



EFEKTIFITAS ANTIBAKTERI *Vibrio* sp. DARI EKSTRAK DAUN MANGROVE *Rhizophora apiculata*

ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF *Vibrio* sp. FROM *Rhizophora apiculata* MANGROVE LEAF EXTRACT

Hendro Hitijahubessy^{1*}, Yuni Irmawati¹

¹Program Studi Bioteknologi Perikanan, Politeknik Perikanan Negeri Tual, Tual - Indonesia

*Corresponding Author e-mail: hendro@polikant.ac.id

ABSTRACT

Keywords:

mangrove leaves;
Rhizophora apiculata;
Vibrio sp.;
fitokimia

Research was carried out by analyzing the antibacterial ability of the ethanol extract of mangrove *Rhizophora apiculata* leaves against *Vibrio* sp. Maceration using 70% ethanol resulted in an extract yield of 3.09%. The highest average inhibition zone results were found in mangrove leaf extract at a concentration of 100% with an inhibition zone of 24.68 mm. The smallest inhibition zone was found in mangrove leaf extract with a concentration of 6.25% with an inhibition zone of 3.85 mm, a positive control inhibition zone (30 mg tetracycline) of 26.35 mm and a negative control inhibition zone (DMSO 10%) of 0 mm. This can be seen from the results of the average inhibition zone which shows strong antibacterial activity of mangrove leaf extract at a concentration of 100% and moderate antibacterial activity of mangrove leaf extract at a concentration of 75% to 50% and no antibacterial activity at concentrations of mangrove leaf extract below 25 %, the positive control inhibition zone (30 mg tetracycline) was 26.35 mm and the negative control inhibition zone (DMSO 10%) was 0 mm. Phytochemical analysis was also carried out on mangrove leaves with the results showing the presence of several visible secondary metabolites. The secondary metabolites found in *Rhizophora apiculata* mangrove leaves consist of alkaloids, flavanoids, steroids, saponins and tannins.

Article History:

Received: 28 Juli 2023

Revised: 26 November 2023

Accepted: 30 November 2023

© 2023 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Pattimura

How to cite:

Hitijahubessy H, dan Irmawati Y. 2023. Efektifitas Antibakteri *Vibrio* sp. Dari Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora apiculata*. Biofaal Journal. 4(2): 81-89



A. PENDAHULUAN

Bakteri yang menyebabkan penyakit vibriosis adalah bakteri *Vibrio* sp. (Irianto, 2005). Ciri-ciri ikan yang terserang vibriosis yaitu pada insang dan hepatopankreas berwarna merah agak kecoklatan, bagian telson, uropod dan abdominal semuanya berwarna merah, dan berenang lambat atau terlihat lemah (Ramesh et al., 2014). Meluasnya penggunaan antibiotik selama beberapa tahun terakhir telah mengakibatkan dalam residu antibiotik dalam produk perikanan yang dibudidayakan mengalami resistensi (Hemamalini et al., 2022). Hal ini ditemukan bahwa bakteri *Vibrio* menunjukkan resistensi terhadap banyak antibiotik, termasuk ampisilin, penisilin, dan tetrasiklin (Elmahdi et al., 2016; Li et al., 2023). Dengan demikian membutuhkan antibiotik baru dari bahan alam yang berguna mengatasi resistensi terhadap antibiotik sintesis.

Tumbuhan mangrove *Rhizophora apiculata* memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia, mulai dari manfaat ekologis hingga manfaat sebagai sumber pangan dan obat-obatan (Nurjanah et al., 2015). Mangrove *Rhizophora apiculata* merupakan salah satu vegetasi hutan tropis dan pemanfaatannya terkait dengan potensi zat bioaktifnya yang memiliki nilai farmasi sebagai antibakteri (Latief et al., 2015). Hasil penelitian melaporkan bahwa tanaman mangrove menunjukkan respon antibakteri karena mengandung komponen alkaloid, minyak atsiri, asam fenolat, flavonoid, kina, tanin, dan terpenoid (Jithesh et al., 2006; Ravikumar, 2014). Penelitian antibakteri dari bahan alam terhadap *Vibrio* sp. belum banyak diteliti, perlu diteliti lebih lanjut kemampuan antibakteri ekstrak daun Mangrove *Rhizophora apiculata* dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. bakteri.

B. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Pantai Difur Kota Tual dan di UPTD Balai Budidaya Perikanan Kota Tual dengan suhu rata-rata tahunan berkisar antara 27 °C sampai 31 °C.

Alat dan Bahan

Air laut, daun mangrove, media Thiosulfate citrate bile salts sucrose (TCBS), air suling, etanol, penyeka kapas steril, kertas cakram antibiotik tetrasiklin, kertas cakram kosong, handuk kertas, pembakar Spirit, konsep inkubator udara, konsep bio inkubator, hot plate, timbangan, sarung tangan steril, oven, evaporator, saringan 60 mesh, cawan petridish, erlenmeyer, tabung reaksi, spatula, gelas ukur, labu ukur, gelas kimia, pipet, pinset, bunsen, neraca analitik, colloni counter, blender, tray, mortar dan alu.

Metode Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air laut di daerah Watdek Kabupaten Maluku Tenggara. Pengambilan sampel daun mangrove dilakukan dengan cara dipetik langsung dari pohonnya yang berada di Desa Ngilngof.

Preparasi Sampel

Daun mangrove *Rhizophora apiculata* diambil, dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan residu kotor. Kemudian daun dipotong kecil-kecil dan dihamparkan pada nampan untuk ditiriskan dan dikeringkan pada suhu ruang selama 5-7 hari. Daun kering yang dihasilkan kemudian dihaluskan dengan pengiling bubuk dan diayak menggunakan saringan 60 mesh untuk menghasilkan serbuk.

Ekstraksi, Pengenceran Ekstrak dan Pembuatan Larutan Kontrol

Proses ekstraksi dalam penelitian ini adalah dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan ampas. Filtrat ekstrak yang diperoleh dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian pelarut yang terkandung dalam ekstrak dihilangkan sehingga diperoleh ekstrak berbentuk pasta. Proses penguapan ekstrak cair menjadi pasta dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 78 °C (Bintoro et al., 2017). Ekstrak daun mangrove berbentuk pasta yang disebut sebagai ekstrak konsentrasi 100%. Ekstrak konsentrasi 75% dapat dibuat dengan cara melarutkan 3,75 gram serbuk ekstrak dalam 0,5 ml DMSO 10% dan 5 ml akuades. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat dari ekstrak 75% sampai konsentrasi ekstrak mencapai 3,125%. Kontrol positif menggunakan kertas cakram yang berisi antibiotik tetrasiklin dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%.

Prosedur Kerja

1. Persen Rendemen

Menurut (Sudarmadji & Haryono, 1996), rendemen ekstrak merupakan hasil bagi berat ekstrak daun (pasta) dibagi dengan berat serbuk daun, kemudian dikalikan 100%. Adapun perhitungan rendemen ekstrak dalam rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak (pasta)}}{\text{massa serbuk daun sebelum diekstrak}} \times 100\%$$

2. Uji Aktivitas Antibakteri

a) Sterilisasi

Proses sterilisasi alat gelas laboratorium, awalnya peralatan yang digunakan terlebih dahulu dicuci dengan detergen, dibilas dengan air bersih hingga bersih dan dikeringkan. Peralatan seperti pipet, cawan petri dan tabung reaksi dibungkus dengan crab paper dan disterilkan dalam oven pada suhu 170 °C (Irmawati & Sudirjo, 2017).

b) Persiapan Media TCBS

Media agar TCBS sebanyak 8,8 gram dihomogenkan dalam 100 ml akuades dalam erlenmeyer (sesuai dosis yang digunakan), mulut tabung erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil kemudian dipanaskan menggunakan hot plate sampai Media agar TCBS larut.

c) Isolasi dan Analisis Aktivitas Antibakteri

Ekstrak daun mangrove digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Metode ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. dengan jenis konsentrasi ekstrak. Bakteri yang telah diisolasi dari sampel air laut dikulturkan pada media

TCBS menggunakan metode streak plate dengan kapas lidi steril (Difco, 1977). Kemudian dimasukkan kertas cakram kontrol positif (tetrakisiklin 30 mg), kertas cakram yang direndam dalam kontrol negatif (DMSO 10%) dan kertas cakram yang direndam dalam ekstrak yang telah diencerkan secara bertahap dari konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125%, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama ± 24 jam.

3. Uji Fitokimia

Analisis fitokimia didasarkan pada warna yang merupakan analisis kualitatif meliputi analisis alkaloid, flavonoid, steroid/triterpen, tanin dan saponin (Sangi et al., 2019).

a) Analisis Alkaloid

Serbuk daun ditimbang sebanyak 4 gram, kemudian ditambahkan 5 ml kloroform kemudian dihaluskan kembali dengan lumpang dan alu. Kemudian ditambahkan amoniak dan kloroform dengan perbandingan 1:1. Larutan disaring ke dalam tabung reaksi, dan 10 tetes H_2SO_4 2N ditambahkan ke filtrat. Filtrat dikocok dengan vortex kemudian dibiarkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas diambil dan dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi sebanyak 2,5 ml. Ketiga larutan ini direaksikan dengan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner. Adanya endapan menunjukkan bahwa sampel mengandung alkaloid. Pereaksi Mayer akan menghasilkan endapan putih, pereaksi Dragendorff akan muncul endapan merah jingga dan pereaksi Wagner akan terbentuk endapan berwarna coklat.

b) Analisis Triterpen dan Steroid

Serbuk halus daun sebanyak 50-100 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan asam asetat anhidrat sampai sampel terendam, kemudian sampel dibiarkan selama ± 15 menit, enam tetes larutan dimasukan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan asam sulfat pekats sebanyak 2-3 tetes. Terbentuknya triterpen ditunjukkan warna merah jingga atau ungu, sedangkan pembentukan steroid ditunjukkan warna biru.

c) Analisis Flavonoid

Serbuk halus daun sebanyak 200 mg ditambahkan 5 ml etanol dan dipanaskan selama ± 5 menit dalam tabung reaksi menggunakan api bunsen. Kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Selanjutnya ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,2 g. Adanya flavanoid ditunjukkan warna merah tua setelah ± 3 menit.

d) Analisis Saponin

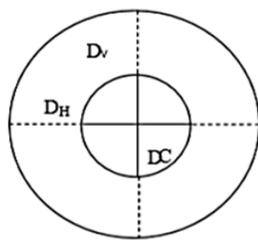
Serbuk halus daun sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan akuades sehingga semua serbuk terendam, dipanaskan selama 2-3 menit, kemudian didinginkan, lalu dikocok kuat-kuat. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil.

e) Analisis Tanin

Serbuk halus daun sebanyak 20 mg direndam dengan etanol 96%. 1 ml larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi kosong, selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes $FeCl_3$ 1%. Adanya tanin ditunjukkan warna hitam kebiruan atau hijau.

Analisis Data

Pengukuran zona hambat (Davis & Stout, 1971; Fiana et al., 2020).



$$a \text{ Hambat} = \frac{(DV - DKC) + (DH - DKC)}{2}$$

Keterangan :

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horisontal

DKC: Diameter cakram kertas

Analisis diameter dan inhibisi dalam metode difusi cakram dapat diklasifikasikan kekuatan penghambatan oleh (Greenwood et al., 1995) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

Zona hambat (mm)	Kekuatan penghambatan
>20	Kuat
16-20	Sedang
10-15	Lemah
<10	Tanpa Penghambatan

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persen Rendemen

Hasil penelitian menunjukkan berat ekstrak kering (pasta) adalah 15,44 gram dan berat serbuk daun mangrove *Rhizophora apiculata* untuk maserasi adalah 500 gram. Maka persen rendemen ekstrak pada penelitian ini dapat diperoleh sebesar 3,09%. Rendemen diperoleh dari hasil bagi berat produk (ekstrak) yang kemudian dibagi dengan berat bahan baku, dan dikalikan 100%. Analisis rendemen ekstrak bertujuan untuk mengetahui jumlah potensi ekstrak yang larut dengan pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol. Etanol bersifat polar, sehingga mampu mengekstrak metabolit jauh lebih banyak karena sebagian besar metabolit sekunder bersifat polar. Menurut (Verdiana et al., 2018) pemilihan pelarut sangat mempengaruhi metabolit sekunder yang akan larut dalam pelarut tersebut. Pelarut polar akan melarutkan metabolit sekunder polar, sedangkan pelarut nonpolar akan melarutkan metabolit sekunder nonpolar. Etanol merupakan pelarut yang umum digunakan sebagai pelarut pada proses maserasi karena sebagian besar metabolit sekunder larut dalam etanol.

2. Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengukuran zona hambat berdasarkan pengenceran ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* pada beberapa konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% dengan dua perlakuan (duplo), kontrol positifnya adalah tetrasiklin 30 mg, kontrol negatifnya adalah Dimetil Sulfooksida 10% (DMSO), dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Rata-Rata Zona Hambat

No	Sampel	Rata-rata Zona hambat (mm)
1	EDS 100%	24.68
2	EDS 75%	19.95
3	EDS 50%	19.23
4	EDS 25%	9.50
5	EDS 12,5%	3.93
6	EDS 6,25%	3.85
7	EDS 3,125%	0
8	Kontrol (+)	26.35
9	Kontrol (-)	0

Keterangan: EDS: Ekstrak daun mangrove; kontrol (+): Tetrasiklin 30 mg; Kontrol (-): DMSO 10%

Zona hambat yang terbentuk pada media dapat diklasifikasikan menjadi empat golongan yaitu Tidak ada zona hambat dengan zona hambat kurang dari 10 mm, klasifikasi lemah dengan zona hambat antara 10-15 mm, klasifikasi sedang dengan zona hambat berkisar antara 16-20 mm dan klasifikasi kuat dengan zona hambat antara lebih 20 mm. Pada penelitian ini rata-rata zona hambat terbesar ditemukan pada konsentrasi ekstrak 100% dengan zona hambat sebesar 24,675 mm. Zona hambat terkecil terdapat pada ekstrak 12,5% dengan zona hambat 3,625 mm, zona hambat kontrol positif (tetrasiklin) 26,35 mm dan zona hambat kontrol negatif (DMSO 10%) 0 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil rata-rata zona hambat menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat dari ekstrak daun mangrove pada konsentrasi 100% dan aktivitas antibakteri sedang pada konsentrasi 75% sampai 50% dan tidak ada aktivitas antibakteri dari ekstrak daun mangrove pada konsentrasi di bawah 25%. Jika dibandingkan aktivitas antibakterinya dengan kontrol positif yaitu antibiotik tetrasiklin dalam dosis 30 mg, hasil antibiotik tersebut masih tergolong kuat sebagai antibakteri dan sama kekuatannya dengan ekstrak daun mangrove pada konsentrasi 100%.

Penggunaan pelarut DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif dan dipastikan tidak akan membentuk zona hambat karena akan berfungsi sebagai pelarut pengencer ekstrak daun mangrove. DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar yang sulit larut dalam air suling. Tetrasiklin 30 mg sebagai kontrol positif sebagai antibiotik atau antibakteri yang merupakan senyawa murni yang dapat dipastikan dapat membentuk zona hambat. Menurut Patel et al., (2015) dan (Saraswati, 2018), Metode analisis antibakteri dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram yang menggunakan cakram kertas untuk membantu proses penghambatan bakteri dengan ekstrak. Metode ini didasarkan pada ukuran atau diameter zona hambat yang terbentuk dan hasilnya dalam milimeter.

3. Uji Fitokimia

Analisis fitokimia serbuk daun mangrove *Rhizophora apiculata* dan hasil analisis fitokimia pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Analisis Fitokimia Daun Mangrove

No.	Analisis Fitokimia	Hasil	Informasi Hasil
	Alkaloid:		
1	Wagner	+	Endapan merah
	Mayer	+	Endapan putih
	Dragendorff	+	Endapan coklat
2	Triterpen	-	-
3	Steroid	+	Biru
4	Flavonoid	+	Merah magenta
5	Saponin	+	Busa
6	Tanin	+	Biru tua atau hitam

Keterangan: (+): terbentuk sesuai informasi hasil ; (-): tidak terbentuk sesuai informasi hasil

Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif berdasarkan perubahan warna yang akan terbentuk dari suatu reaksi kimia (Sangi et al., 2019). Metabolit sekunder yang dihasilkan dari analisis fitokimia pada penelitian ini adalah alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan tanin. Terbentuknya zona bening hasil analisis aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap *Vibrio* sp. menunjukkan adanya metabolit sekunder yang diduga berfungsi sebagai antibakteri.

Salah satu bahan aktif dari ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora apiculata* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. merupakan senyawa flavanoid. Senyawa flavonoid sebagai antibakteri membentuk protein ekstraseluler dari senyawa kompleks dan terlarut yang dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan pelepasan senyawa intraseluler. Penelitian (Ngozi et al., 2009) menyatakan bahwa senyawa flavanoid menghambat energi dan sistem pernapasan bakteri, karena bakteri membutuhkan energi untuk menyerap berbagai metabolit dan biosintesis senyawa makromolekul. Bahan aktif lain yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp adalah senyawa alkaloid. Ini juga telah dipelajari oleh (Brooks et al., 2005) yang menyatakan bahwa senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membran sel dan mendenaturasi protein sel bakteri yang menyebabkan bakteri mati. Selain itu, terdapat tanin pada ekstrak etanol daun mangrove. Menurut (Cowan, 1999), tanin berfungsi untuk menonaktifkan adhesi sel dan enzim pada bakteri. Tanin juga dapat mengganggu distribusi protein di lapisan dalam sel. Tanin memiliki kemampuan untuk mencegah pembentukan dinding sel bakteri secara sempurna, karena tanin dapat melisis polipeptida pada dinding sel bakteri. Selain itu, ditemukan adanya steroid pada ekstrak daun mangrove. Menurut (Bontjura et al., 2015) fungsi metabolit steroid adalah sebagai antibakteri yang dapat merusak membran sel sehingga menjadi rapuh dan lisis. Metabolit sekunder yang juga terdapat pada daun mangrove adalah saponin. (Rijayanti, 2014) menyatakan bahwa saponin dapat merusak susunan peptidoglikan dinding sel bakteri dan merusak DNA bakteri dengan busa yang terbentuk dari tanaman tersebut.

D. KESIMPULAN

Penelitian yang telah dilakukan meliputi penentuan rendemen ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora apiculata*, analisis aktivitas antibakteri daun mangrove *Rhizophora*

apiculata terhadap bakteri *Vibrio* sp dan analisis fitokimia dari serbuk daun mangrove *Rhizophora apiculata*. Rendemen ekstrak etanol daun yang diperoleh pada penelitian ini adalah 3,09%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil rata-rata zona hambat menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat dari ekstrak daun pada konsentrasi 100% dan aktivitas antibakteri sedang pada konsentrasi 75% sampai 50% dan tidak ada aktivitas antibakteri dari ekstrak daun pada konsentrasi di bawah 25%. Jika aktivitas antibakteri ekstrak daun dibandingkan dengan kontrol positif yaitu antibiotik tetrasiklin 30 mg, hasil antibiotik tergolong kuat sebagai antibakteri dan sama dengan daya hambat konsentrasi ekstrak daun 100% daun mangrove *Rhizophora apiculata*. Analisis fitokimia pada serbuk daun mangrove *Rhizophora apiculata* yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan adanya metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavanoid, steroid, saponin dan tanin.

E. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara berkat hibah dari Program Penelitian Mahasiswa Dana Hibah DIPA UPPM Politeknik Perikanan Negeri Tual tahun 2022. Kami mengucapkan terima kasih kepada Kepala UPPM Politeknik Perikanan Negeri Tual yang telah mendorong kami untuk melaksanakan penelitian ini dari awal sampai akhir dengan sangat baik.

F. DAFTAR PUSTAKA

- Bintoro, A., Ibrahim, A. M., Situmeang, B., Kimia, J., & Cilegon, B. (2017). Analisis dan identifikasi senyawa saponin dari daun bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal Itekima*, 2(1), 84–94.
- Bontjura, S., Waworuntu, O. A., & Siagian, K. V. (2015). Antibacterial effect of leilem leaf extract (*Clerodendrum minahassae* l.) On streptococcus mutans bacteria. *Pharmakon*, 4(4), 96–101.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2005). Mikrobiologi kedokteran. *Jakarta: Salemba Medika*, 6, 328–335.
- Cowan, M. M. (1999). Clinical Microbiology Reviews-Plants Products as Antimicrobial Agents. *Miami University, Miami, FL*.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay: II. Novel Procedure Offering Improved Accuracy 1. *Applied Microbiology*, 22(4), 666.
- Difco, L. (1977). Difco manual of dehydrated culture media and reagents for Microbiology and Clinical laboratory procedures. *Difco Laboratories*.
- Elmahdi, S., DaSilva, L. V., & Parveen, S. (2016). Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: a review. *Food Microbiology*, 57, 128–134.
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., & Purwanti, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Pharmakon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10–20.
- Greenwood, D., Finch, R., Davey, P., & Wilcox, M. (1995). Antibiotics, susceptibility (Sensitivity) test antimicrobial and chemotherapy. *United State of America: Mc Graw Hill Company*.
- Hemamalini, N., Shanmugam, S. A., Kathirvelpandian, A., Deepak, A., Kaliyamurthi, V., & Suresh, E. (2022). A critical review on the antimicrobial resistance, antibiotic residue and metagenomics-assisted antimicrobial resistance gene detection in freshwater aquaculture environment. *Aquaculture Research*, 53(2), 344–366.
- Irianto, A. (2005). *Patologi ikan teleostei*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Irmawati, Y., & Sudirjo, F. (2017). Infection *Vibrio* sp. bacteria on *Kappaphycus* seaweed varieties brown and green. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 89(1), 12016.
- Jithesh, M. N., Prashanth, S. R., Sivaprakash, K. R., & Parida, A. (2006). Monitoring expression profiles of antioxidant genes to salinity, iron, oxidative, light and hyperosmotic stresses in the highly salt tolerant grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. by mRNA analysis. *Plant Cell Reports*, 25, 865–876.
- Latief, M., Nazarudin, & Nelson. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak daun dan buah prepat (*Sonneratia alba*) asal tanjung jabung timur provinsi jambi. *Prosiding SEMIRATA*, 0(0), 112–117. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/semirata2015/article/view/14142>
- Li, Z., Ren, Y., Wang, Z., Qi, Z., Murtaza, B., & Ren, H. (2023). Characterization and genomic analysis of the

- vibrio phage R01 lytic to *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture Reports*, 30, 101628.
- Ngozi, I. M., Jude, I. C., & Catherine, I. C. (2009). Chemical profile of *Chromolaena odorata* L.(King and Robinson) leaves. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5), 521–524.
- Nurjanah, N., Jacob, A. M., Hidayat, T., & Shylina, A. (2015). *Bioactive compounds and antioxidant activity of lindur stem bark (Bruguiera gymnorrhiza)*.
- Patel BJ, Cockerill FR, Bradford PA, Eliopolus GM, Hindler JA, Jenkins SG, Lewis JS, Limbago B, Miller LA, Nicolau DP, Powell M, Swenson JM, Traczewski MM, Turnidge JD, Weinstein MP and BL Zimmer. 2015. *Methods For Dilution Antimicrobial Susceptibility Test For Bacteria; That Grow Aerobically; Approved Standard Tenth Edition*. Clinical and Laboratory Standards Institute. 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087 USA.
- Ramesh, K., Natarajan, M., Sridhar, H., & Umamaheswari, S. (2014). Virulence determination among *Vibrio harveyi* hatchery isolates through haemolysis and growth constraint. *Global of Journal Bio-Science and Biotechnology*, 3(1), 109–114.
- Ravikumar, C. (2014). Review on herbal teas. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(5), 236.
- Rijayanti, R. P. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera Foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 1(1).
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., & Makang, V. M. A. (2019). Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*, 1(1), 47–53.
- Saraswati, D. K. (2018). *Uji MIC (Minimum Inhibitory Concentration) Ekstrak Methanol Jamur Tiram Merah Muda (Pleurotus flabellatus) Terhadap Bakteri Multidrug Resistance Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Sudarmadji, S., & Haryono, B. (1996). *Suhardi, Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. (2018). Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 7(4), 213–222.