $F(\text{hitung}) 8,08 \geq F_{\text{crit}}(\text{tabel}) 3,49$.

Berdasarkan hasil uji biokimia dengan pewarnaan gram diketahui bahwa bakteri yang menyerang benur udang windu merupakan golongan dari bakteri *Vibrio sp.* Karena hasil uji menunjukkan gram negatif (-) yang ditandai dengan terbentuknya suspensi yang kental (seperti lendir) dan lengket, uji motility, catalase, oksidase, glucose bernilai positif serta uji TCBS positif kuning dapat dilihat pada Gambar 2 diatas.

Kualitas air merupakan suatu variabel yang dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Parameter kualitas air yang diamati adalah suhu, salinitas, pH, dan amoniak. Pengukuran dilakukan setiap hari kecuali amoniak. Kisaran pengukuran parameter kualitas air dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kisaran Rerata Pengukuran Kualitas Air

Parameter	Satuan	Kisaran Pengamatan	Kisaran Optimal (Rakhmatun dan Mudjiman, 2003)
Suhu	°C	26,6 – 28	28-32
Salinitas	Ppt	31 – 33	10-35
Ph	-	7,44 -7,53	6,8-8,7
Amoniak	mg/L	0,07 – 0,218	< 0,1

Kualitas air termasuk salah satu faktor yang mempengaruhi timbulnya penyakit pada ikan, karena penyakit muncul dari interaksi antara inang, patogen, dan lingkungan, kualitas air yang berada diluar kisaran optimum kebutuhan hidup ikan akan menyebabkan ikan mengalami stress, sehingga akibatnya ikan lebih mudah terserang penyakit. Oleh karena itu kondisi kualitas air selama perlakuan harus diperhatikan agar tetap berada

pada kisaran normal. Secara umum kualitas air media pemeliharaan selama penelitian masih kisaran normal.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian pakan *bioenrichment* pada *Artemia salina* menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada kelangsungan hidup benur udang windu yang terinfeksi *Vibrio harveyi* sebesar 78,33% pada konsentrasi 20 ppm. *Artemia salina* yang diberi *bioenrichment* terbukti menyerap ekstrak buah *Sonneratia alba* dibuktikan dengan hasil pengujian fitokimia secara kualitatif yang menunjukkan positif senyawa *alkaloid*, *flavonoid*, *saponin*, *steroid* dan *fenol*.

DAFTAR PUSTAKA

Cahyadi, J., Satriani, GI., Gusman, E., 2017. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol *Sonneratia alba* Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

(BSLT) Pada *Artemia salina*. Prosiding Semnas Saling Didik IV Universitas Borneo Tarakan Volume 2 Tahun 2017. ISSN:2548-9615. Halaman 490-493.
https://drive.google.com/file/d/1IpOXQ2Ci_agUBoWpPtAC4QghCCaTG8wm/view

Cahyadi, J., Satriani, GI., Gusman, E., Sabri, 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Mangrove (*Sonneratia alba*) Sebagai Bioenrichment Pakan Alami *Artemia salina*. Jurnal Borneo Saintek E-ISSN 2599-3313 & ISSN 2615-434X Vol 3 Nomor 2 Oktober 2018. e-journal; <http://ojs.borneo.ac.id/ojs/index.php/JBS/>

Cahyadi, J., dan Gusman, E., 2009. Karakterisasi Bakteri *Vibrio* sp pada benur Udang windu (*Penaeus monodon*) Di Hatchery Kota Tarakan.. Jurnal Eksakta Borneo ISSN 2085-2037 Vol II/No 2, 2009. Hal 11-22.

Diggles, B. K., Moss, G. A., Carson, J. and Anderson, C. D. 2000. *Vibrio* Species Associated With Mortalities In Hatchery-reared Turbot (*Colistium nudipinnis*) and Brill (*C. guntheri*) In New Zealand. *Jurnal Aquaculture*. Pp 183: 1-12.

- Djariah, A. S. 1995. Pengaruh Pemberian Kombinasi Pakan Alami Daphnia Dengan Kuning Telur Ayam Terhadap Pertumbuhan dan Sintasan Larva Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Sains Akuatik*, Vol 14, No 1 : hal 9-16. ISSN: 1410 – 9425
- Effendie, M. I. 2002. “*Biologi Perikanan*”. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta.
- Gultom, D. M. 2003. *Patogenisitas Bakteri Vibrio harveyi Pada Larva Udang Windu (Penaeus monodon)*. Institut Pertanian Bogor.
- Hadioetomo, 1990. “*Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*”. Penerbit Gramedia 161 halaman : Jakarta.
- Harborne, J. B. 1987. Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Aquawarman*. Vol. 2 (1) : hlm 43-50. ISSN: 2460-9226.
- Holt, J. G., Noel R. Krieg., Peter H. A., Sneath., James, T., Stanley, T. & Williams. 1994. *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Lippincott William and Wilkins.
- Joni, I. M., Wibawa, B. M., Hidayat. D., Mulyasari, E. S., Suharyadi, Farchan, M. dan Daging, I. K., 2007. *Rancang Bangun Sistem Pakar Udang Windu Fase Benur*. *Jurnal Sains MIPA*, Edisi Khusus Tahun 2007, Vol. 13. No.3, Hal : 208-215 ISSN 1976-1673.
- Juliantina, F. R. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *JKKI-Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- 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). *Jurnal Akuakultur Indonesia.*, 1 (2) : 129-130.
- Mustika, S. N. 2014. *Perancangan Pengukur Optical Density Bakteri Lactobacillus Plantarum dan Starter Yogurt (Lactobacillus Plantarum dan streptococcus thermophillus)*. *Jurnal Skripsi*. Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya. Malang.
- Naiborhu, P.E. (2002). *Ekstraksi Dan Manfaat Ekstrak Mangrove (Sonneratia Alba Dan Sonneratia Caseolaris) Sebagai Bahan Alami Antibakterial Pada Patogen Udang Windu, Vibrio Harveyi*. Tesis, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor. 63 hal.
- Puspitasari, A. D., Proyogo, L. S. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*).

Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta. ISSN 2528-5912.

Aquawarman. Vol 2 (2) : 35-44. ISSN : 2460-9226.

- Rukyani, A. P., Taufik dan Taukhid. 1992. Penyakit Kunang - Kunang (Luminescence vibrios) di hatchery udang windu dan cara penanggulangan penyakit benur di hatchery udang. *Jurnal Litbang Pert.* 2: 1-17.
- Satriani, G.I., Cahyadi, J., Juliana, E.N., 2017. Eksatraksi Etanol Buah Pedada (*Sonneratia alba*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro*. Semnaskan IV FPIK Universitas Nusa Cendana Kupang. ISBN 978-602-6906-39-7) halaman 105. <http://fkip.nusacendana.net>
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri *Flavonoid propolis*, *Trigonas* sp. Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). *Jurnal Kedokteran Gigi*. Vol.38, No.3, Hal.135-141.
- Saptiani, G., Hartini. 2008. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Daun *Sonneratia alba* Terhadap *Vibrio harveyi* Pada Benur Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Aquawarman*. Vol 2 (2) : 35-44. ISSN : 2460-9226.
- Saptiani, G., Prayitno., dan Anggoro, S. 2012. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Daun *Sonneratia alba* Terhadap *Vibrio harveyi* Pada Benur Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal*
- SNI, No.06-6989.30-2005. *Panduan Prosedur Pengujian Kadar Amoniak Dengan Spektrofotometer Secara Fenat Pada Air dan Air Limbah*. Badan Standarisasi Nasional (BPN).
- Trianto, Agus, W. Edi, Suryono, S. dan Rahayu S. 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* Sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Universitas Diponegoro. Semarang, 9 (4): 186-189.
- Volk dan Wheeler. 1984. "Mikroba Dasar". Jilid I Penerjemah: Markhman. Edisi Kelima. Penerbit: Erlangga. Jakarta
- Wibisono, M., S. 1989. Toksisitas Deterjen Terhadap Benih Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*, Bloch). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*, Juli 2006, hlm. 75-81. ISSN 0126-4265 Vol. 33 No.2
- Zamsari, M., Sunarso., Sutrisno. 2012. Pemanfaatan Tanin Alami dalam memproteksi protein bungkil kelapa ditinjau dari fermentabilitas protein secara IN VITRO. *Animal Agriculture Journal*, Vol. 1. No. 1, 2012, p 405-416. Universitas Diponegoro.