

Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

ENDANG T.P. SARI*¹, TRI GUNAEDI², ERVINA INDRAYANI³

¹Program Pascasarjana Biologi, Universitas Cenderawasih, Jayapura, Indonesia

²Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura

³Program Studi Ilmu Perikanan, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura

Diterima: 18 Juni 2017 – Disetujui: 20 September 2017
© 2017 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

MAS diseases (*Motile Aeromonas Septicaemia*) is caused by the bacterium *Aeromonas hydrophila*. One of the natural ingredients that can be used as an alternative to inhibit bacterial activity is the extract of red galangal rhizome (*Alpinia purpurata*). Active substances possessed of this material have potential as antibacterial. The purpose of this study is to determine the effectiveness of red galangal rhizome extract in the control of MAS disease in tilapia. The type of this research is experimental research in Completely Random Design (RAL) with 6 treatments, which are positive control, negative control, 250, 500, 750, and 1000 ppm. The result of the research on the activity of the galangal extract bacteria on *A. hydrophila* obtained the widest clear zone at 1000 ppm constipation, which is 9.7625 mm. The treatment has been conducted by immersion of Tilapia fish into the extracted red galangan rgizomes for 5 minutes, then it was put into aquarium for maintenance for 7 days. 0.1 ml *A. hydrophila* (10^8 cfu/ml) was injected to Tilapia. The result of the research on antibacterial shoes the widest clear zone at 1000 ppm with constipation, which is 9.7625 mm and the effectiveness test of red galangal extract on tilapia infected by *A. hydrophila* bacteria experience (ulcer) healing after 7 days with the concentration of rhizome extract of galangal 1000 ppm.

Key words: red galangal rhizome extract, *A. hydrophila*, *A. purpurata*.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan yang sangat luas daerah perairannya. Sekitar 70% alam di negara Indonesia terdiri dari perairan seperti sungai, rawa, danau, telaga, tambak, dan laut. Kekayaan alam ini merupakan suatu anugerah yang sangat potensial dan patut dimanfaatkan untuk pengembangan usaha perikanan (Rahman, 2008; Sumayani *et al.*, 2008). Danau Sentani merupakan danau terluas di

Provinsi Papua yang memiliki potensi dan daya dukung lingkungan yang dapat dijadikan sebagai sentra usaha perikanan. Danau ini mempunyai kedalaman rata-rata 35 meter. Danau Sentani terletak pada ketinggian 70 m dpl (Indrayani *et al.*, 2015).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan komoditas unggulan yang saat ini dikembangkan di Danau Sentani dan terus mengalami peningkatan produksi. Sistem pemeliharannya dengan menggunakan keramba tancap dan keramba jaring apung. Produksi budidaya perikanan Kabupaten Jayapura tahun 2010-2012 sebesar 141,10 ton, tahun 2011 sebesar 402,14 ton, dan tahun 2012 sebesar 442,14 ton. Data ini menunjukkan bahwa produksi perikanan budidaya dengan sistem keramba jaring meng-

* Alamat korespondensi:

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Cenderawasih.
Jl. Kamp Wolker, Waena, Jayapura, Papua. Telp./fax.:
+62967572115. e-mail: endangtri75@yahoo.com;
ervina_indrayani@yahoo.com

alami peningkatan (Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Jayapura, 2012).

Indikator keberhasilan dalam usaha budidaya ikan adalah kondisi kesehatan ikan yang berpengaruh terhadap peningkatan hasil produksi. Kasus penyakit pada ikan merupakan masalah penting untuk ditangani secara serius. Hasil pemantauan hama penyakit ikan oleh Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Jayapura, di Danau Sentani terjadi beberapa kasus penyakit ikan dengan tingkat prevalansi antara 10-50 %. Salah satu penyakit yang ditakuti oleh para petani ikan adalah penyakit bercak merah atau *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS).

Penyakit MAS disebabkan oleh invasi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *A. hydrophila* merupakan bakteri normal yang berada di perairan air tawar. Namun akibat perubahan kondisi lingkungan seperti perubahan temperatur menyebabkan bakteri menjadi patogen (Chopra *et al.*, 2000). Bakteri ini bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih hingga 90 % (Kabata, 1985). Khairuman & Amri (2008) dan Hossain *et al.* (2008) menyatakan bahwa penyebaran penyakit dapat terjadi karena kontak langsung dengan ikan yang terinfeksi. Selain itu, berasal dari air tempat pemeliharaan ikan yang terinfeksi. Infeksi bakteri *A. hydrophila* dapat menimbulkan penyakit dengan gejala diantaranya: kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna kebiruan atau pucat, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor terlepas, terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan (Mulia, 2003).

Penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan berbagai jenis antibiotika tertentu seperti *oxytetracyclin*, *chloramphenicol*, *erythromycin*, *kanamycin*, dan *rimfamycin*. Namun, penggunaan antibiotika dalam jangka waktu lama, akan berdampak negatif yaitu bakteri akan menjadi resisten. Alternatif lain untuk pengobatan penyakit ini adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami yang berasal dari tumbuhan (Sumayani *et al.*, 2008).

Penggunaan bahan-bahan alami memiliki efek samping yang lebih kecil, harga ekonomis dan bahan mudah didapat. Salah satu bahan obat alami yang berasal dari tumbuhan yang diketahui mengandung zat antibakteri adalah rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) bahan alami ini mengandung minyak atsiri, flavonoid, fenol, terpenoid dan lain-lain yang bersifat bakterisidal (Wattimena *et al.*, 1991). Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Denaturasi protein menyebabkan aktivitas metabolisme sel terhenti yang berakibat pada kematian sel bakteri (Noventi & Novita, 2016). Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian mengenai pengendalian infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan nila (*O. niloticus*) dengan ekstrak lengkuas merah (*A. purpurata*). Diharapkan ekstrak rimpang lengkuas merah dapat menjadi alternatif obat tradisional yang efektif, murah, dan mudah diperoleh dan tidak menimbulkan efek samping dalam penggunaannya untuk pengendalian infeksi bakteri pada ikan nila.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat pemotong sampel (*cutter*), neraca analitik, *rotary evaporator*, peralatan gelas, *laminar air flow* (LAF), *hot plate*, pinset, jarum ose, *incubator*, akuarium ukuran 40 x 20 x 20 cm, *aerator*, termometer, pH meter, DO meter, jarum ose, tabung reaksi, cawan petri, *colony counter*, dan *autoclave*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah lengkuas merah, ikan nila, *Tryptic Soy Agar* (TSA), antibiotik *chloramphenicol*, bahan uji biokimia, aquades steril, NaCl 0,9 %, air mineral, etanol 96 %, *cotton swab*, *aluminium foil*, alkohol 75 %, kertas saring, pakan ikan (*pellet*), dan cawan petri.

Pembuatan Ekstrak

Metode yang digunakan dalam mengekstrak rimpang tanaman lengkuas merah, dengan

menggunakan metode maserasi yaitu perendaman bahan alam yang dikeringkan (*simplicia*) dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Pratiwi, 2009; Laith & Najiah, 2013). Metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Sebanyak 1,5 kg rimpang tanaman lengkuas terlebih dahulu dibersihkan dan kemudian dikeringkan lalu di blender. Selanjutnya merendam dalam 3 Liter etanol 96% selama 3x24 jam, dan dilakukan penyaringan dengan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas. Hasil saringan kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *evaporatory* sehingga didapatkan ekstrak kental yang bebas dari pelarut.

Pembuatan Media

Sebanyak 40 g media TSA dimasukan ke dalam erlenmeyer, melarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml dan dilakukan pemanasan dengan *hotplate* hingga mendidih. Erlenmeyer ditutup kapas dan dibungkus alumunium foil serta diikat oleh tali. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Media steril ditunggu hingga media tidak terlalu panas. Media dituangkan pada cawan petri sebanyak ± 20 ml di setiap cawannya. Media ditunggu hingga memadat.

Isolasi Bakteri *A. hydrophila* dari Ikan Sakit

Mengambil sampel ikan di kolam budidaya ikan nila yang memiliki ciri-ciri kulit terkelupas, bercak berah pada seluruh tubuh, insang berwarna suram atau kebiruan, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), terdapat kerusakan pada sirip punggung, punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor, terjadinya pendarahan pada anus. Memasukan ke dalam kantong sampel dan disimpan di laboratorium mikrobiologi FMIPA Universitas Cenderawasih. Melakukan penanaman bakteri pada media TSA yang telah disediakan dengan cara mengusapkan *cotton swab* pada ikan yang terdapat luka dan menggoreskan pada

media TSA, masukan ke dalam inkubator dengan suhu 27-28 °C selama 24 jam.

Melakukan identifikasi bakteri untuk memastikan bakteri yang diisolasi adalah bakteri *A. hydrophila*, dengan ciri-ciri koloni bulat, cembung, berwarna kekuning-kuningan, mempunyai satu flagel (*monotrichous flagella*) yang keluar dari salah satu kutubnya, uji gula-gula, uji katalase, uji KOH 3%, dan uji oksidase untuk mendapatkan isolat murni *A. hydrophila* (Laith & Najiah, 2013).

Uji Efektivitas Ekstrak Lengkuas Merah (*A. purpurata*) terhadap *A. hydrophila*

Pengujian ekstrak rimpang lengkuas merah dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan kertas cakram. Menyiapkan media TSA, melakukan *streak plate* media TSA kemudian mengusap secara merata menggunakan batang L, menunggu ± 15 menit selanjutnya diletakkan kertas cakram yang telah direndam dalam larutan ekstrak rimpang lengkuas merah dengan konsentrasi: 250, 500, 750, dan 1000 ppm. Selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 27-28 °C selama 24 jam. Melakukan pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri setelah masa inkubasi 24 jam. Mengukur zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah

Alat pembiakan yang digunakan adalah akuarium dengan kapasitas air 10 l. Ikan nila ditimbang bobot dan ukuran panjangnya. Memasukan lima ekor ikan nila umur ± 30 hari dengan ukuran 10-12 cm dan memiliki berat 10-15 gram (Siniwoko, 2013). Aklimatisasi dilakukan selama 4 hari.

Bakteri *A. hydrophila* dibuat suspensi sekitar 10⁸ cfu/ml menurut standar perhitungan jumlah bakteri menurut metode kekeruhan Mc. Farland. Menyuntikkan sebanyak 0,1 ml secara intraperional dengan jarum suntik (1 ml) pada 5 ekor ikan nila. Memasukkan kembali ikan ke dalam akuarium dan membiarkan selama 48 jam dan dilakukan pengamatan perubahan klinis infeksi bakteri (Mulia, 2003).

Menyediakan akuarium yang berisi air, memasukkan lima ekor ikan nila yang sudah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* ke dalam akuarium. Menimbang dan memasukan ekstrak rimpang lengkuas merah ke dalam akuarium sesuai konsentrasi. Konsentrasi perlakuan diperoleh dari nilai tertinggi dari uji antibakteri. Perendaman dilakukan selama 5 menit dan selanjutnya memindahkan ikan ke dalam akuarium pemeliharaan. Dilakukan pengamatan terhadap tingkah laku dan kondisi morfologi luar ikan nila.

Analisis Data

Data kualitatif yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yang meliputi tingkah laku, reaksi ikan setelah perendaman, dan morfologi ikan. Data kuantitatif berupa zona bening dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh pada tiap perlakuan, dengan taraf signifikansi 5%. Perangkat analisis data yang digunakan adalah program *Microsoft Excel 2007* dan *SPSS 16*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah terhadap Bakteri *A. hydrophila*

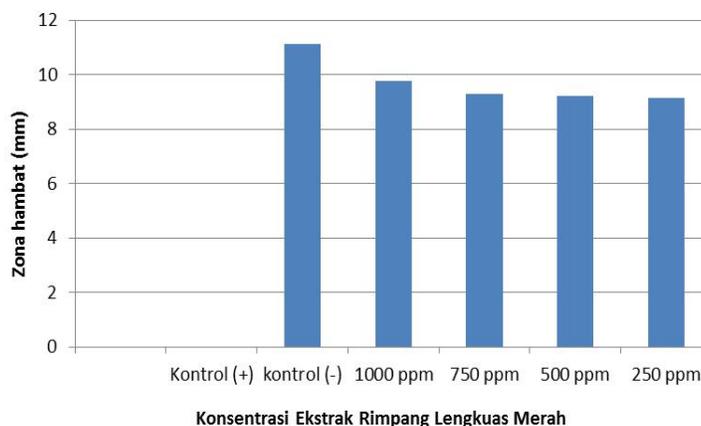
Uji efektivitas ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap bakteri *A. hydrophila* diuji menggunakan sampel bakteri *A. hydrophila* yang merupakan hasil isolasi ikan terinfeksi dari tambak budidaya Ikan nila di Danau Sentani, menunjukkan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah (*A. purpurata*) mempunyai aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang telah disebarkan *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^8 cfu/ml. Diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap bakteri.

Hasil dari uji menunjukkan bahwa semua konsentrasi memiliki zona hambat, kecuali pada kontrol (-). Diameter zona hambat yang

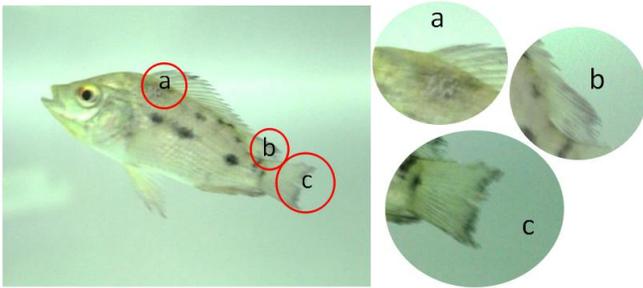
paling terbesar pada uji ini terletak pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 9,7625 mm. Berdasarkan hasil uji diketahui bahwa masing-masing konsentrasi pada penelitian ini memiliki aktivitas antibakteri, seperti pendapat yang dijelaskan oleh Taufiq *et al.* (2015), bahwa diameter zona hambat yang terbentuk kurang dari 6 mm maka ekstrak tersebut dikategorikan tidak memiliki aktivitas antibakteri. Kemampuan daya hambat ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* yaitu tergolong sedang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pratama (2005), bahwa aktivitas antimikroba dikategorikan memiliki tingkat sensitivitas sangat kuat apabila diameter zona hambat mencapai > 20 mm. Kategori tingkat sensitivitas kuat diberikan apabila ekstrak mampu memberikan diameter zona hambat sekitar 10-20 mm. Kategori tingkat sensitivitas sedang diberikan apabila ekstrak mampu memberikan diameter zona hambat sekitar 5-10 mm. Kategori tingkat sensitivitas lemah, apabila diameter berkisar antara 6 mm.

Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah pada Ikan Nila Terinfeksi *A. hydrophila*.

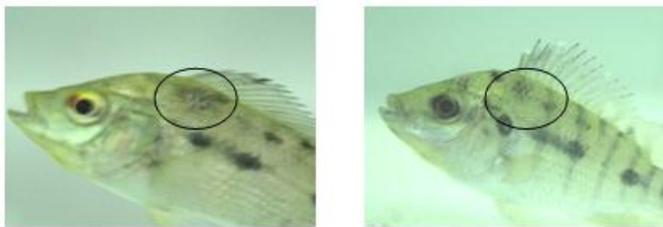
Pengamatan gejala klinis pada ikan nila pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* adalah timbulnya perubahan morfologi dan tingkah laku, seperti ikan berenang miring (*whirling*) dan respon makan menurun. Ikan nila yang telah terinfeksi bakteri menunjukkan perubahan morfologi berupa



Gambar 1. Hasil rata-rata pengamatan zona bening setelah pemberian rimpang lengkuas merah terhadap *A. hydrophila*.



Gambar 2. Ikan nila terinfeksi bakteri *A. hydrophila* a. luka (*ulcer*), b. sirip punggung terlepas, dan c. sirip ekor terlepas.



Gambar 3. Ikan sakit dan pasca pengobatan.

timbulnya luka pada permukaan kulit, beberapa bagian sirip ekor dan dada terlepas.

Gambar 2. memperlihatkan gejala klinis ikan nila pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* dan sebelum dilakukan perendaman dengan ekstrak rimpang lengkuas merah. Berdasarkan gejala klinis tersebut, maka dilakukan pengobatan dengan menggunakan rendaman ekstrak rimpang lengkuas merah. Kondisi morfologi dan tingkah laku ikan berangsur-angsur membaik setelah dilakukan 1 kali selama 5 menit perendaman dan dipindahkan ke dalam akuarium pemeliharaan selama 7 hari. Perubahan yang terjadi yaitu perubahan morfologi berupa luka yang mulai mengecil dan menutup pasca perendaman, respon ikan terhadap pakan terus membaik, dan cara berenang ikan juga terlihat semakin normal tiap harinya. Perubahan morfologi pada ikan nila pasca perendaman ekstrak rimpang lengkuas merah nampak terlihat jelas (Gambar 3).

Kemampuan ekstrak rimpang lengkuas merah dalam mengobati luka akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* karena adanya minyak atsiri, flavonoid, terpenoid, dan saponin yang terkandung dalam rimpang lengkuas merah (Wattimena *et al.*, 1991). Rimpang lengkuas merah

memiliki kandungan minyak atsiri yang tinggi, kandungan minyak atsiri inilah yang mempunyai sifat antibakteri. Ekstrak rimpang lengkuas merah efektif dalam menghambat dan membunuh bakteri *A. hydrophila* karena adanya senyawa minyak atsiri (Wattimena *et al.*, 1991). Kandungan minyak atsiri pada rimpang lengkuas merah terdapat zat aktif utama yang memiliki aktifitas antimikroba diantaranya adalah fenol. Senyawa fenol dalam lengkuas merah berperan dalam mengobati ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila*. Senyawa tersebut dapat berkoagulasi dengan protein seluler dan menyebabkan membran sel menjadi tipis dan rusak (Parwata, 2008). Flavonoid dalam ekstrak ini juga berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Redha, 2010; Kumar & Pandey, 2013; Taufiq *et al.*, 2015). Begitu pula dengan senyawa saponin. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Cavalieri, 2005).

Berdasarkan pengukuran kualitas air selama penelitian, diperoleh kisaran oksigen terlarut pada semua perlakuan sebesar 3,2–3,7 mg/L. Nilai kisaran ini masih tergolong kurang untuk kehidupan ikan nila. Boyd (1982) menyatakan bahwa apabila nilai oksigen terlarut antara 1–5 mg/L dapat mengakibatkan pertumbuhan lambat. Untuk pertumbuhan ikan yang normal apabila nilai oksigen terlarut lebih dari 5 mg/L.

Hasil pengukuran suhu selama penelitian berkisar antara 28–29 °C. Nilai suhu media tersebut dapat dikatakan layak untuk kehidupan ikan nila. Suhu optimal dalam pemeliharaan ikan berkisar antara 25–30 °C. Pertumbuhan ikan akan terhambat apabila suhu dibawah 20°C. Khairuman dan Amri (2008), menambahkan bahwa ikan nila aktif mencari makan pada siang hari dimana aktivitas makan dan gerak terbaik pada suhu diatas 20 °C.

Nilai pH pada penelitian ini berkisar antara 7–8. Nilai tersebut masih layak bagi kehidupan ikan nila, seperti yang dinyatakan oleh Kordi & Gufron

(2010), bahwa ikan dapat mengalami pertumbuhan yang optimal dengan nilai pH yang berkisar antara 6,5-9,0.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah (*A. purpurata*) dapat digunakan sebagai alternatif pengendalian infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*O. niloticus*) berpengaruh nyata ($F_{hitung} (130,145) > F_{tabel} (2,77)$). Ekstrak rimpang lengkuas merah mampu menyembuhkan luka (*ulcer*) pada ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* setelah 7 hari dengan konsentrasi terbaik 1000 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Boyd, C.E. 1982. *Water quality in ponds for aquaculture*. International Centre for Aquaculture Experiment Station. Auburn University. Alabama.
- Chopra, A.K., X.I. Xu, D. Ribardo, M. Gonzales, K. Kuhl, J.W. Peterson, and C.W. Huston. 2000. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induce proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophage. *Infection and Immunity*. 68(5): 2808-2818.
- Cavaliere, S.J., I.O. Rankin, R.J. Harbeck, R.S. Sauter, Y.S. McCater, S.E. Sharp, J.H. Ortez, and C.A. Spiegel. 2005. *Manual of antimicrobial susceptibility testing*. American Society for Microbiology. USA.
- Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Jayapura. 2012. Laporan Tahunan Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Jayapura Tahun 2012.
- Hossain, M.D., M.K. Hossain, M.H. Rahman, A. Akter, and D.A. Khanom. 2008. Prevalence of ectoparasites of carp fingerlings at Santaher, Bogra. *Universal Journal of Zoology*. 27: 17-19.
- Indrayani, E., K.H. Nitimulyo, S. Hadisusanto dan Rustadi. 2015. Peta batimetri Danau Sentani Papua. *Depik*. 4(3): 116-120.
- Kabata, Z. 1985. *Parasites and disease of fish cultured in the tropics*. Taylor and Francis Press. London.
- Khairuman dan K. Amri. 2008. *Buku pintar budidaya 15 ikan konsumsi*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Kordi, M. dan H. Gufron. 2010. *Nikmat rasanya, nikmat untungnya pintar budi daya ikan di tambak secara intensif*. Yogyakarta.
- Kumar, S., and A.K. Pandey. 2013. Chemostry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*. ID162750: 1-16.
- Laith, A.R., and M. Najiah. 2013. *Aeromonas hydrophila*: Antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish *Clarias gariepinus* (Burchhell). *J Aquac Res Development*. 5(2): 1-7.
- Mulia, D.S. 2003. Pengaruh vaksin debris sel *Aeromonas hydrophila* dengan kombinasi cara vaksinasi dan booster terhadap respons imun dan tingkat perlindungan relatif pada lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). [Tesis]. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Noventi, W., dan C. Novita. 2016. Potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai alternatif terapi *Acne vulgaris*. *Majority*. 5(1): 140-145.
- Parwata, O.A. 2008. Isolasi dan uji aktifitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*). *Jurnal Kimia*. 2(2): 100-104.
- Pratama, M.R. 2005. Pengaruh ekstrak serbuk kayu siwak (*Salvadora persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Pratiwi, I. 2009. Uji antibakteri ekstrak kasar daun *Acalypha indica* terhadap bakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret (UNS). Surakarta.
- Rahman, M.F. 2008. Potensi antibakteri ekstrak daun pepaya pada ikan gurami yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. IPB, Bogor.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian*. 9(2): 196-202.
- Siniwoko, E.D. 2013. *Budidaya dan bisnis ikan nila untuk pemula*. Dafa Publishing. Surabaya.
- Sumayani, K. Rahayu, dan C. Yudi. 2008. Daya antibakteri perasan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* Secara in vitro. *Berkalah Ilmiah Perikanan*. 3(1): 83-87.
- Taufiq, S., Y. Umi, dan H. Siti. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonela typhi*. Prosiding Penelitian SPeSIA UNISBA.
- Wattimena, J.R., N.C. Sugiarto, M.B. Widiyanto, E.Y. Sukandar, A.A. Soemarji, dan A.R. Setiadi, A.R. 1991. *Farmakologi dan terapi antibiotik*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.