

LIPIDA

JURNAL TEKNOLOGI PANGAN DAN AGROINDUSTRI PERKEBUNAN

<https://jurnal.politap.ac.id/index.php/lipida>

Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Bakteri (*Vibrio Harveyii*) Secara *In Vitro*

Zainuddin

Jurursan Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelutan, Universitas Borneo Tarakan, Jalan Amal Lama No.1 , Kota Takan, Kalimantan Utara, Kode Pos 77124 , Indonesia
email : zainuddin@borneo.ac.id

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima 4 Maret 2022
Disetujui 1 April 2022
Di Publikasi April 2022

Kata kunci:
Daun Pegagan
(*C.asiatica*), Senyawa
Bioaktif, *V.harveyii*.

Abstrak

Penyakit Vibriosis disebabkan oleh serangan bakteri *Vibrio harveyii*. Penggunaan antibiotik dilarang karena memberikan dampak negatif pada larva udang karena akan meninggalkan residu dalam tubuh dan menyebabkan resistensi terhadap *V.harveyii*. Daun pegagan (*Centella asiatica*) mengandung zat aktif antibakteria yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyii* secara *In Vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak *C.asiatica* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyii* secara *In Vitro*. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi kertas cakram, yang terdiri dari 5 perlakuan, yaitu konsentrasi 5%, 8% dan 10% dan 2 kontrol yaitu kontrol positif (Tetrasiklin 0,01%) dan kontrol negatif (akuades). Hasil senyawa metabolit sekunder ekstrak *C.asiatica* dianalisis secara kualitatif. Pada ekstrak *C.asiatica* mengandung senyawa bioaktif antara lain alkaloid, fenol hidrokuinon, flavonoid, saponin, dantanin. Pada uji antibakteri ekstrak *C.asiatica* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi ekstrak yaitu 5% = 14,16 mm, konsentrasi 8% = 16,63 mm dan konsentrasi 10% = 21,44. Dari hasil yang diperoleh ekstrak *C.asiatica* menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyii* mendekati daya hambat pada kontrol positif (Tetrasiklin).

Inhibitory Power Of Gotu Kola (*Centella asiatica*) Leave Extract Against Bacteria (*Vibrio harveyii*) In Vitro

Keywords:
Pegagan Leaf
(*C.asiatica*), bioactive
compound, *V.harveyii*

Abstract

Vibriosis disease is caused by *Vibrio harveyii* bacteria attack. Use of antibiotics is prohibited because it has a negative impact on shrimp larvae because it will leave the residue in the body and cause resistance to *V.harveyii*. pegagan leaf (*Centella asiatica*) contains antibacterial active substances that can inhibit the growth of *V.harveyii* bacteria *In Vitro*. The purpose of this study is to determine the effectiveness of leaf extract of *C.asiatica* can inhibit the growth of *V.harveyii* bacteria *In Vitro*. The antibacterial test was performed by disc diffusion method, which consisted of 5 treatments, 5% 8% and 10% and 2 control, is positive control (Tetracycline 0,01%) and negative control (aquades). The result of secondary metabolite compound of *C.asiatica* extract was analyzed qualitatively. In leaf extract of gotu kola contains bioactive compounds such as alkaloids, phenols, saponins and tannins. In the antibacterial test of *C.asiatica* extract was able to inhibit the growth of bacteria with the average diameter of inhibit zone formed from each concentration of extract that is 5% = 14,16 mm concentration 8% = 16,63 mm concentration 10% = 21,44. From the result, obtained leaf extract of *C.asiatica* showed the ability to inhibit the growth of *V.harveyii* bacteria close to the drag in the positive control (tetracycline).

PENDAHULUAN

Vibriosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Vibrio harveyii*. *V.harveyii* dikenal sebagai bakteri yang paling pathogen pada udang windu, baik dalam hatchery maupun setelah ditebar dalam tambak. Penyakit ini dikenal dengan *luminescent vibriosis* (udang menyala) (Lavila-Pitogo *et al.*, 1998). Upaya penanggulangan penyakit *luminescent vibriosis* ini telah dilakukan dengan pemberian berbagai macam antibiotik secara terus menerus memberikan dampak negatif pada larva udang karena akan meninggalkan residu dalam tubuh dan menyebabkan resistensi terhadap *V.harveyii*. Dengan penggunaan bahan alami seperti daun pegagan dampak resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat diminimalkan, sehingga lebih aman bagi udang (Baticados, *et al.*, 1990). Penghambatan ekstrak pegagan terhadap bakteri telah dilakukan oleh Dash *et al* (2011) yang menunjukkan bahwa ekstrak pegagan dapat menghambat bakteri *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian mengenai daya hambat ekstrak daun pegagan terhadap bakteri *V.harveyii* secara *in vitro*. Untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap bakteri *Vibrio harveyii* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Adapun prosedur yang digunakan menggunakan metode deskriptif kualitatif. Pengambilan sampel menggunakan metode survey yang selanjutnya di uji di laboratorium, pembuatan ekstrak, sterilisasi alat, pembuatan konsentrasi, uji fitokimia, kultur bakteri *V.harveyii*, uji antibakteri dan pengamatan zona hambat. Pengambilan sampel daun pegagan (*C.asiatica*) dilakukan di Juata Laut. dikeringkan dalam suhu ruang selama 5-7 hari. Setelah daun kering kemudian dihancurkan menggunakan blender dan diayak untuk selanjutnya menjadi simplisa berbentuk tepung pada proses meserasi. Simplisa adalah bahan alami yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun atau berupa bahan yang dikeringkan (Depkes RI,1995). Simplisa dalam kegiatan ini adalah simplisa nabati berupa daun yang sudah dicacah dan diblender halus, dan diayak sehingga berbentuk tepung.

Ekstraksi daun pegagan dilakukan dengan menggunakan metode meserasi atau perendaman Awaludin dan Rahmat, (2015). Pada konsentrasi 10% diambil 1 gr ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) dan dilarutkan dalam 10 ml akuades. Untuk konsentrasi 10% diambil 3 ml dan dimasukkan ke dalam botol. Selanjutnya sisah dari 7 ml diencerkan terlebih dahulu untuk perhitungan konsentrasi lainnya. kontrol positif dibuat dari tetrasiklin 0,1 gr dan dilarutkan dengan 3 ml akuades, dan kontrol negatif hanya menggunakan akuades sebanyak 3 ml. Larutan ekstrak yang telah didapatkan, dilarutkan dengan pelarut akuades dengan serial konsentrasi 5%, 8%, 10%, control negatif menggunakan akuades dan kontrol positif menggunakan tetrasiklin 0,01 gr.

Data yang diperoleh berupa diameter zone hambat dari masing-masing perlakuan yang dianalisis secara deskriptif dengan menampilkan tabel dari gambar mengenai penekanan pengaruh dari masing-masing perlakuan terhadap *V.harveyii*. Data diameter zona bening kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis varians (*One-Way ANOVA*) untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara perlakuan dan kontrol. Untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata dengan tingkat kepercayaan 95% (kesalahan yang terjadi hanya 5%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan zat aktif suatu simplisa dengan menggunakan pelarut tertentu. Senyawa metabolit sekunder yang diambil dari daun pegagan (*C.asiatica*) bersifat polar sehingga proses ekstraksi menggunakan pelarut polar (metanol) (Herbone, 1987). Secara umum senyawa aktif yang terkandung didalam daun pegagan (*C.asiatica*) bersifat polar. Setelah melewati proses meserasi, penyaringan dan evaporasi, maka diperoleh simplisa hasil ekstraksi yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel. 1 Simplisa Hasil Ekstrak

Simplisa	Bobot Kering (Gr)	Hasil Ekstrak (Gr)	Rendemen (%)
Daun Pegagan	50	1,6	0,32

2. Komponen Kimia Daun Pegagan (*C.asiatica*)

Pengujian fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder didalam daun pegagan (*C.asiatica*). pengujian senyawa metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif menggunakan pereaksi berwarna kecuali untuk pengujian saponin. Hasil uji fitokimia pada ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Dari Pengujian Fitokimia

No	Parameter yang diuji	Hasil	Indikator (Herbone, 1987)
1	Uji alkaloid	+	Terbentuknya endapan berwarna coklat
2	Uji fenol hidrokuinon	+	Terbentuknya warna hijau atau hijau biru
3	Uji flavonoid	-	-
4	Uji saponin	-	Tidak terdapat busa
5	Uji tanin	+	Perubahan warna menjadi Hijau

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang terdapat pada Tabel 5, uji fitokimia yang pertama yaitu uji alkaloid. Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa golongan alkaloid dengan menggunakan pereaksi warna wagner. Hasil uji alkaloid dari ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) menghasilkan larutan dengan adanya endapan warna coklat pada dasar palet. Hal ini menunjukkan hasil positif untuk golongan alkaloid. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai inter DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou *et al.*, 2005).

Uji fitokimia yang selanjutnya yaitu uji fenol hidrokuinon. Hasil uji fenol dengan menggunakan uji warna menghasilkan larutan warna hijau atau hijau kebiruan, yang menandakan hasil positif. Uji fenol pada penelitian ini menghasilkan warna ekstrak hijau kebiruan hal ini menandakan bahwa ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) mengandung fenol. Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membrane sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel (Volk dan Wheller, 1984).

Uji fitokimia yang selanjutnya yaitu uji tanin. Hasil uji tanin menghasilkan warna hijau, hal ini menandakan bahwa ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) mengandung senyawa tanin. Tanin bekerja dengan mengendapkan protein dan dapat merusak membrane sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Sudira *et al* (2011) menyatakan bahwa senyawa tanin merupakan senyawa organik yang aktif menghambat pertumbuhan mikroba dengan mekanisme merusak dinding sel mikroba dan membentuk ikatan dengan protein fungsional sel mikroba. Mekanisme antibakteri yang dimiliki tanin yaitu kemampuannya menghambat sintesis khitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada jamur dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan jamur terhambat. Tanin juga merupakan senyawa yang aktif menghambat pertumbuhan mikroba dengan mekanisme merusak dinding sel mikroba dan membentuk ikatan dengan protein fungsional sel mikroba.

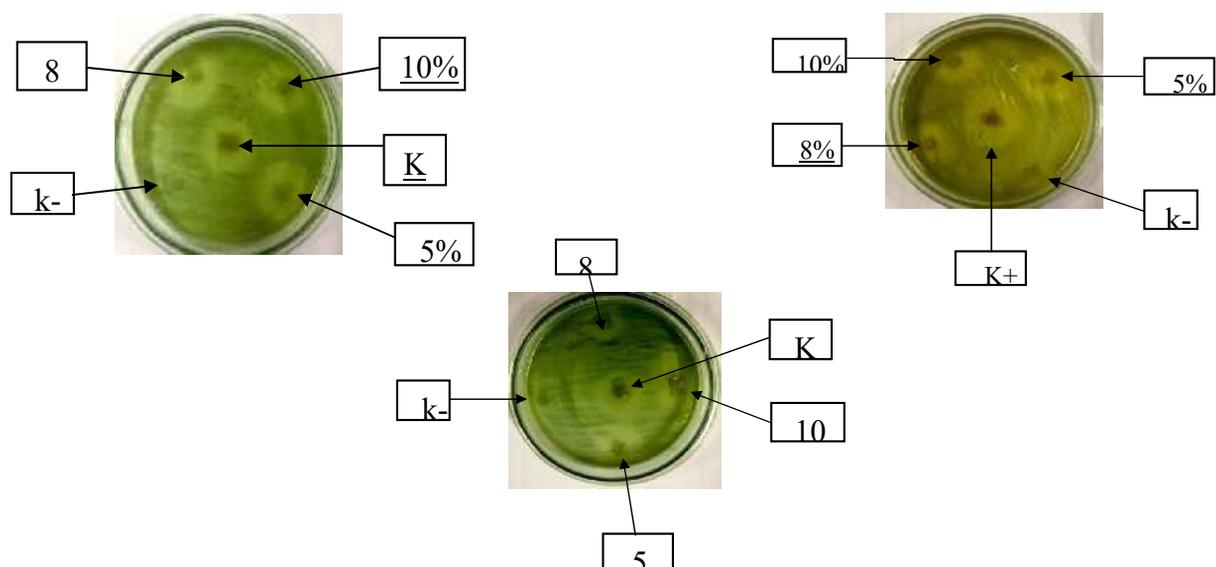
3. Kultur Bakteri *Vibrio harveyii*

Isolat bakteri *V.harveyii* murni diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara (BBPBAP Jepara) diperbanyak menggunakan media padat menggunakan media TSA (*Tryptic Soy Agar*). Hal ini sesuai menurut pernyataan Edigus (1987) bahwa bakteri *V.harveyii* dapat tumbuh di medium TGY (*Tryptone Glucise Yeast*), media BHI (*Broth Heart Infusion*), TSA (*Tryptic Soy Agar*) dan

NA (*Nutrient Agar*). Bakteri *V.harveyii* yang digunakan adalah bakteri yang memiliki umur 24 jam setelah kultur dilakukan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Frazier dan Westhoff (1981) faktor yang mempengaruhi aktivitas mikroba adalah umur dan asal usul isolat bakteri. Perbanyakkan isolat murni *V.harveyii* bisa dilakukan dengan menginokulasi isolat tersebut kedalam tabung reaksi medium agar miring dengan metode gores. Hasil kultur bakteri *V.harveyii* diperoleh isolat bakteri berwarna kuning atau cream yang membuktikan bahwa hasil isolat tersebut adalah bakteri *V.harveyii*. hal ini sesuai dengan pendapat (Ihsan, 2016).

4. Aktivitas Antibakteri

Uji daya hambat antibakteri ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi daya hambat terkecil hingga konsentrasi terbesar. Pengukuran aktivitas antibakteri dengan metode difusi kertas cakram (Kirby *et al.*, 1996). Hasil pengukuran diameter zona hambat dari ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) gambar zona bening yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diameter Zona Hambat Ulangan 1,2 dan 3.

Dapat dilihat pada penelitian ini ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) memiliki daya hambat terhadap bakteri *V.harveyii*. Namun zona bening yang dibentuk oleh ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) tidak melebihi zona hambat yang dibentuk oleh kontrol positif (Tetrasiklin) yaitu sebesar 22,80 mm dan pada kontrol negatif yang menggunakan akuades tidak memberikan zona bening pada pengujian kertas cakram di media TCBS yang ditumbuhi bakteri *V.harveyii*. Tetrasiklin dihasilkan oleh berbagai anggota *Streptomyces* dan merupakan antibiotik penting untuk mengobati infeksi serta salah satu obat dengan spektrum aktivitas yang luas. Tetrasiklin dapat menghambat dan mengganggu subunit 30S ribosom (Tedja Imas Sunatmo, 2012). Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) yaitu konsentrasi 5% = 14,16 mm, konsentrasi 8% = 16,63 mm dan konsentrasi 10% = 21,44. Dari hasil penelitian yang diperoleh pada tiap perlakuan yang diperoleh tidak selalu mengalami peningkatan yang sama seperti yang terlihat pada Gambar 2 di bawah ini. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*).



Gambar 2. Diagram Nilai Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*C.asiatica*)

Menurut (Susanto *et al.*, 2012) persyaratan diameter zona hambat jika lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat, 11 sampai 20 mm dikategorikan kuat, 6 sampai 10 mm dikategorikan sedang dan 5 mm atau kurang dikategorikan lemah. Adapun respon zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Respon Zona Hambat

Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat (mm) Ulangan			Rata-rata	Respon Zona Hambat Menurut Susanto <i>et al.</i> , 2012
	1	2	3		
Kontrol Negatif	0	0	0	0	-
Kontro Positif 0,01%	22	23,4	23	22,80±0,72	Sangat Kuat
5%	17,4	12,2	12,9	14,16±2,82	Kuat
8%	18,2	16,5	15,2	16,63±1,50	Sangat Kuat
10%	20,3	20,8	23,23	21,44±1,57	Sangat Kuat

Zona hambat yang terbentuk meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin luas zona hambat berarti menunjukkan semakin tinggi efektivitas untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan Bakteri *V.harveyii* (Sulisyawati dan Mulyati, 2009). Namun, diameter zona hambat mengalami penurunan pada konsentrasi 5%. Kenaikan zona hambat yang tidak teratur diduga dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan. Disebabkan karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda.

Jawet (2008) menyatakan bahwa pembentukan zona hambat efektivitas antibakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu inkubasi, waktu inkubasi, homogenitas serta kepadatan mikroba. Faktor lain yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat menurut Soemarno (2000), antara lain kekeruhan suspensi bakteri, waktu pengeringan/peresapan kedalam media agar, tebalnya media dan jarak antar. Sedangkan menurut Fardiaz (1989), kemampuan suatu zat antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah sifat-sifat mikroba yang meliputi jenis, konsentrasi, umur dan keadaan mikroba. Beberapa penelitian mengenai aktifitas antibakteri tertentu biasanya dilakukan pengenceran bakteri sampai konsentrasi 10⁵ dan 10⁶. Pernyataan ini juga diperkuat oleh Pelzar dan Chan (1988) bahwa semakin banyak jumlah mikroorganisme yang ada maka makin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya.

Tingginya kerapatan sel ini kemungkinan mempengaruhi kerja zat aktif antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*). Adanya perbedaan besarnya diameter zona hambat yang terbentuk antara bakteri terkait jenis bakteri *V.harveyii* sebagai bakteri gram negatif yaitu karena adanya perbedaan komponen dinding sel antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, sehingga

mempengaruhi kerja ekstrak sebagai antibakteri. *V.harveyii* merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai susunan dinding sel yang lebih kompleks.

Bakteri ini memiliki dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi sekitar 11-22% dan struktur dinding sel yang berlapis tiga (multilayer) yaitu lipoprotein, membrane luar fosfolipid dan lipopolisakarida. Membrane luar fosfolipid dapat mengurangi masuknya zat antibakteri kedalam sel, sehingga dinding bakteri *V.harveyii* lebih sulit ditembus oleh zat antibakteri (Poeloengan *et al.*, 2007). Selaput luar dinding *V.harveyii* mempunyai sifat untuk menolak molekul yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik yang baik namun selaput ini juga mempunyai saluran khusus yang disebut porin, yang memudahkan difusi positif senyawa yang hidrofilik dengan berat molekul yang rendah seperti asam amino serta glukosa. Molekul dengan berat yang besar seperti antibiotik termasuk juga molekul aktif ekstrak akan mengalami kesulitan dalam menembus selaput tersebut (Jawetz *et.al* 2008). Untuk mengetahui efektifitas pemberian ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) pada bakteri *V.harveyii* secara *in vitro* maka dilakukan analisis varians (*One-Way ANOVA*) yang dapat dilihat dalam Tabel 4.

Tabel 4. Analisis Varians Ekstrak Daun Pegagan (*C.asiatica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyii*

SK	JK	DB	KT	Fh	Sig
Perlakuan	992.155	4	248.039	93.931	.000
Galat	26.407	10	2.641		
Total	1018.562	14			

Keterangan : *Berbeda nyata karena f hitung \geq f tabel pada taraf signifikan 0,05; SK = Sumber Keragaman; JK = Jumlah Kuadran; DB = Derajat Bebas; KT = Kuadrat Tengah.

Tabel 4 memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) 5%, 8%, 10% memberikan pengaruh yang nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyii*. Dengan taraf signifikan ($\alpha=0,05$), dengan perolehan Fh 248.039. Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut. Uji lanjut yang digunakan adalah uji BNT (beda nyata terkecil) yang bertujuan untuk melihat mana yang memiliki efek yang sama atau berbeda denganyang lainnya (Simanjuntak, 2008). Uji lanjut BNT dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji lanjut BNT Pada Masing Konsentrasi Ekstrak Daun Pegagan (*C.asiatica*)

konsentrasiekstrak	rata-rata	0	14,16	16.63	21.44	22.80	NilaiBNT
Kontrol Negatif	0	0					4.54
5%	14,16	14,16*					4.54
8%	16.63	16.63*					4.54
10%	21.44	21.44	7,27*	4,81			4.54
Kontrol Positif							
0,01%	22.80	22.80	8,63*	6.16	1.35		4.54

Keterangan : *tanda-tanda menunjukkan adanya perbedaan signifikan padamasing konsentrasi.

Pada konsentrasi 5%, 8% dan 10% menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (adanya aktivitas antibakteri) bila dibandingkan dengan kontrol negatif dengan $p\text{-value} \leq 0,05$. Hasil uji pada kontrol positif (tetrakislin) memberikan diameter zona hambat yang lebih besar jika dibandingkan dengan semua dosis ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) yang diujikan. Hal ini dibuktikan dengan hasil uji BNT pada SPSS menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kontrol positif dengan semua dosis uji dengan konsentrasi 5%, 8% dan 10% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyii* karena memiliki nilai $p\text{-value} \leq 0,05$. Pada konsentrasi 5% menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada semua konsentrasi yaitu 8% dan 10% karna nilai $p\text{-value} \leq 0,05$. Sementara pada konsentrasi 8% dan 10% tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada semua konsentrasi karena nilai $p\text{-value} \geq 0,05$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) antara lain alkaloid, fenol hidrokuinon, dan tanin memiliki potensi menghambat bakteri *V.harveyii* secara *In vitro*. Daya hambat yang terbentuk meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin luas zona hambat berarti menunjukkan semakin tinggi efektivitas untuk membunuh atau menghambat Bakteri *V.harveyii*. Berdasarkan penelitian ini disarankan untuk ada penelitian lanjutan yaitu dengan pengaplikasian ekstrak daun pegagan (*C.asiatica*) terhadap pertumbuhan bakteri *V.harveyii* secara *in vivo*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih di berikan kepada fakultas perikanan dan ilmu kelautan, universitas borneo tarakan yang telah memberikan fasilitas kepada peneliti dalam melaksanakan penelitian. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan yang telah membantu dalam penyediaan Bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Awaludin dan Rahmat 2015. Analisis Kematangan Gonad Induk Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Karamunting (*Melastoma malabathricum*). Tesis. SITH ITB.
- Baticados, M.C.L., F.R. Cruz-Lacierda, M.C. de la Crus, R.C. Duremdes, Fernandez, R. Rgacutan, C.R. Lavilla-Pitogo, and G.D. Lio-Po. 1990. Diseases of penaid shrimp in the Philippines. Aquaculture Extension Manual No. 16 May 1990. SEAFDEC. 46 p.
- Dash BK, Faruquee HM, Biswas SK, Alam MK, Sisir SM. Prodhan UK. Antibacterial and Antifungal Actifities of Severai Extracts of *Centella asiatica* L. Against Some Human Pathogenic Microbes. Life Sciences and Madicine Research. 2011; 2011: LSMR-35.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 1033.
- Lavila-Pitogo, C.R., E.M. Leano, and M.G. Paner. 1998. Aquaculture. 164. Lavila-Pitogo, C.R., E.M. Leano, and M.G. Paner. 1998. Aquaculture. 164. 337-349.
- Harborne, J.B., (1987), *Metode fitokimia*, Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Karou D *et al.* 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *sida acuta*. *African J Biotechnology* 4:1452-1457.
- Volk dan Wheeler. 1984. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid I*. Erlangga. Jakarta.
- Sudira, IW, Merdana, IM & Wibawa, IP, 2011, "Uji daya hambat ekstrak daun kedondong (*Lanneagrandis Engl*) terhadap pertumbuhan bakteri *Erwiia Carotovora*', *Buletin Veteriner Udayana*, vol. 3, no, 1, hal. 45-50.
- Farkas, J. dan Malik, S.E. 1986. *Vibrio Disease of sheatfish (Silurus sp)*. Aquaculture. 24 : 81-88
- Egidius, E. 1987. Vibriosis. Pathogenicity and Pathology. A Review. Aquaculture: 87: 15-28.
- Tedja I,S (2012), Mikrobiologi Esensial.

Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. 1984. Review of Medical Microbiology. Lange Medical Publication. California. 34 : 56-67

Pelezar, M.J., Chan E. C. S., 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Poeloengan, M., Andriani., M.N Susan., I. Komala dan M. Hasnita 2007. *Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (Largerstoremia*