

Patogenitas dan Pengendalian Infeksi *Vibrio* sp pada Udang Vaname Menggunakan Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth)

Pathogenicity and Control of Vibrio sp Infection in Vaname Shrimp (Litopenaeus vannamei) Using Miana Leaf Extract (Coleus scutellarioides (L) Benth)

Buana Basir^{1*}, Halimah¹, Kariyanti¹

¹Institut Teknologi dan Bisnis Maritim Balik Diwa

*Email: dina.buana7475@gmail.com

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima

Februari 2023

Disetujui

Maret 2023

Didipublikasikan

April 2023

Keywords:

miana leaves; extraction; vannamei shrimp; disease; Vibrio alginolyticus

Abstrak

Penyakit merupakan kendala utama dalam budidaya ikan dan dapat menimbulkan kematian yang relatif tinggi. Salah satu jenis penyakit yang menyebabkan kematian massal pada budidaya udang yaitu vibriosis. Penanggulangan penyakit yang selama ini telah dilakukan melalui penggunaan antibiotik, tetapi hal tersebut berdampak pada resistensi dan residu yang terjadi pada udang. Oleh karena itu diperlukan alternatif obat yang bersifat alami yang mengurangi resiko tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas daun miana dalam mengobati infeksi penyakit *Vibrio* sp pada udang vaname. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-Juli 2020 yang bertempat di Laboratorium Htchery Universitas Hasanuddin, Persiapan bakteri dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan BPBAP Takalar. Metode penelitian dirancang menggunakan 3 perlakuan dan 3 ulangan, dengan konsentrasi ekstrak daun miana yang digunakan, yaitu 1000 µg/mL. Udang dipapar *V. alginolyticus*. dengan kepadatan bakteri 10³, 10⁵, dan 10⁷ CFU/mL. Data dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan kondisi udang yang sehat dan sakit karena infeksi *V. alginolyticus* Hasil penelitian menunjukkan bahwa udang yang sakit karena infeksi *V. alginolyticus* mengalami pemulihan setelah udang direndam dengan ekstrak daun miana selama empat kali perendaman dengan waktu sekali perendaman 10 menit. Kesimpulan bahwa penggunaan ekstrak daun miana dapat menjadi alternatif pengobatan udang yang terinfeksi *V. alginolyticus*.

Abstract

Disease is the main obstacle because it can cause relatively high mortality. One type of disease that can cause mass death in shrimp is vibriosis. Disease control has been carried out by cultivators using antibiotics. However, this has an impact on resistance and residue in shrimp. Therefore, alternative medicines are needed which are natural in nature which are more environmentally friendly. This study aims to determine the performance of miana lam leaves in treating Vibrio sp disease infection in vannamei shrimp. This research was conducted in June-July 2020 which took place at the Hasanuddin University Animal Husbandry Laboratory. Bacterial preparations were carried out at the Fish Health and Environmental Laboratory of BPBAP (Brackish Water Aquaculture Center) Takalar. The research method was designed using 3 treatments and 3 repetitions with a concentration of miana leaf extract of 1000 µg/mL. Shrimp exposed to V. alginolyticus. with bacterial densities of 10³, 10⁵, and 10⁷ CFU/mL. Data were analyzed descriptively by comparing the conditions of healthy and diseased shrimp. The results showed that the shrimp infected with V. alginolyticus recovered after soaking the shrimp with miana leaf extract for four times. The conclusion that the use of miana leaf extract can be an alternative shrimp treatment that cures V. alginolyticus.

PENDAHULUAN

Udang vaname merupakan salah satu jenis udang yang berkontribusi penting pada sektor budidaya perikanan di Indonesia. Udang vaname merupakan salah satu komoditas unggulan yang bernilai ekonomis dengan produktivitas yang tinggi secara nasional (Fendjalang, 2016). Produksi udang vaname berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan tahun 2016 sebesar 498.174 ton, dan pada tahun 2017 meningkat pesat menjadi 757.793 ton. Produksi udang vaname pada tahun 2018 mengalami sedikit penurunan menjadi 717.094 ton (KKP, 2018).

Produksi usaha pengembangan budidaya udang yang menurun dapat disebabkan oleh beberapa masalah yang terjadi pada saat budidaya. Salah satu kendala budidaya yang banyak terjadi yaitu serangan penyakit yang dapat menimbulkan kematian relatif tinggi, bahkan dapat menyebabkan gagal panen. Vibriosis merupakan penyakit yang umumnya banyak dijumpai menyerang udang budidaya, dan dapat menyebabkan kematian massal dalam waktu singkat. Penyakit vibriosis dapat disebabkan oleh bakteri *Vibrio* seperti *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. penaeicida* (Asplund, 2013).

Pengendalian vibriosis melalui pengobatan telah dilakukan oleh para pembudidaya udang dengan menggunakan antibiotik. Antibiotik diberikan melalui pakan, perendaman, ataupun penyuntikan. Tetapi tindakan tersebut dapat menimbulkan residu dan dapat pula menyebabkan bakteri penyakit resisten terhadap antibiotik (Maryono dan Sundana, 2002). Oleh karena itu diperlukan alternatif penggunaan obat dari bahan alami yang dapat menggantikan peran antibiotik terhadap bakteri pathogen. Salah satu bahan alami yang mengandung senyawa aktif antibakteri yaitu daun miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth).

Daun miana telah diketahui mengandung saponin dan alkaloid, sebagai hasil metabolit sekunder. Diketahui beberapa jenis saponin memiliki sifat antibiotik dan berfungsi sebagai antifungi dan antimikroba. Demikian pula alkaloid, diketahui mampu mengganggu proses pembentukan jembatan silang yang menyusun peptidoglikan sel bakteri. Hal tersebut dapat menyebabkan tidak terbentuknya dinding sel bakteri secara utuh, sehingga sel bakteri menjadi mati (Robinson, 1995).

Penggunaan bahan alami untuk menangani penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. alginolyticus* telah dilakukan oleh beberapa peneliti, diantaranya Ayuni (2014) tentang efek antibakteri ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* (A) Juss) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* secara *in vitro*. Sifat antibakteri dari daun *Tephrosia vogelli* terhadap Vibriosis (*V. harveyi* dan *V. alginolyticus*) (Bachtiar *et al.*, 2019) dan aktivitas antibakteri ekstrak daun buah adas (*Foeniculum vulgare*, Mill) pada *V. harveyi* dan *V. alginolyticus* (Budianto *et al.*, 2015). Penelitian terkait penggunaan ekstrak daun miana didalam mengatasi penyakit vibriosis belum ditemukan. Oleh karena itu, penelitian ini dianggap penting untuk dilaksanakan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas daun miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) dalam mengobati infeksi penyakit *Vibrio* sp pada udang vaname.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu; udang vaname, daun miana, Etanol 96%, n-Heksan, Chloroform, Bakteri *V. alginolyticus*, etanol 70%, bacto agar, pepton, yeast, Mueller Hinton Broth (MHB).

Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan dengan konsentrasi perendaman ekstrak daun miana sebesar 1000 µg/mL. Udang vaname dipapar menggunakan bakteri *V. alginolyticus* dengan kepadatan berbeda yaitu, (A) 10³ CFU/mL (B) 10⁵ CFU/mL, dan (C) 10⁷ CFU/mL

Persiapan Media, Wadah dan Hewan Uji

Wadah yang digunakan adalah akuarium kaca sebanyak 15 buah yang diisi air laut sebanyak 120 L. Air laut yang digunakan telah melalui penyaringan, sterilisasi dengan klorin, dan dinetralkan menggunakan Na-thiosulfat. Kualitas air diukur dan disesuaikan dengan standar baku pemeliharaan udang vaname. Pergantian air dilakukan setiap hari setelah penyiponan.

Hewan uji dalam penelitian ini adalah udang vaname sebanyak 90 ekor yang berukuran ± 7 cm dengan bobot ± 5 gram diperoleh dari BPBAP Takalar. Udang terlebih dahulu diaklimatisasi pada media pemeliharaan selama tiga hari dengan pemberian pakan komersil 3 kali sehari secara ad libitum. Setelah udang bergerak aktif maka sudah siap untuk digunakan.

Persiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan yaitu *Vibrio alginolyticus* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan BPBAP (Balai Perikanan Budidaya Air Payau) Takalar. Persiapan bakteri uji dimulai dengan persiapan alat dan bahan yang telah disterilisasi. Isolat bakteri *Vibrio alginolyticus* yang diremajakan, ditanam pada media TCBSA kemudian diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Kultur bakteri *V. alginolyticus* berwarna kuning pada media TCBSA. Selanjutnya inoculum bakteri diambil sebanyak ± 3 koloni ditanam pada media cair TSB 2% NaCl, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Inokulum bakteri pada media TSB dihitung kepadatannya dengan menggunakan haemocytometer dan konsentrasi yang diperoleh yaitu 10^3 CFU/mL. Bakteri kemudian disub kultur sesuai dengan perlakuan percobaan yaitu, konsentrasi 10^3 , 10^5 , dan 10^7 CFU/mL.

Ekstraksi

Persiapan ekstraksi dengan membersihkan daun miana dari kotoran menggunakan air hingga bersih. Daun miana lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 80°C hingga kering air. Daun miana digiling dengan mesin hingga menjadi tepung dan diayak. Pembuatan ekstrak daun miana dilakukan dengan metode maserasi. Tepung daun miana direndam menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:5 (b/v). Dilakukan pengadukan ± 15 menit, dan disimpan selama 1×24 jam dalam keadaan tertutup. Sampel disaring dengan kertas Miliopoere $0,45 \mu\text{m}$ dan fitrat disimpan dalam erlenmeyer. Selanjutnya endapan yang dihasilkan dicampur kembali dengan etanol 96%. Perendaman dilakukan sebanyak 3 kali sampai menghasilkan fitrat ke tiga. Fitrat digabungkan dan diuapkan sampe kering. Ekstrak yang dihasilkan disimpan pada tabung tertutup pada suhu ruang dan tidak lembab.

Penyuntikan Bakteri

Kondisi bakteri harus dipastikan sehat sebelum infeksi bakteri dilakukan. Injeksi Bakteri *V. alginolyticus* dilakukan secara intramuscular pada abdomen segmen ketiga (Chau *et al.*, 2011) dengan dosis 0,1 mL/udang uji menggunakan spuit 1 mL. Setelah diinfeksi, udang ditempatkan kembali ke wadah semula dengan terus menerus melakukan monitoring terhadap kondisi udang. Dilakukan pengamatan dan pendataan terhadap kondisi dan gejala klinis yang timbul akibat infeksi vibrio.

Perendaman Ekstrak Daun Miana

Perendaman ekstrak daun miana dilakukan setelah udang menunjukkan gejala sakit pasca infeksi bakteri *V. alginolyticus*. Perendaman dilakukan dengan memindahkan udang yang sakit ke dalam toples kaca yang sudah terisi dengan larutan ekstrak daun miana. Perendaman dilakukan selama 4 hari, dengan lama

perendaman 10 menit per hari. Setelah perendaman udang dikembalikan ke wadah pemeliharaan semula. Selanjutnya dilakukan pengamatan selama 7 hari sejak perendaman pertama. Kemudian pencatatan data dilakukan terhadap kondisi dan respon tingkah laku udang.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis secara deskriptif berdasarkan kondisi morfologi dan tingkah laku udang, dengan membandingkan antara kondisi udang yang sehat dan udang yang terinfeksi *V. alginolyticus* serta kondisi setelah pengobatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Udang Pasca Infeksi Bakteri *V. alginolyticus*

Kondisi morfologi udang vaname sebelum dan setelah penyuntikan bakteri *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Gambar 1. Kondisi tubuh udang sebelum penyuntikan ditandai dengan warna abu-abu segar dan sedikit kecoklatan, usus terisi penuh dan karapas tidak keropos. Setelah infeksi *Vibrio*, tubuh udang memerah, kaki renang dan kaki jalan memerah, dan hepatopankreas terlihat tidak utuh karena mengalami kerusakan pada lapisan luar (membran) yang membungkus (Gambar 2). Kondisi tersebut diduga merupakan perubahan morfologi tubuh akibat infeksi *V. alginolyticus*. Kondisi serupa telah dilaporkan oleh Jayasree *et al.* (2006) bahwa udang yang terserang *vibrio* memperlihatkan adanya nekrosis pada ekor, perubahan warna pada tubuh dan hepatopankreas yang semula berwarna hijau menjadi berwarna coklat bahkan ada yang menghitam.



Gambar 1. Kondisi Udang Sehat (A) dan Udang Sakit (B) Terinfeksi *V. alginolyticus*

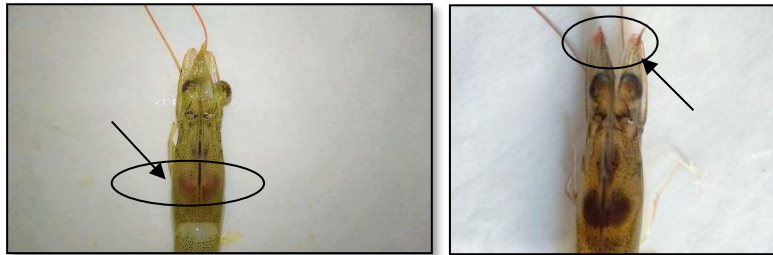


Gambar 2. Kondisi Hepatopankreas Udang yang Terinfeksi *Vibrio* sp. (A) dan Hepatopankreas Udang Sehat (B) setelah 24 jam infeksi

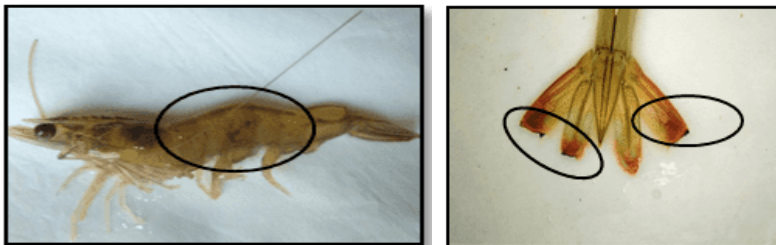
Kondisi tubuh pasca infeksi *V. alginolyticus* pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2, Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 2. Kondisi udang pasca infeksi *V. alginolyticus* kepadatan 10^3 CFU/mL



Gambar 3. Kondisi udang pasca infeksi *V. alginolyticus* kepadatan 10^5 CFU/mL



Gambar 4. Kondisi udang pasca infeksi *V. alginolyticus* kepadatan 10^7 CFU/mL

Berdasarkan hasil pengamatan kondisi tubuh pasca infeksi *V. alginolyticus* dengan kepadatan bakteri 10^3 CFU/mL, 10^5 CFU/mL, dan 10^7 CFU/mL, terlihat perubahan kondisi tubuh udang terjadi pada menit ke 45 pasca penyuntikan. Gambar 2 menunjukkan kondisi periopod dan pleiopod udang memerah, tubuh udang memerah, hepatopankreas memerah, dan pergerakan udang lemah. Kondisi tubuh udang yang memerah menurut Desrina (2006), dipicu oleh infeksi bakteri yang menyebabkan terjadinya infiltrasi sel radang yang meluas pada lapisan epidermis. Perubahan ini juga dapat terjadi sebagai akibat udang mengalami stress karena adanya infeksi bakteri patogen (Sardjito, 2012; Sardjito 2017). Udang yang terindikasi adanya bakteri vibrio mengalami perubahan morfologi, seperti pereopoda, pleopoda dan uropoda berwarna kemerahan.

Pada Gambar 3 dan 4 dapat dilihat antenulla memerah, hepatopancreas memerah, perubahan tingkah laku udang berenang miring, terjadi melanosis pada kulit bagian abdomen, serta terjadi nekrosis pada uropoda. Tingkah laku udang berenang miring dan mendekati aerasi. Kondisi tersebut terjadi menurut Austin dan Austin (2007) merupakan indikasi gejala klinis pada udang yang terinfeksi bakteri genus vibrio. Melanosis yang terjadi pada abdomen disebabkan oleh enzim polifenoloksidae yang mengoksidasi fenol menjadi quinon. Polimerisasi quinon menyebabkan munculnya pigmen hitam yang menimbulkan warna kehitaman pada udang. Tingkah laku udang vaname yang terinfeksi bakteri *V. alginolyticus* juga ditandai dengan pergerakan yang tidak beraturan, berenang miring, dan memutar (Montero *et al*, 2004).

Kondisi Udang Pasca Perendaman Ekstrak Daun Miana

Hasil pengamatan kondisi tubuh pasca perendaman ekstrak daun miana yaitu, terlihat pada perendaman pertama belum menunjukkan adanya perubahan

kondisi tubuh pada perlakuan A, B dan C. Tetapi setelah perendaman kedua pada hari ke-8, perlakuan A sudah menampakkan perubahan warna tubuh kembali normal sebagaimana warna tubuh sebelum terinfeksi *V. alginolyticus*. Kondisi hepatopankreas juga mengalami perubahan warna kembali normal seperti semula sebelum infeksi. Namun pergerakan masih lemah dan tingkah laku belum normal. Perlakuan B dan C pasca perendaman kedua, warna tubuh belum menunjukkan pemulihan, tetapi pleopoda dan periopoda tidak lagi memerah. Perendaman ketiga atau hari ke-12 pada perlakuan A tidak lagi ditemukan gejala klinis atau dengan kata lain udang sudah kembali normal, baik kondisi tubuh maupun tingkah laku. perlakuan B dan C mengalami pemulihan (*recovery*) warna tubuh. Kondisi pada perendaman keempat atau hari ke-16 pada perlakuan A, B dan C, udang kembali normal dan tidak lagi ditemukan gejala klinis.

Kondisi tubuh kembali normal pada perlakuan A, B dan C dapat dilihat pada Gambar 5, Gambar 6 dan Gambar 7.



Gambar 5. Kondisi udang pasca perendaman ekstrak daun miana pada kepadatan bakteri 10^3 CFU/mL.



Gambar 6. Kondisi udang pasca perendaman ekstrak daun miana pada kepadatan bakteri 10^5 CFU/mL.



Gambar 7. Kondisi udang pasca perendaman ekstrak daun miana pada kepadatan bakteri 10^7 CFU/mL.

Pemulihan kondisi tubuh pasca perendaman ekstrak daun miana pada udang diduga karena adanya senyawa bioaktif yang terkandung pada daun miana yang mampu mengobati kondisi tubuh udang akibat infeksi *V. alginolyticus*. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun miana berupa saponin, tannin, flavonoid, steroid dan alkaloid yang melakukan fungsi kerjanya dan berperan sebagai antibakteri. Senyawa aktif saponin diketahui dapat menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terhambat (Mufti *et al.*, 2017; Anita *et al.*, 2019), dengan mekanisme kerja saponin yaitu meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran menjadi tidak stabil dan berakibat pada hemolisis sel (Dewi *et al.*, 2015). Saponin menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri sehingga bakteri

akan mengalami lisis dan pecah (Madduluri *et al.*, 2013; Poeloengan dan Pratiwi, 2012).

Steroid dan flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Madduluri *et al.*, 2013; Anita *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa spektrum penghambatan tergantung pada jenis dan kekuatan senyawa antibakteri dari masing-masing komponen yang terekstrak serta jumlah komponen aktif yang terekstrak oleh pelarut yang digunakan. Steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitifitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada lisosom bakteri, sehingga integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah dan menyebabkan sel bakteri rapuh dan lisis (Ji *et al.*, 2012)

Senyawa flavonoid bersifat antibakteri melalui 3 mekanisme, yaitu: menghambat sintesis protein, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Sabir, 2005).

Kandungan tanin pada ekstrak mempunyai kemampuan menonaktifkan adhesin bakteri, menghambat kerja enzim, menghambat transport protein pada selubung sel bakteri (Cowan, 1999). Menurut Akiyama *et al* (2001) dan Chung *et al* (2006) tanin sebagai bahan antibakteri antara lain dapat merusak membran sel bakteri dengan mengganggu proses sintesa mukopeptida dan berikatan dengan peptidoglikan dinding sel bakteri sehingga pembentukan sel baru akan terganggu. Bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi. Ikatan antara tanin dan besi akan menyebabkan terganggunya fungsi bakteri.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada pengobatan penyakit infeksi *V. alginolitycus* dapat dikatakan efektif diduga karena konsentrasi ekstrak yang digunakan merupakan konsentrasi yang efektif untuk menghambat atau membunuh bakteri. Konsentrasi tersebut juga dianggap aman bagi tubuh udang untuk melakukan pemulihan pasca infeksi *V. alginolitycus*. Menurut Basir *et al* (2020) bahwa konsentrasi ekstrak daun miana (*Coleus scullaturoides* (L) Benth) yang aman digunakan untuk pencegahan ataupun pengobatan pada udang vaname yang terpapar *Vibrio* sp. yaitu pada konsentrasi di bawah 1250 µg/mL. Karena menurut Basir *et al* (2020) yang menguji tingkat mortalitas artemia dengan berbagai konsentrasi mendapatkan hasil bahwa perendaman ekstrak daun miana pada konsentrasi 2500 µg/mL menimbulkan kematian mencapai 40%. Sementara pada konsentrasi 1250 µg/mL, mortalitas dengan perendaman ekstrak daun miana 31%. Sehingga kondisi yang dianggap aman untuk pengobatan penyakit vibriosis pada udang yaitu konsentrasi 1000 µg/mL.

KESIMPULAN

Penggunaan ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) sebagai obat melalui perendaman efektif terhadap pemulihan kondisi tubuh udang vaname yang terinfeksi *Vibrio alginolyticus*.

DAFTAR PUSTAKA

Anita, Arisanti D dan Fatmawati. 2018. Potensi Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*) sebagai Senyawa Anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37rv dan Mdr dengan Microscopy Observation Drug Susceptibility (Mods). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 9(18): 61-73.

- Ayini U, Harnina S B dan Dewi T C. 2014. Efek Antibakteri Daun Mimba (*Azadirachta indica* (A) Juss) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* secara *In Vitro*. *Journal of Biology & Biology Education*. 6(1):9-14.
- Bachtiar E, Syah Y M, Juliawaty L D. 2019. Sifat Antibakteri Daun *Tephrosia vogelii* terhadap Vibriosis. *Jurnal al-Kimia*. 6(1) 68-74.
- Basir B., Isnansetyo A., Iatiqomah I., dan Jabbar F. B. A. (2020). Toksisitas Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) sebagai Antibakteri pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *SIGANUS: Journal of Fisheries and Marine Science* Vol 2. No. 1; 56-61.
- Budianto, Prajitno A dan Yuniarti A. 2015. Aktivitas antibakteri Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare*, Mill) pada *Vibrio harveyi* dan *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Agritech*. 35(3):266-272.
- Cowan M M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*.12(4):564-582.
- Dewi Z Y, Nur A dan Hertriani T. 2015. Efek Antibakteri dan Penghambatan Biofilm Ekstrak Serah (*Cymbopogon nardus* L) terhadap Bakteri *Streptococcus muntans*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 1(2):136-141
- Desrina, A. Taslihan, Ambarianto, S. Susiani. 2006. Uji Keganasan Bakteri *Vibrio* sp pada KerapuMacan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *J. Ilmu Kelautan UNIP*: 11(3): 119-125.
- Fendjalang, SNM, Budiardi, Supriyono, E., Effendi, I., 2016. Production of White Shrimp *Litopenaeus vannamei* in Floating Cage System With Different Stocking Density at Thousand Island Strait. *J. 8* (1): 201-214
- Jayasree, L., P. Janakiram. and R. Madhavi. 2006. *Characterization of Vibrio spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh (India)*. *Journal of the World Aquaculture Society*, Volume 37 Issue 4 Page 523
- Ji Y S, Lestari N D dan Rinanda T. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 12(1):31-36.
- Kementerian Kelautan dan perikanan, 2018. Budidaya Udang Masih Sangat Potensial. (Online). (<https://kkp.go.id/djpb/artkel/8688-kkp-budidaya-udang-masih-sangat-potensial>, diakses tanggal 20 juli 2020).
- Madduliri. S, Rao K B and Sitaram B. 2013. *In Vitro* Evaluation of Five Indegenous Plants Extract Againts Five Bacterial Phatogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Phrmaceutical Science*. 5(4): 679-684
- Maryono dan A. Sundana. 2002. Teknik Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Bercak Merah Pada Ikan Air Tawar yang Disebabkan Oleh Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Buletin Teknik Pertanian*. 7(1): 33-36
- Resti M, 2019. Uji *In Vitro* Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*.
- Robinsom T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit: ITB. Bandung.
- Sabir A. 2005. Aktivitas Antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (*In Vitro*). *Dental Journal*. 38(3): 135-141.
- Sarjito, Nigrum, N.E.W., Radjasa, O.K., dan Prayitno, S.B., 2012. Appication of Repetitive Sequence Base PCR on The Richness of *Vibrio* on The Tiger Shrimps (*Penaeus monodon* F.). *Jurnal of Coasral Development*, 15 (3) : 304- 310.