

Sensitivity of Mangosteen Rind (*Garcinia mangostana* L.) Solution Toward *Aeromonas hydrophila*

By

Dian Fitria M¹⁾, Iesje Lukistyowati²⁾, Henni Syawal²⁾

ABSTRACT

Research was conducted from September to October 2014, at the labory Examination of Fish Disease, Fisheries and Marine Sciences Faculty of Riau University. The Purpose of this study was to determine the sensitivity of mangosteen rind (*G. mangostana* L.) as antimicrobial to *A. hydrophila*, the range of *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) and the lethal dose (LD₅₀) mangosteen rind (*G. mangostana* L.) solution against to catfish (*Clarias gariepinus*) (10-13 cm) by immersion. The research method used doses 10 % (19 g/L), 20 % (38 g/L), 30 % (57 g/L), 40 % (76 g/L), 50 % (95 g/L), 60 % (114 g/L), 70 % (133 g/L), 80 % (152 g/L), 90 % (171g/L), 100 % (190 g/L). The results showed that mangosteen rind was effectively to inhibit the growth of bacterial *A. hydrophila* at a dose of 50 % (95 g/L) inhibitory zone of 13,65 mm, with the number of *A. hydrophila* colonies in TSA medium dose 50 % (95 g/L) is $30,6 \times 10^8$ cfu/mL. LD₅₀ test was obtained in the dose mangosteen rind 4, 43 g/L.

Key words : *Garcinia mangostana* L., *Aeromonas hydrophila*, antimicrobial, lethal dose

¹⁾Student of the Fisheries and Marine Sciences Faculty of the Riau University

²⁾Lecture of the Fisheries and Marine Sciences Faculty of the Riau University

PENDAHULUAN

Penanganan terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* telah banyak menggunakan berbagai jenis sediaan alam (fitofarmaka) sebagai bahan alternatif untuk mencegah ataupun mengobati penyakit ikan. Berbagai jenis fitofarmaka dapat digunakan untuk mengatasi penyakit ikan, karena bahan alami ini merupakan bahan yang mudah terurai serta aman dan tidak menimbulkan residu di dalam tubuh ikan sehingga ramah lingkungan (Abidin, 2008).

Salah satu jenis fitofarmaka yang belum banyak dimanfaatkan

dalam kegiatan budi daya perikanan khususnya dalam mengatasi penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri adalah buah manggis (Nugroho, 2014). Padahal kulit buah manggis mengandung senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil skrining fitokimia terhadap kulit buah manggis Poeloengan dan Praptiwi (2010) yang telah dilakukan menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, dan triterpenoid.

Berdasarkan penjelasan di atas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang Sensitivitas Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*

L.) terhadap Pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan juga mengamati LD₅₀ guna mengetahui apakah kulit buah manggis aman dan dapat diberikan pada ikan, baik digunakan untuk pencegahan maupun untuk pengobatan.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan untuk mengetahui sensitivitas kulit buah manggis terhadap bakteri *A. hydrophila* adalah berdasarkan hasil uji pendahuluan. Metode cakram KIRBY-BAEUR untuk uji sensitivitas. Rancangan penelitian yang digunakan dalam uji sensitivitas adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 11 taraf perlakuan dengan tiga kali ulangan: P₀ : novobiocin (kontrol), P₁ : Pemberian larutan kulit buah manggis 10 % (19 g/L), P₂ : 20 % (38 g/L), P₃ : 30 % (57 g/L), P₄ : 40 % (76 g/L), P₅ : 50 % (95 g/L), P₆ : 60 % (114 g/L), P₇ : 70 % (133 g/L), P₈ : 80 % (152 g/L), P₉ : 90 % (171 g/L), dan P₁₀ : 100 % (190 g/L). Uji MIC menggunakan metode pour plate / metode sebar dengan 3 taraf perlakuan 3 kali ulangan: yaitu P₁ : Pemberian larutan kulit buah manggis 30 % (57 g/L), P₂ : 76 g/L (40 %) dan P₃ : 50 % (95 g/L). Sedangkan untuk uji toksisitas LD₅₀ menggunakan metode Reed dan Muench (1938) dalam Harmita dan Radji (2008).

Pembuatan media tumbuh bakteri

Media tumbuh untuk mendapatkan bakteri *Aeromonas hydrophila* digunakan media selektif GSP (*Pseudomonas-Aeromonas Selektive Agar*), untuk memurnikan bakteri *Aeromonas hydrophila*

digunakan media TSA (*Tryptic Soya Agar*) dan media cair TSB (*Tryptic Soya Broth*). Sedangkan untuk uji biokimia digunakan media SIM (*Sulfide Indol Motility*), O/F (*Oksidatif Fermentatif*) dan TSIA (*Triple Sugar Iron agar*). 45 g/L GSP, 40 g/L TSA, 30 g/L TSB, SIM 30 g/L, O/F 11 g/L dan TSIA 65 g/L yang masing-masing media dilarutkan dalam 1 liter aquades.

Penyediaan isolat *A. hydrophila*

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian berasal dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.

Pembuatan Larutan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Sampel buah manggis yang telah dikumpulkan disterilkan menggunakan larutan alkohol 90% dengan cara merendam kain katun dengan alkohol lalu dikering anginkan, kemudian kulit buah manggis dibersihkan dengan kain katun yang sudah steril tersebut. Selanjutnya kulit buah manggis dipotong-potong menjadi beberapa bagian yang dimasukkan ke dalam mesin juicer. Kulit manggis yang telah di blender ditimbang seberat 9,5 g ditambah 50 mL aquades (setara dengan 190 g/L) lalu dilakukan penggerusan dengan menggunakan lumpang dan alu. Lalu disaring dengan menggunakan kain katun steril. Hasil tersebut merupakan larutan stock yang dianggap 100 %.

Uji Sensitivitas Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap *Aeromonas hydrophila*

Pengamatan zona terang atau zona hambat dengan menggunakan metode cakram KIRBY-BAEUR dengan disk blank yang berdiameter 6 mm. Tahap awal media TSA padat yang telah diberi inokulasi bakteri *Aeromonas hydrophila* sebanyak 100 μ L yang disebarkan secara merata dengan menggunakan *Spreader glass*. Disk blank diberi larutan kulit buah manggis sebanyak 50 μ L dengan menggunakan mikropipet sesuai dosis yang ditentukan dari larutan stock. Kemudian masing-masing disk blank tersebut di letakkan pada media TSA yang telah diberi inokulum *A. hydrophila*. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 28°C. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan zona terang atau zona hambat yaitu dengan mengukur besarnya zona hambat yang terbentuk dari batas pinggiran yang tidak ditumbuhi oleh bakteri dengan menggunakan jangka sorong.

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Dosis terkecil dimasukkan sebanyak 50 μ L larutan kulit buah manggis dengan dosis 57 g/L (30 %), 76 g/L (40 %) dan 95 g/L serta inokulasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dimasukkan ke dalam masing-masing tabung sebanyak 100 μ L dari stok $\pm 10^8$ cfu/ml setelah itu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 27°C. Untuk memperjelas jumlah koloni pada setiap perlakuan dilakukan perhitungan kepadatan bakteri dilakukan dengan cara mengambil larutan TSB yang

telah dikultur bakteri *Aeromonas hydrophila* selama 24 jam diinkubasi dalam inkubator pada suhu 27°C. Tanpa dilakukan pengenceran bakteri, bakteri dihomogenkan dengan vortex diambil sebanyak 50 μ L dengan mikropipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung efendrop yang berisikan larutan kulit buah manggis dengan 57 g/L (30 %), 76 g/L (40 %) dan 95 g/L (50 %). Kemudian diisolasi dengan metode pour plate / metode sebar kedalam cawan petri yang telah berisi media TSA padat sebanyak 100 μ L dengan cara meratakan menggunakan *spreader glass* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 27°C selama 24 jam. Pertumbuhan koloni bakteri diamati dan selanjutnya dilakukan penghitungan dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri. Perhitungan jumlah bakteri yang hidup dihitung dengan menggunakan rumus colony forming units (CFU) (Harmita dan Radji, 2008):

$$\frac{\text{Jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Volume inokulasi}}$$

Uji Toksisitas LD₅₀ Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Uji toksisitas LD₅₀ diawali dengan mempersiapkan ikan uji berupa ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang berukuran 10 cm - 13 cm sebanyak 5 ekor per toples. Toples yang digunakan bervolume 5 L dicampurkan larutan kulit buah manggis. Ikan uji dimasukkan ke dalam toples untuk diamati tingkah laku dan kematian ikan mencapai 50 %. Data yang didapatkan ditabulasikan dalam pengujian tersebut akan

ditentukan LD₅₀ dengan perhitungan metode Reed dan Muench (1938) dalam Harmita dan Radji (2008). sehingga diketahui dosis toksik 50% pada populasi ikan uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang diisolasi pada media GSP yang awalnya media berwarna merah berubah menjadi kuning,. Hal ini sesuai dengan Merk (1994) yang juga mengatakan akan terjadi perubahan warna media GSP yang awal media berwarna merah kemudian menjadi kuning merupakan bakteri *A. hydrophila*. Kemudian dilakuakn pemurnian bakteri pada media TSA, setelah murni maka dilakukan uji identifikasi bakteri. Secara lebih jelas dapat dilihat pada Tabel 1.

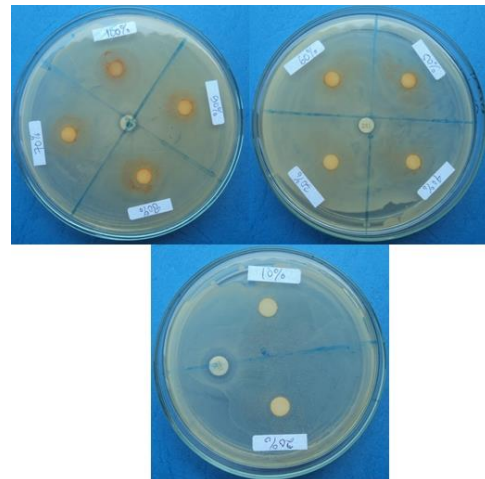
Table 1. Hasil Identifikasi Bakteri *A. hydrophila* (Austin dan Austi, 2007)

Karakteristik	Hasil uji
Bentuk koloni	Bulat
Elevasi koloni	Cembung
Tepi koloni	Licin
Warna media TSA	Krem
Pewarnaan gram	-
Motilitas	+
O/F	F
TSIA	K/K, Gas
Novobiocin	-
Katalase	+
Oksidase	+

Keterangan : O/F bersifat fermentative; TSIA Alkali/Alkali terdapat gas; Novobiocin tidak sensitive

Hasil Uji Sensitivitas Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap *Aeromonas hydrophila*

Sensitivitas kulit buah manggis terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* berdasarkan hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa kulit buah manggis mempunyai sifat antibakteri terhadap *A. hydrophila*. Hal ini dapat dilihat dari masing-masing zona hambat yang terbentuk. Hasil uji sensitivitas kulit buah manggis terhadap *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Hasil Sensitivitas Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Hasil uji ANOVA terhadap zona hambat bakteri *A. hydrophila* yang diberi larutan kulit buah manggis diperoleh nilai P (0,00) < 0,05. Hal ini bahwa nilai seluruh variansi yang dianalisis sangat berbeda nyata antara setiap perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian larutan kulit buah manggis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

Tabel 2. Hasil Uji Sensitivitas Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap *Aeromonas hydrophila*)

Perlakuan	Zona Hambat (mm)			Rata-rata $\pm$ SD
	I	II	III	
P ₀	1	1	2	
P ₁	0,5	1,05	0,5	0,68 $\pm$ 0,31 ^a
P ₂	4,25	3,35	4	3,86 $\pm$ 0,46 ^b
P ₃	10,5	9,75	7,25	9,16 $\pm$ 1,70 ^c
P ₄	12,3	11,25	8	10,51 $\pm$ 2,24 ^c
P ₅	13,7	16,75	10,5	13,65 $\pm$ 3,12 ^d
P ₆	14,5	15,25	13,75	14,50 $\pm$ 0,75 ^d
P ₇	18,3	17,25	16	17,18 $\pm$ 1,15 ^{de}
P ₈	18,5	19,75	16,5	18,25 $\pm$ 1,63 ^e
P ₉	20	21,25	17,25	19,5 $\pm$ 2,04 ^e
P ₁₀	24,5	22,25	21,25	22,66 $\pm$ 1,66 ^f

Keterangan : Huruf pada superskrib yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata (P 0,00 < 0,05). 10 % (19 g/L), 20 % (38 g/L), 30 % (57 g/L), 40 % (76 g/L), 50 % (95 g/L), 60 % (114 g/L), 70 % (133 g/L), 80 % (152 g/L), 90 % (171 g/L), 100 % (190 g/L)

Berdasarkan hasil uji Newmans-Keuls dapat diketahui bahwa P₅ (50 %) berbeda nyata dengan P₄ (40 %). Hal ini dapat dilihat dari superskrib yang berbeda serta nilai rata-rata dengan standar deviasi yang berbeda. Selain itu, pada uji perhitungan jumlah koloni bakteri *A. hydrophila* yang telah diberi larutan kulit buah manggis pada P₅ sebesar 30 koloni dan P₄ sebesar 360 koloni, dapat dilihat pada Tabel 3. Dapat dikatakan bahwa P₅ lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan P₄. Hal ini diduga karena kandungan senyawa fitokimia antibakteri pada P₅ lebih banyak dibanding P₄. Hal ini sesuai dengan Reveny (2011) bahwa semakin tinggi konsentrasi zat antibakteri yang

diberikan akan menghasilkan daerah hambat yang semakin besar.

Hasil penelitian Wahjuningrum *et al.* (2008) menggunakan ekstrak daun ketapang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan dosis 60 g/l memberikan zona hambat sebesar 9,5 mm. Bila dibandingkan dengan kulit buah manggis dengan dosis 57 g/L sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan zona hambat sebesar 9,16 mm. Hasil zona hambat yang berbeda diduga karena kandungan fitokimia kulit buah manggis lebih banyak dari pada daun ketapang. Daun ketapang memiliki fitokimia yang bersifat sebagai antibakteri adalah tannin (Chee, 2003) dan flavonoid (Tropical Aquaworld, 2006). Sedangkan kulit buah manggis memiliki kandungan fitokimia lebih banyak dibandingkan daun ketapang, yaitu senyawa golongan alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, dan triterpenoid yang mempunyai sifat antibakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010), serta senyawa xanton yang juga memiliki sifat antibakteri (Mardiana, 2011).

Selain mengamati zona hambat, maka dilakukan penebaran bakteri beserta larutan kulit buah manggis pada media padat TSA untuk melihat jumlah koloni dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Koloni Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dicampur Larutan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Dosis Perlakuan (%)	Jumlah Koloni (0,1 mL)
100	4 koloni
90	34 koloni
80	36 koloni
70	39 koloni
60	42 koloni
50	32 koloni
40	360 koloni
30	572 koloni
20	∞
10	∞
0	∞

Keterangan : Tanda “∞” menunjukkan bakteri tidak dapat dihitung, 10 % (19 g/L), 20 % (38 g/L), 30 % (57 g/L), 40 % (76 g/L), 50 % (95 g/L), 60 % (114 g/L), 70 % (133 g/L), 80 % (152 g/L), 90 % (171g/L), 100 % (190 g/L)

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Hasil uji MIC dari dosis 50% (95 g/L) hingga 30% (38 g/L) menunjukkan bahwa dosis 50 % jumlah koloni bakteri sebanyak $30,6 \times 10^8$ cfu/ml. Sedangkan dosis 40 % (76 g/L) dan 30 % (57 g/L) sudah bersifat tidak bisa menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*, karena jumlah koloni sudah lebih dari 300 koloni. Sehingga dosis MIC yang dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* adalah dosis 50 %. Dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil uji ANOVA terhadap MIC diperoleh nilai $P (0,00) < 0,05$, hal ini menandakan bahwa nilai seluruh variansi yang dianalisis sangat berbeda nyata antara setiap perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian larutan kulit buah manggis masing-masing dosis dapat

memberikan perbedaan jumlah koloni bakteri *A. hydrophila*.

Table 4. Hasil Uji MIC Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Jumlah Koloni (100µl)			Rata- rata Jumlah Bakteri (cfu/ml)	Rata-rata ± SD
	I	II	III		
P1	572	552	657	$593,6 \times 10^8$	$593,66 \pm 55,75c$
P2	360	484	350	398×10^8	$398.00 \pm 74,64^b$
P3	32	30	30	$30,6 \times 10^8$	$30.66 \pm 1.15a$
P0	∞	∞	∞	∞	∞

Keterangan : tanda “∞” menunjukkan bakteri tidak dapat dihitung, superskrib yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P 0,00 < 0,05$), P0 0 % (0 g/L), P1 30 % (57 g/L), P2 40 % (76 g/L), P3 50 % (95 g/L)

Berdasarkan hasil uji Newmans-Keuls dapat diketahui bahwa masing-masing P₁ P₂ dan P₃ sangat berbeda nyata, yang ditandai dengan jumlah koloni bakteri dari masing-masing perlakuan tersebut berbeda. P₃ menunjukkan jumlah koloni lebih sedikit dibandingkan dengan P₂ dan P₁, sehingga dapat dikatakan pada P₃ merupakan perlakuan terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sejalan dengan pendapat Michael and Chan (1988) yang mengatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri mati.

Berdasarkan penelitian Wiyanto (2010), ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* pada dosis 0,3 g/L dapat membunuh bakteri sebesar $1,51 \times 10^8$ cfu/ml. Dibandingkan larutan kulit buah manggis segar yang dilarutkan dengan aquades dalam perhitungan jumlah koloni bakteri *A. hydrophila*

dengan dosis 38 g/L (30%) sebanyak $593,6 \times 10^8$ cfu/ml. Hasil penelitian menggunakan ekstrak *K. alvarezii* dengan pelarut metanol, menunjukkan daya hambat yang lebih luas terhadap bakteri *A. hydrophila* dibandingkan dengan menggunakan larutan kulit buah manggis. Hal ini terjadi diduga karena senyawa antibakteri dominan yang terdapat pada ekstrak metanol *K. alvarezii* yaitu senyawa turunan asam karboksilat yaitu hexadecanoid acid (49.73%), octadecanoid acid (21.63%) dan senyawa turunan keton steroid yaitu cholest-5-ene,3-bromo (5.35%), cholest-5-en-3-ol- β (4.88) yang memiliki spektrum yang luas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

Toksisitas LD₅₀ Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

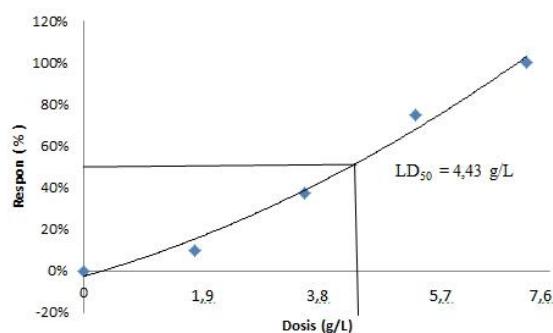
Hasil uji LD₅₀ kulit buah manggis selama 24 jam berdasarkan hasil MIC tidak aman diberikan pada ikan sesuai dengan dosis untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diduga karena kulit buah manggis mengandung bahan alami yang bersifat toksik terhadap ikan, untuk itu dilakukan penurunan dosis. Sehingga uji toksisitas LD₅₀ dilakukan di bawah dosis uji *in vitro* tersebut. Dosis yang diberikan pada ikan lele dumbo dimulai dari 4 % (7,6 g/L), 3 % (5,7 g/L), 2 % (3,8 g/L) dan 1 % (1,9 g/L). Respon kematian ikan lele dumbo (LD₅₀) dan dosis larutan kulit buah manggis yang diberikan perendaman 24 jam dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 2.

Tabel 5. Persentase Kematian Ikan Lele Dumbo dengan Perendaman Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Dosis (g/L)	Mati	Hidup	Akumulasi		Ratio Kematian	% Kematian
			Mati	Hidup		
0	0	10	0	28	28	0 / 28
1,9	2	8	2	18	20	2 / 20
3,8	4	6	6	10	16	6 / 16
5,7	6	4	12	4	16	12 / 16
7,6	10	0	22	0	22	22 / 22

Keterangan : 0 g/L (0 %), 1,9 g/L (1 %), 3,8 g/L (2 %), 5,7 g/L (3 %), 7,6 g/L (4 %)

Kematian yang terjadi pada setiap dosis yang digunakan, diduga karena kandungan larutan kulit buah manggis dengan dosis yang tinggi sehingga menyebabkan ikan mati. Salah satu senyawa dalam kulit buah manggis yang bersifat toksik bagi ikan adalah saponin, dimana saponin dapat menyebabkan keracunan pada ikan lele dumbo. Harborne (2006) mengungkapkan bahwa senyawa saponin dalam konsentrasi tinggi yang melewati batas toleransi tubuh dapat menimbulkan keracunan bahkan sering mematikan.



Gambar 2. Dosis - Respon Kumulatif LD₅₀ Efek Toksik Larutan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap (Ikan Lele Dumbo).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji *in vitro* dosis minimal dalam membunuh bakteri adalah 95 g/L, peristiwa ini tidak seimbang dengan uji LD₅₀ karena pada dosis 7,6 g/L larutan kulit buah manggis sudah bersifat toksik pada ikan lele dumbo. Sehingga larutan kulit manggis ini tidak dapat dijadikan pengobatan pada ikan dengan cara perendaman karena dosis yang terlalu tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak dianjurkan bila diberikan lebih dari dosis 4,43 g/L.

KESIMPULAN

Larutan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terbukti efektif mampu menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* pada dosis 50 % (95 g/L) dengan menghasilkan zona hambat sebesar 13,65 mm dengan perhitungan jumlah koloni bakteri sebesar $30,6 \times 10^8$ cfu/mL pada uji MIC. Hasil uji toksisitas LD₅₀ kulit buah manggis terdapat pada dosis 4,43 g/L. Sehingga disarankan pemberian larutan kulit buah manggis dengan metode perendaman < 4,43 g/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 2008. Mahasiswa Institut Pertanian Bogor (IPB) yang mengikuti lomba karya tulis tingkat nasional PT. Djarum menilai penggunaan antibiotik yang berlebihan justru akan merugikan. Diakses dari <http://tekno.kompas.com/read/2008/08/29/21110132/Inilah.Karya.Tulis.Terbaik.Beswan.Djarum.2008.Pada.Tanggal.7.Juni.2014>.
- Austin, B. and D.A. Austin. 2007. *Bacterial Fish Pathogens. Disease In Farmed and Wild Fish*. Four Edition. Ellis Horwood limited. Chichester: England.
- Chee Mun, F. (2003) Ketapang (Cattapa) Leaves- Black Water : Understanding Black Water. INBS Forum Index. <Http://www.joyabetta.com/>. Diakses pada tanggal 15 November 2014.
- Harmita dan M. Radji. 2008. Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3 . Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Mardiana, L. 2011. *Ramuan dan Khasiat Kulit Manggis*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Merk, K. 1994. *Microbiology Manual 2000*. Berlin.
- Nugroho, A.E. 2014. Manggis (*Garcinia mangostana* L.) : dari Kulit Buah yang terbuang Hingga menjadi Kandidat Suatu Obat. Artikel. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Poeloengan, M., dan Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.), *Media Litbang Kesehatan*, 20 (2): 66-67.
- Reveny, J. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper betle* Linn.). Artikel. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Tropical Aquaworld. 2006. *Terminalia cattapa* L. <Http://www.tropical-aquaworld.com/terminaliae.htm>.

Diakses pada tanggal 06 September 2014.

- Wahjuningrum, D., Ashry, N., dan Nuryati, S. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia cattapa* untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin *Pangasionodon hypophthalmus* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7(1): 79–94.
- Wiyanto, D.B. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan*, 3(1): 1907–9931.
- Harbone, B.J. 2006. Metode Fitokimia : *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Ed ke-2, Penerjemah : Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung.