

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

POTENSI KOMBINASI TANAMAN OBAT HERBAL SEBAGAI BAHAN PENGENDALI PENYAKIT BAKTERI, JAMUR, DAN PARASIT PADA IKAN LELE

Nunak Nafiqoh[#], Lila Gardenia, Desy Sugiani, dan Uni Purwaningsih

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16129

(Naskah diterima: 2 Maret 2020; Revisi final: 21 Desember 2020; Disetujui publikasi: 21 Desember 2020)

ABSTRAK

Ikan lele merupakan komoditas ikan yang mempunyai nilai jual yang cukup baik di pasar. Tingginya permintaan ikan lele memicu intensifikasi produksi dengan melakukan budidaya dengan padat tebar tinggi, sehingga resiko ikan terserang penyakit akan lebih besar. Upaya untuk menghindari penggunaan obat-obatan kimiawi terutama antibiotik perlu segera dilakukan. Oleh sebab itu informasi tentang bahan alami yang mampu menggantikan fungsi antibiotik sintetis namun tidak meninggalkan residu sangat diperlukan. Penelitian ini ditujukan untuk melihat potensi efektivitas dari kombinasi enam jenis tanaman obat herbal dalam pengendalian penyakit akibat bakteri, jamur, dan parasit pada ikan lele. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi tanaman obat herbal dengan dosis yang diekstrak adalah 1:10 w/v (tanaman obat herbal: pelarut) efektif dalam menekan pertumbuhan bakteri *Flavobacterium columnare* secara *in vitro* dengan diameter zona bening 16 ± 3 mm. Sementara untuk jamur yang tidak diidentifikasi spesiesnya dosis yang mampu mematikan pertumbuhan hifanya adalah $300 \mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$ dan pada dosis 1 g.L^{-1} serbuk kombinasi tanaman obat herbal mampu menurunkan jumlah parasit dari kelompok *Trichodina*, *Gyrodactylus*, dan *Dactylogyrus* mulai hari ke-2 pasca perendaman. Sedangkan dosis aman yang dapat digunakan oleh ikan lele adalah $1,82 \text{ g.L}^{-1}$.

KATA KUNCI: tanaman obat herbal; pengendali penyakit; lele

ABSTRACT: *Potential combination of herbal medicine plants as a control of bacteria, fungus and parasites in catfish. By: Nunak Nafiqoh, Lila Gardenia, Desy Sugiani, and Uni Purwaningsih*

*Catfish is a valuable fish commodity in local and national markets. The increasing demand for catfish has led to the farming intensification of the fish. As a result, fish disease outbreaks frequently occur in most of catfish farming centres. Efforts to prevent these outbreaks and reduce the use of antibiotics and other chemical have been developed primarily through the use of natural ingredients such as medicinal herbs. This study was aimed to study the potential use of six medicinal herbs combination in controlling diseases in catfish caused by bacteria, fungi and parasites. The results showed that the medicinal herbs' combination effectively suppressed the growth of the bacterium *Flavobacterium columnare* in vitro with a clear zone diameter of 16 ± 3 mm after the application of the herbs combination extract of 1:10 w/v (herbs: solvent). The extract dosage use of $300 \mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$ was able to destroy the hyphal structure of an unidentified fungus. At a dose of 1 g.L^{-1} , the powder form of the combination of the medicinal herbs was able to reduce the number of parasites of *Trichodina*, *Gyrodactylus* and *Dactylogyrus* on the 2nd day after immersion. This study recommends that the safe dose of the extract for catfish is 1.82 g.L^{-1} .*

KEYWORDS: medicinal herbs; health management; catfish

PENDAHULUAN

Kesadaran pembudidaya yang semakin meningkatnya akan bahaya penggunaan bahan-bahan kimia sintetis dalam industri perikanan merupakan

kemajuan yang patut di apresiasi. Dengan mengurangi penggunaan bahan kimia sintetis secara masif, dapat berdampak pada meningkatnya kualitas sumber pangan yang berasal dari ikan budidaya. Tidak dipungkiri, bahan kimia sintetis telah terbukti ampuh dalam menanggulangi permasalahan kesehatan pada komoditas perikanan budidaya. Namun residu yang tertinggal pasca penggunaan bahan kimia sintetis berdampak negatif, baik pada lingkungan dan pada

[#] Korespondensi: Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan. Jl. Sempur No. 1, Bogor 16129, Indonesia
Tel.: +62 251 8313200
E-mail: nunanafiqoh@gmail.com

ikan yang dibudidayakan yang nantinya mempengaruhi kualitas hidup manusia sebagai konsumen terahir dari ikan hasil yang dibudidayakan.

Sebuah studi yang melakukan fokus penelitian di daerah Jawa Barat menyebutkan bahwa 50% petani pembudidaya di daerah tersebut menggunakan tanaman obat herbal dalam kegiatan budidayanya. Hal ini terutama ada di daerah Sukabumi, Bogor, Cirebon, dan Bandung, dengan komoditas terbanyak adalah ikan koi, lele, dan ikan hias (Caruso *et al.*, 2013). Jenis tanaman obat herbal yang banyak digunakan oleh pembudidaya antara lain, daun kipahit, mengkudu, sirih, pepaya, jambu biji, dan rimpang kunyit.

Daun kipahit (*Tihonia diversifolia*) mengandung *quassinoid* yang bersifat oksidator dinding sel bakteri, mengkudu (*Orinda citrifolia* L.) sebagai imunostimulan, sirih (*Piper betle* L.) biasa digunakan sebagai antibiotik alami untuk mengobati luka, borok, dan kulit melepuh, pepaya (*Carica papaya* L.) seringkali digunakan sebagai zat antibakteri, jambu biji (*Psidium guajava* L.) biasa digunakan sebagai antibakteri, dan anti parasit, sedangkan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) merupakan antibiotik alami untuk pengobatan luka borok (Lusiastuti & Tauhid, 2012).

Dalam kegiatan budidaya keberadaan patogen merupakan salah satu risiko yang harus dihadapi, bahkan infeksi yang terjadi terkadang melibatkan lebih dari satu jenis agen penyakit (ko-infeksi) Secara alami ko-infeksi dapat terjadi baik antar spesies (ko-infeksi homolog), atau antar agen penyakit (ko-infeksi heterolog). Kedua tipe ko-infeksi ini masing-masing cukup mempengaruhi tingkat keparahan dari serangan penyakit terhadap ikan budidaya (Kotob *et al.*, 2016).

Berdasarkan berbagai manfaat tanaman obat herbal yang telah digunakan, maka dilakukan penelitian awal untuk mendapatkan informasi lanjutan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi dari kombinasi tanaman obat herbal sebagai bahan pengendalian penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri, parasit dan jamur pada ikan lele.

BAHAN DAN METODE

Estraksi Tanaman Obat Herbal

Tanaman obat herbal yang digunakan sebanyak enam jenis yakni: daun kipahit, pepaya, mengkudu, jambu biji, dan rimpang kunyit. Semua bahan diperoleh dari kebun tanaman obat herbal Balai Tanaman Obat Herbal dan Tumbuhan Tropis (Balitro). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut akuades steril. Untuk melakukan ekstraksi tanaman obat herbal, 10 g serbuk tanaman

obat herbal dimasukkan ke dalam tabung erlemeyer dan ditambahkan pelarut berupa akuades steril sebanyak 100 mL (Daud *et al.*, 2002). Rendaman tanaman obat herbal kemudian disaring untuk membuang sisa serbuk tanaman, hasil ekstrak kemudian digunakan untuk uji lebih lanjut. Kombinasi dari keenam tanaman obat herbal yang digunakan mempunyai rasio daun kipahit : daun mengkudu : daun sirih : daun pepaya : daun jambu biji : rimpang kunyit = 1:1:3:2:1:1. Tanaman obat herbal dalam bentuk ekstrak digunakan pada uji-uji *in vitro* yakni uji anti-bakteri dan anti-jamur, sedangkan tanaman obat herbal dalam bentuk serbuk digunakan pada uji-uji *in vivo* yakni uji anti-parasit dan uji-dosis.

Ikan dan Bakteri Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan lele berukuran 9-11 cm hasil pemuliaan dari Balai Riset Pemuliaan Ikan, Sukamandi-Jawa Barat. Sebelum perlakuan ikan diaklimatisasi pada kondisi laboratorium selama tujuh hari. Agen penyakit yang digunakan adalah bakteri patogen yang merupakan koleksi dari Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan terdiri atas bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycobacterium fortuitum*, dan *Flavobacterium columnare*. Semua bakteri dikultur dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam kecuali *S. agalactiae* diinkubasi selama 48 jam.

Uji Antibakteri

Bakteri patogen *A. hydrophila*, *S. agalactiae*, *F. columnare*, dan *M. fortuitum* dikultur terlebih dahulu dalam media cair Mueller Hinton Broth (MHB) sebanyak 5 mL. Setelah diinkubasi selama 48 jam untuk *M. fortuitum* dan semalam untuk *A. hydrophila*, *S. agalactiae*, *F. columnare*, dan diencerkan sebanyak empat kali, 100 µL kultur cair bakteri patogen disebar pada media Mueller Hinton Agar (MHA) dan diratakan dengan batang penyebar. Setelah cairan bakteri mengering, tiga buah lubang dibuat pada media agar dan bahan ekstrak tanaman obat herbal kombinasi dimasukkan ke dalam lubang tersebut sebanyak 50 µL. Kemudian media diinkubasi semalam pada suhu 28°C untuk menumbuhkan bakteri. Zona bening yang terbentuk di sekitar lubang yang dibuat diukur untuk menggambarkan aktivitas antibakteri dari ekstrak tanaman obat herbal kombinasi (Turker *et al.*, 2009).

Uji Anti-Jamur

Uji jamur merupakan uji *in vitro*, di mana jamur yang digunakan merupakan jamur yang diisolasi dari ikan yang menunjukkan gejala terserang jamur. Tidak dilakukan identifikasi pada jamur yang diisolasi, karena

penelitian ini masih merupakan skining awal untuk potensi tanaman obat herbal kombinasi. Kombinasi tanaman obat herbal disiapkan dalam berbagai dosis (10, 20, 40, 50, 80, 100, 300, 500 $\mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$). Ekstrak tanaman obat herbal kombinasi dicampurkan kedalam *Glucose Yeast Agar* (GYA) steril hangat ($\pm 40^\circ\text{C}$). Sebuah lubang dibuat di tengah media GYA menggunakan pipet steril, dan lubang dengan ukuran yang sama diambil pada media yang telah berisi jamur. Inkubasi dan amati perkembangan jamur dengan mengukur panjang hifa dari jamur yang tumbuh pada media GYA.

Uji Anti-Parasit

Parasit untuk uji tanaman obat herbal dipersiapkan dengan metode kohabitasi. Ikan yang ditemukan parasit di tubuhnya dipelihara bersama ikan yang sehat. Sebanyak total 20 ekor ikan dipelihara dalam wadah dengan volume air 20 liter. Kemudian ditambahkan serbuk tanaman obat herbal yang sudah dikombinasikan dengan dosis; 0, 1, 2, 4, 5 g/liter media pemeliharaan. Pengamatan dilakukan pada hari ke-2, 4, dan 6, jumlah parasit yang ada pada setiap kelompok perlakuan diamati dan dihitung. Hasil yang didapatkan dibandingkan dengan hari ke-0 sebelum perlakuan tanaman obat herbal.

Uji Dosis

Kombinasi tanaman obat herbal yang telah berbentuk serbuk dicampurkan dan ditimbang dengan dosis; 1, 2, 4, 5, 8, 10 g.L⁻¹ media pemeliharaan dan 0 g.L⁻¹ sebagai kontrol. Ikan lele mutiar diaklimatisasi pada wadah berupa bak plastik dengan volume air 20 liter. Setelah kondisi ikan stabil, ikan di tebar dengan kepadatan satu ekor/liter. Dan kombinasi tanaman obat herbal dimasukkan ke dalam bak pemeliharaan sesuai dosis yang ditentukan, kematian ikan diamati hingga hari ke-7 setelah pemberian tanaman obat herbal.

Analisis Data

Semua percobaan dilakukan dengan menggunakan RAL (rancangan acak lengkap), dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Untuk analisa uji konsentrasi mematikan dilakukan dengan metode probit dan dikoreksi dengan kematian pada kelompok kontrol mengikuti rumus:

$$\text{KM}(\%) = \frac{\text{MO} - \text{MK}}{100 - \text{MK}} \times 100$$

di mana:

KM = koreksi mortalitas

MO = mortalitas observasi

MK = mortalitas kontrol

HASIL DAN BAHASAN

Uji Anti-Bakteri

Uji anti-bakteri menggunakan empat jenis bakteri patogen yang merupakan koleksi dari Instalasi Riset Pengendalian Penyakit Ikan (IRPPI), Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP) yakni *Aeromonas hydrophila*, *Mycobacterium fortuitum*, *Streptococcus agalactiae*, dan *Flavobacterium columnare*. Metode yang digunakan adalah metode *well-diffusion* didapatkan hasil bahwa kombinasi tanaman obat herbal kombinasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *F. columnare* dengan baik, dan perlu digali lebih dalam untuk diaplikasikan terhadap bakteri *S. agalactiae*. Namun untuk bakteri *A. hydrophila* dan *M. fortuitum* penggunaan kombinasi tanaman obat herbal kombinasi masih belum mendapatkan hasil yang memuaskan (Tabel 1).

Tabel 1. Aktivitas anti-bakteri dari tanaman obat herbal kombinasi terhadap beberapa bakteri patogen

Table 1. Anti-bacterial activity of medicinal herbs combination against several pathogenic bacteria

Bakteri Bacteria	Diameter zona hambat Diameter obstacles zone (mm)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	TH ^a
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	TH ^a
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6 ± 1 ^b
<i>Flavobacterium columnare</i>	16 ± 3 ^c

Keterangan (Note): TH= Tidak ada zona hambat (no drag zone)

Efektivitas antibakteri dilihat dari besarnya zona hambat yang terbentuk, zona tersebut menggambarkan kemampuan tanaman obat herbal dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Kombinasi keenam tanaman mempunyai kandungan yang sama, yakni: alkaloid carpinine, carpaine, vitamin C dan E dari daun pepaya (Aravind *et al.*, 2013); alkaloid, flavonoid, sesquiterpenes, monoterpenes, dan diterpenes dari daun kipahit (Chukwuka & Ojo, 2014; Otusanya & Ilori, 2012); serta tannin dalam jambu biji (Mailoa *et al.*, 2014). Dengan aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumonia*, *Proteus vulgaris* (Aruljothi *et al.*, 2014; Mailoa *et al.*, 2014; Peter *et al.*, 2014). Selain antibakteri senyawa yang terkandung dalam tanaman obat herbal mampu bersifat sebagai anti-oksidan dan anti-inflamasi (Chukwuka & Ojo, 2014; Gutiérrez *et al.*, 2008).

Perbedaan hasil yang ditunjukkan diduga karena adanya perbedaan struktur yang berbeda dari masing-masing bakteri yang digunakan. Setiap bakteri mempunyai karakter yang berbeda dari setiap jenisnya. Terutama yang berasal dari jenis gram yang berbeda. Namun hasil menunjukkan kombinasi tanaman yang digunakan mempunyai efek menghambat terhadap *F.columnare* tetapi tidak menghambat pertumbuhan *A. hydrophila*, meskipun keduanya merupakan bakteri gram negatif. Diduga perbedaan ini diakibatkan perbedaan struktur dari dinding sel di antara keduanya. Seperti diketahui dinding sel bakteri dari gram negatif adalah lipopolisakarida (LPS) yang dibentuk dari lipid A, oligosakarida (OS) dan O-polisakarida spesifik (O-antigen). Pada tiap gram bakteri gram negatif bentuk O-antigen ini bervariasi dalam hal komposisi kimia, struktur dan antigenitasnya (Tomás, 2012).

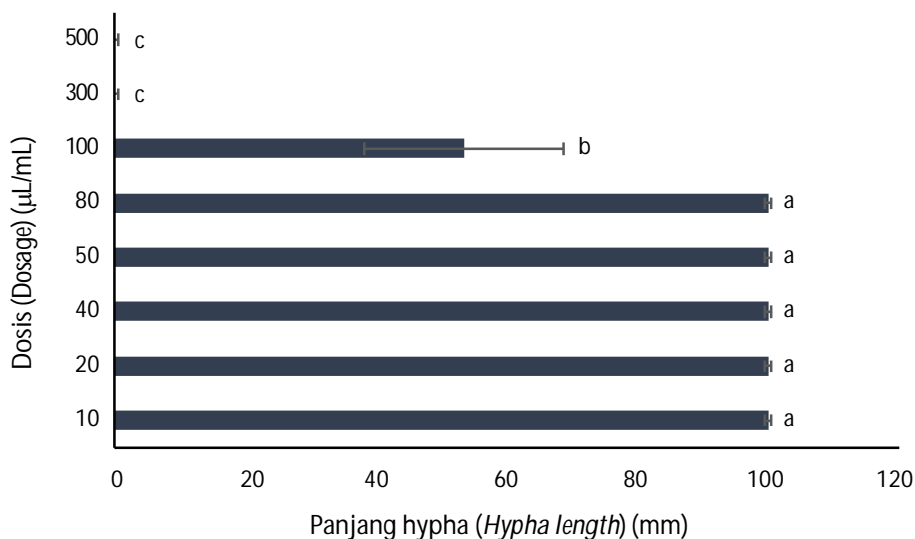
Mekanisme sifat anti-bakteri dari tanaman obat herbal karena adanya kemampuan dari bahan aktif tanaman obat herbal yang mampu menurunkan integritas dan permeabilitas dari dinding sel bakteri target (Chitemerere & Mukanganyama, 2014). Penurunan integritas dan permeabilitas bakteri diakibatkan adanya interaksi antara bahan aktif dengan membran bakteri, sebagai contoh polifenol mampu merubah struktur membrane protein sedangkan saponin mampu merubah struktur dari membrane kolesterol (Wink, 2015).

Efektivitas kombinasi tanaman obat herbal untuk anti-jamur menunjukkan bahwa penambahan kombinasi tanaman obat herbal pada dosis 100 µL/mL mampu menghambat pertumbuhan hypha jamur hingga

50%. Penambahan dosis yang lebih tinggi, menyebabkan jamur tidak mampu lagi tumbuh pada saat uji *in vitro* (Gambar 1).

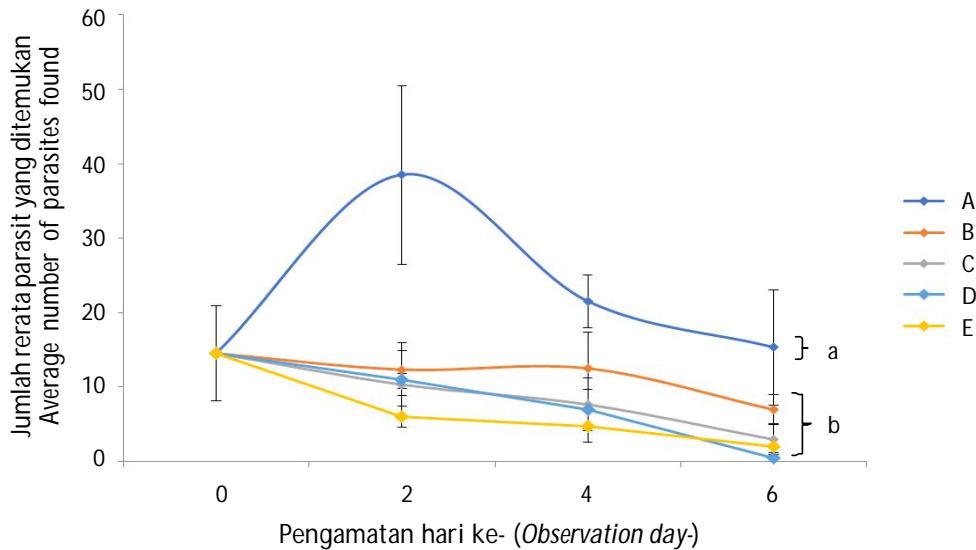
Belum ada studi tentang penggunaan kombinasi tanaman obat herbal terhadap aktivitas anti-jamur, namun studi penggunaan tanaman obat herbal tunggal terhadap jamur sudah dilakukan oleh beberapa peneliti. Studi secara *in vitro* sebelumnya menyebutkan bahwa buah jambu biji mempunyai aktivitas anti-jamur paling baik dibandingkan bagian lainnya saat diekstrak menggunakan pelarut methanol, sedangkan daun menunjukkan aktivitas antifungal yang sama dengan buah saat diekstrak menggunakan pelarut ethanol (Pandey & Shweta, 2011). Buah mengkudu menunjukkan aktivitas antifungal secara *in vitro* terhadap *Candida albicans*, dan dapat digunakan tanpa efek samping (Alsaeed, 2013), namun belum ada laporan tentang penggunaan daun mengkudu terhadap penyakit akibat jamur sebelumnya. Pada ekstrak daun pepaya dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium spp.* dan *Colletotrichum gloeosporioide* (Chávez-Quintal *et al.*, 2011).

Efektivitas tanaman obat herbal sebagai antiparasitik belum banyak dikaji. Pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan kombinasi tanaman obat herbal mampu menurunkan jumlah parasit yang menempel pada ikan uji secara signifikan (Gambar 2). Jumlah parasit menurun dibandingkan awal pemberian tanaman obat herbal, hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi tanaman obat herbal berpotensi digunakan sebagai pengendali parasit pada budidaya ikan lele. Jenis yang dapat



Gambar 1. Aktivitas anti-jamur dari kombinasi tanaman obat herbal yang digambarkan melalui pengamatan pertumbuhan hypha. Dosis: 10, 20, 40, 50, 80, 100, 300, dan 500 µL.mL⁻¹.

Figure 1. Anti-fungal activity of medicinal herbs combination through hypha observation by dose 10, 20, 40, 50, 80, 100, 300, and 500 µL.mL⁻¹.



Gambar 2. Aktivitas anti-parasit kombinasi tanaman obat herbal yang digambarkan melalui pengamatan keberadaan parasit. A: kontrol; B: 1 g.L⁻¹; C: 2 g.L⁻¹; D: 4 g.L⁻¹/L; E: 5 g.L⁻¹.

Figure 2. Anti-parasitic activity of medicinal herbs combination by parasite existence observation. A: Control; B: 1 g.L⁻¹; C: 2 g.L⁻¹; D: 4 g.L⁻¹/L; E: 5 g.L⁻¹.

diamati pada saat perhitungan parasit adalah dari kelompok *Trichodina*, *Gyrodactylus*, dan *Dactylogyrus*.

Uji Dosis

Informasi tentang dosis tanaman obat herbal yang mampu diterima oleh ikan lele mutiara sangat diperlukan sebagai dasar pemberian kombinasi tanaman obat herbal secara *in vivo* pada saat uji aplikasi di lapangan atau uji skala akuarium. Berdasarkan perhitungan metode probit didapatkan bahwa nilai konsentrasi yang mengakibatkan kematian (Lethal Concentration/LC₅₀) adalah pada pemberian dosis 1,82 g.L⁻¹. Nilai tersebut didapatkan setelah pengamatan kematian selama tujuh hari (Tabel 2).

Plotting dari hasil pengamatan di gambarkan pada Gambar 3.

Selanjutnya dengan memasukkan hasil plotting dari gambar 3 pada persamaan garis $y = 4,3849x + 3,8733$, nilai y dianggap 5 sesuai dengan nilai probit 50%.

$$5 = 4.3849x + 3.8733$$

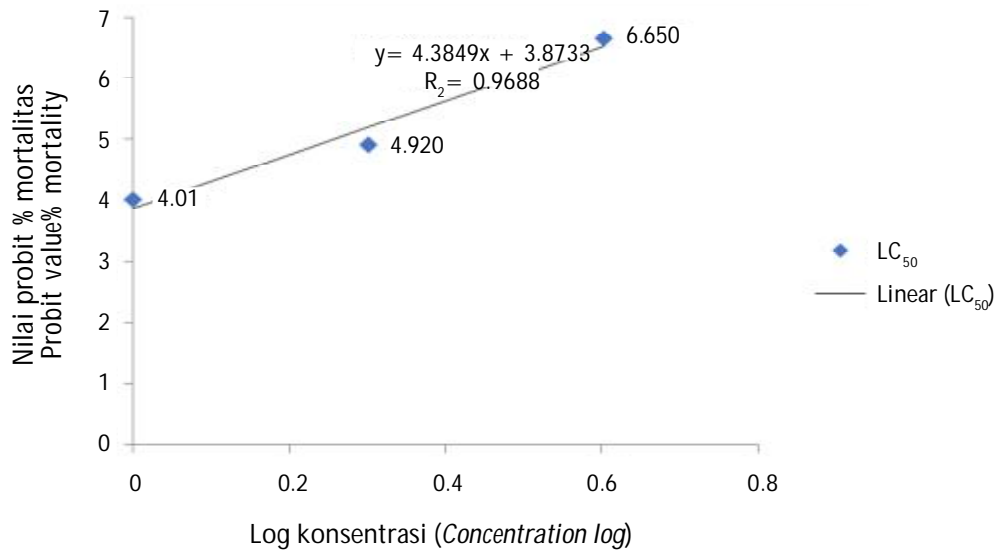
$$X = \frac{(5 - 3.8733)}{4.3849}$$

$$= 0.26$$

Dengan demikian Nilai LC₅₀ merupakan antilog nilai X, Antilog 0,26 = 1,82 Jadi LC₅₀ = 1,82 g/liter

Tabel 2. Penghitungan nilai LC₅₀ pada pengamatan kematian ikan lele pada hari ketujuh
Table 2. LC₅₀ calculation result on catfish mortality on seven days post treatment observation

Dosis Dose (g/L)	Log konsentrasi Log of concentration	Total ikan yang diuji Number of test fish	Mortalitas Mortality	% mortalitas % mortality	Koreksi % mortalitas Correction % of mortality	Nilai probit % mortalitas Probit value of mortality
0	-	20	1	5	-	-
1	0	20	4	20	16	4.01
2	0.301	20	10	50	47	4.92
4	0.602	20	19	95	95	6.65
5	0.699	20	20	100	100	-
Jumlah	1.602		100	54		



Gambar 3. Persamaan garis hubungan antara Log konsentrasi dengan nilai probit % mortalitas.

Figure 3. The equation of the line of the relationship between the Log concentration and the probability value of % mortality.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aplikasi tanaman obat herbal melalui metode perendaman sangat perlu memperhatikan dosis yang digunakan. Hal ini diduga karena adanya gangguan terhadap proses osmoregulasi dari ikan pada saat media budidaya mengandung bahan aktif dari tanaman obat herbal.

Penggunaan tanaman obat herbal sudah banyak diteliti oleh studi-studi sebelumnya. Daun jambu biji, daun sirih, meniran, bawang putih dan daun sambiloto sudah diteliti untuk mengatasi penyakit akibat bakteri patogen *A. hydrophila* (Angka, 2005; Dwi, 2000; Wahjuningrum et al., 2010). Penggabungan beberapa tanaman obat herbal terlihat sangat berpotensi dalam pengendalian penyakit yang disebabkan oleh agen yang berbeda, informasi ini dibutuhkan dikarenakan dalam kegiatan budidaya sering ditemukan adanya "secondary infection" yang membahayakan kegiatan budidaya.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi keenam tanaman obat herbal dengan perbandingan yang digunakan mampu bersifat sebagai antibakteri, anti-fungal, dan anti-parasitik. Penggunaan dosis untuk pengobatan ikan lele perlu diperhatikan agar konsentrasi tanaman obat herbal yang diberikan tetap aman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan, Bogor tahun anggaran DIPA 2016. Terima kasih tak terhingga kepada Saudara Edy Farid, Ahmad Wahyudi, Setiadi, Johan Afandi, dan Dadi Pratama atas bantuannya selama pelaksanaan kegiatan penelitian.

DAFTAR ACUAN

- Alsaheed, A. (2013). Review of studies on biological activities and medical use of *Morinda citrifolia* (Noni). *International Journal of Tropical Medicine*, 8, 99-108.
- Angka, S.L. (2005). *Kajian penyakit MAS pada ikan lele dumbo patologi, pencegahan dan pengobatan dengan fitofarmaka*. Institute Pertanian Bogor.
- Aravind, G., Bhowmik, D., Duraivel, S., & Harish, G. (2013). Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(1), 7-15.
- Aruljothi, S., Uma, C., Sivagurunathan, P., & Bhuvaneshwari, M. (2014). Investigation on antibacterial activity of *Carica Papaya* leaf extracts against wound infection-causing bacteria. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 2(11), 8-12.

- Caruso, D., Lusiastuti, A.M., Slembrouck, J., Komarudin, O., & Legendre, M. (2013). Traditional pharmacopeia in small scale freshwater fish farms in West Java, Indonesia: An ethnoveterinary approach. *Aquaculture*, 416-417, 334-345. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.048>.
- Chávez-Quintal, P., González-Flores, T., Rodríguez-Buenfil, I., & Gallegos-Tintoré, S. (2011). Antifungal activity in ethanolic extracts of *Carica papaya* L. cv. maradol leaves and seeds. *Indian Journal of Microbiology*, 51(1), 54-60.
- Chitemerere, T.A. & Mukanganyama, S. (2014). Evaluation of cell membrane integrity as a potential antimicrobial target for plant products. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(278), 1-8. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-278>
- Chukwuka, K.S., & Ojo, O.M. (2014). Extraction and characterization of essential oils from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 1(4), 1-5.
- Daud, M.F., Sadiyah, E.R., & Rismawati, E. (2002). Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) berdaging buah putih. *Prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi, Dan Kesehatan*, 55-62.
- Dwi, G. (2000). *Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji, (Psidium guajava L.), Sambiloto (Andrographis paniculata (Burm. F.) Nees) Dan Sirih (Piper betle L.). Terhadap Infeksi Bakteri Aeromonas hydrophila Pada Ikan Patin (Pangasius hypophthalmus)*. Institute Pertanian Bogor.
- Gutiérrez, R.M.P., Mitchell, S., & Solis, R.V. (2008). *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 117, 1-27.
- Kotob, M.H., Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Abdelzaher, M., & El-Matbouli, M. (2016). The impact of co-infections on fish: A review. *Veterinary Research*, 47(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0383-4>.
- Lusiastuti, A.M. & Taukhid, T. (2012). *Direktori Herbal untuk Pengelolaan Kesehatan Ikan Air Tawar*. IPB Press, 75 hlm.
- Mailoa, M.N., Mahendradatta, M., Laga, A., & Djide, N. (2014). Antimicrobial activities of tannins extract from guava leaves (*Psidium guajava* L) on pathogens microbial. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 3(1), 236-241.
- Otusanya, O. & Ilori, O. (2012). Phytochemical Screening and the Phytotoxic Effects of Aqueous Extracts of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. *International Journal of Biology*, 4(3), 97-101. <https://doi.org/10.5539/ijb.v4n3p97>.
- Pandey, A. & Shweta, S. (2011). Antifungal properties of *Psidium guajava* leaves and fruits against various pathogens. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 13(13), 6.
- Peter, J.K., Kumar, Y., Pandey, P., & Masih, H. (2014). Antibacterial activity of seed and leaf extract of *Carica papaya* var. Pusa dwarf Linn. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(2), 29-37.
- Tomás, J.M. (2012). The main *Aeromonas* pathogenic factors. *ISRN Microbiology*, 2012, 1-22. <https://doi.org/10.5402/2012/256261>.
- Turker, H., Yildirim, A.B., & Karaka, F.P. (2009). Sensitivity of bacteria isolated from fish to some medicinal plants. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.*, 9, 181-186. <https://doi.org/10.4194/trjfas.2009.0209>.
- Wahjuningrum, D., Solikhah, E.H., Budiardi, T., & Setiawati, M. (2010). Pengendalian infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan campuran meniran (*Phyllanthus niruri*) dan bawang putih (*Allium sativum*) dalam pakan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 9(2), 93-103.
- Wink, M. (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2, 251-286. <https://doi.org/10.3390/medicines2030251>.