

PATOGENISITAS BAKTERI *Aeromonas hydrophila* ASB01 PADA IKAN GABUS (*Ophicephalus striatus*)

(*The Pathogenicity of Aeromonas hydrophila ASB01 on Snakehead
(Ophicephalus striatus)*)

Olga

Jurusan Budidaya Perairan - Fakultas Perikanan - Universitas Lambung Mangkurat,
Banjarbaru Kalimantan Selatan

E-mail: olgarahman@yahoo.co.id

Abstract

The study was aimed to know the pathogenicity and development of disease symptom caused by A. hydrophila ASB01 on Snakehead. The virulence of A. hydrophila ASB01 increased as many as three fold. Furthermore, pathogenicity test done as many as 0.1 ml/fish from density of bacteria 1.69×10^{11} cfu/ml, 1.69×10^{10} cfu/ml, 1.69×10^9 cfu/ml, 1.69×10^8 cfu/ml, 1.69×10^7 cfu/ml, 1.69×10^6 cfu/ml, 1.69×10^5 cfu/ml, 1.69×10^4 cfu/ml and 1.69×10^3 cfu/ml. Control was injected by PBS pH 7.4. Parameters to be controlled were development of disease symptom, LD₅₀, and Mean Time to Death (MTD). The results of pathogenicity test showed that development of disease symptom to snake head was infected by A. hydrophila ASB01 and have similarity with disease symptom caused by A. hydrophila. Whereas MTD was 1.00 – 4.83 days after infected and the estimation of bacteria density to LD₅₀ was $2,69 \times 10^5$ cfu/ml. The increment of bacteria density infected to snakehead could cause development of disease symptom was seriously increasing in condition and could make shorter of MTD.

Key words: *Aeromonas hydrophila ASB01, Pathogenicity, Snakehead.*

Pendahuluan

Penyakit bakterial pada ikan, khususnya yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*, mulai dikenal di Indonesia sejak tahun 1980. Pada tahun tersebut bakteri ini menyebabkan wabah penyakit ikan karper di Jawa Barat, dan mengakibatkan kematian ikan sebanyak 125 ton (IDRC, 1983 di dalam Triyanto, 1988). Sejak wabah tersebut, penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* selalu timbul secara berkala dan kerugian yang diakibatkannya sangat besar sehingga menghambat usaha pengembangan

budidaya ikan (Nitimulyo *et al.*, 1997). Di samping itu juga dilaporkan, bahwa bakteri yang sama menimbulkan wabah penyakit pada lele (*Clarias* sp) dan nila (*Oreochromis niloticus*) (Taukhid, 1981), tawes (*Puntius javanicus*) (Hardjautomo *et al.*, 1981 di dalam Mulia, 2003), gurami (*Osphronemus gouramy*) (Supriyadi *et al.*, 1995) dan ikan gabus (*Ophicephalus striatus*) di Kalimantan Selatan (Olga & Fatmawati, 2008). Menurut Alapide-Tendencia & de la Pena (2001) *A. hydrophila* merupakan agen causatif yang menginfeksi ikan nila, bandeng (*Chanos chanos*), ikan mas (*Carrasius auratus*),

lele (*Clarias batrachus*), gabus, goby (*Glossogobius guirus*), betok (*Anabas testudineus*), Sepat (*Trichogaster* sp) dan belanak (*Mugil cephalus*). Selain menyerang ikan, bakteri ini juga dilaporkan menyerang ular, kura-kura (Post, 1983) dan buaya (Newman, 1982), bahkan berpotensi menyerang manusia (Stevenson, 1988). *A.hydrophila* dapat menyebabkan diare pada manusia (Fraizier *et al.*, 1988 di dalam Mulia 2003).

Kemampuan *A.hydrophila* dalam menimbulkan penyakit cukup tinggi. Patogenisitas yang ditunjukkan dengan LD₅₀ cukup bervariasi, yaitu berkisar antara 10⁴ – 10⁶ sel/ml (Saroni *et al.*, 1993). Bakteri *A.hydrophila* dapat ditemukan dimana-mana, terutama di perairan yang mengandung bahan organik tinggi. Disamping itu, bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 4 – 45 °C, meskipun lambat dan tumbuh optimum pada suhu 37 °C (Farmer *et al.*, 2000). Bakteri *A.hydrophila* menghasilkan bermacam-macam enzim, seperti gelatinase, caseinase, elastase, lipase, lecithinase, staphylolyase, deoxyribonuclease dan ribonuclease. Selain itu, *A.hydrophila* menghasilkan bermacam-macam toksin antara lain eksotoksin, seperti α dan β hemolisin, cytotoxin, enterotoksin dan endotoksin, yaitu LPS (Lipopolisakarida) (Roberts, 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenisitas bakteri *A.hydrophila* dan perkembangan gejala penyakit yang ditimbulkannya pada ikan gabus.

Bahan dan Metode

1. Penyediaan Isolat Bakteri *A.hydrophila* ASB01

Isolat *A.hydrophila* ASB01 diisolasi dari ikan gabus berpenyakit di Sungai Buluh Kabupaten Hulu Sungai Tengah KalSel yang selanjutnya dikoleksi Laboratorium Hama dan

Penyakit Ikan Fakultas Perikanan Unlam, Banjarbaru. Virulensi bakteri ditingkatkan dengan reinfeksi pada ikan sebanyak tiga kali. Setiap dilakukan reinfeksi, juga dilakukan reisolasi bakteri. Selanjutnya bakteri diinokulasi ke medium selektif *Pseudomonas-Aeromonas*, yaitu GSPA (*Glutamate Starch Phenol-red Agar*; Merck) dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

2. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah ikan gabus yang berukuran 13 – 15 cm, berat 15-20 g, yang diperoleh dari petani ikan di desa Sungai Rangas, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. Gabus yang digunakan untuk meningkatkan virulensi *A.hydrophila* ASB01 sebanyak 15 ekor dan untuk uji patogenisitas sebanyak 300 ekor.

3. Preparasi uji Patogenisitas

Suspensi bakteri dalam medium TSB (*Tryptone Soya Broth*; Oxoid) diencerkan secara bertingkat dalam larutan PBS (*Phosphate buffer Saline*) pH 7,4. Kemudian diinokulasi pada medium GSPA dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 – 24 jam. Konsentrasi bakteri dihitung dengan metode *total plate count* (Jutono *et al.*, 1980 di dalam Olga & Fatmawati, 2008) untuk mengetahui kepadatan bakteri yang diinfeksi dalam uji LD₅₀. Selain itu, suspensi bakteri sebanyak 0,1 ml/ikan pada tingkat kepadatan 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹, 10¹⁰, dan 10¹¹ cfu/ml diinfeksi secara intramuskular pada 10 ekor ikan gabus, sedangkan kontrol diinjeksi PBS pH 7,4 sebanyak 0,1ml/ikan. Perlakuan uji patogenisitas untuk menentukan LD₅₀ dan kontrol ini diulang 3 kali. Selanjutnya ikan gabus dipelihara dalam ember berkapasitas 20 liter. Perkembangan gejala penyakit dan mortalitas ikan uji diamati selama 7 hari.

4. Parameter yang diamati meliputi:

- a. Perkembangan gejala penyakit diamati dengan metode deskriptif.
- b. Rerata Waktu Kematian (RWK) dihitung menurut Hanggono (1997 *di dalam* Dwiyono, 1999) dengan menggunakan rumus:

$$RWK = \frac{\sum_{i=1}^n a_i b_i}{\sum_{i=1}^n b_i}$$

Keterangan:

a = waktu kematian (hari)

b = jumlah ikan yang mati (ekor)

- c. Lethal Dosis yang membunuh ikan sebanyak 50 % (LD₅₀) dihitung dengan metode Reed & Muench (1938 *di dalam* Anderson, 1974) dengan rumus:

$$\text{LogLD}_{50} = a - \frac{(b - 50)}{(b - c)}$$

Keterangan:

a = Log \sum bakteri di atas LD₅₀

b = % mortalitas di atas 50 %

c = % mortalitas di bawah 50 %

- d. Parameter kualitas air, yaitu suhu, DO, CO₂ terlarut, Ammoniak dan pH sebagai parameter pendukung.

tingkat kepadatan (dosis) bakteri 1,69 x 10¹¹ cfu/ml; 1,69 x 10¹⁰ cfu/ml; 1,69 x 10⁹ cfu/ml; 1,69 x 10⁸ cfu/ml; 1,69 x 10⁷ cfu/ml dan 1,69 x 10⁶ cfu/ml memperlihatkan gejala penyakit yang sangat parah. Sedangkan pada dosis bakteri 1,69 x 10⁵ cfu/ml dan 1,69 x 10⁴ cfu/ml memperlihatkan gejala penyakit yang tidak terlalu parah. Sedangkan, ikan gabus yang diinfeksi dengan dosis bakteri 1,69 x 10³ cfu/ml dan kontrol tidak menunjukkan gejala terserang penyakit.

Perkembangan gejala penyakit yang terlihat secara eksternal, yaitu mula-mula kulit tampak pucat, dan beberapa jam kemudian terjadi pembengkakan dan luka pada bekas injeksi di bagian dorsal tubuh ikan. Hari berikutnya mulai terjadi hemorragik pada tubuh, sirip patah-patah (geripis) dan berwarna pucat, serta keseimbangan tubuh ikan terganggu, sehingga ikan sering berenang lemah ke permukaan air dan cenderung menyendiri. Lebih lanjut pada ikan yang mati gejala internal yang teramati, yaitu empedu lembek dan mudah pecah, saluran pencernaan kosong berisi cairan, hati merah kecoklatan, ginjal merah dengan tepi kehitaman, selain itu terdektesi ginjal merah pucat pada ikan gabus mati lainnya. Hasil reisolasi bakteri dari ginjal ikan mati ke medium GSPA menunjukkan ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Sedangkan pada gabus kontrol, ginjal berwarna merah darah dan saluran pencernaan berwarna putih. Menurut Mirayaki *et al.* (1985 *di dalam* Triyanto, 1988) menyatakan bahwa kerusakan tersebut disebabkan oleh terakumulasinya bakteri dan toksin yang dihasilkannya.

Ada kemiripan gejala-gejala penyakit dalam penelitian ini dengan gejala infeksi *A. hydrophila* pada ikan gurami (Mulia *et al.* 2009). Dalam penelitian tersebut dilaporkan bahwa infeksi *A. hydrophila* dapat menyebabkan gejala eksternal

Hasil dan Pembahasan

1. Perkembangan Gejala Penyakit

Hasil perkembangan gejala penyakit yang diakibatkan oleh infeksi *A. hydrophila* ASB01 pada gabus, baik yang disebabkan oleh dosis suspensi bakteri yang tinggi maupun dosis yang rendah secara umum tidak menunjukkan perbedaan yang menyolok. Akan tetapi tingkat keparahan yang ditimbulkannya berbeda-beda. Semakin tinggi dosis suspensi bakteri yang diinfeksi, semakin parah gejala penyakit yang ditimbulkannya. Hal ini dapat diamati pada ikan gabus yang diinfeksi pada

munculnya bercak-bercak putih pada tubuh ikan, mukus di seluruh tubuh berkurang, perut mengembung bengkak dan berwarna putih kekuningan. Sirip dada memutih dan terdapat bercak-bercak merah. Sirip punggung geripis, daerah bekas suntikan luka dan mengembung. Gerakan tubuh melemah, berenang kurang aktif, mengapung di permukaan air atau berenang di dasar. Gejala internal yang timbul akibat infeksi *A. hydrophila* antara lain adanya cairan kuning di rongga perut, ginjal berwarna merah pucat dan lembek, hati merah kecoklatan, jantung, insang, usus pucat, lambung mengembung berisi air. Otot menjadi lembek dan mudah rusak. Menurut Alapide-Tendencia & de la Pena (2001) gejala eksternal yang disebabkan MAS bervariasi dari perubahan warna tubuh ikan yang

menjadi lebih gelap, kemerah-merahan yang meluas pada bagian abdominal, sering disertai nekrosis pada sirip dan ekor, ulcer. Gejala lainnya, yaitu kehilangan sisik, mulut terluka, exophthalmia. Secara internal ada dropsy, hyperemia dan penyumbatan pada organ internal.

2. Rerata Waktu kematian (RWK)

Hasil perhitungan RWK didapatkan bahwa ikan mati tercepat terjadi pada dosis kepadatan bakteri $1,69 \times 10^{11}$ cfu/ml, $1,69 \times 10^{10}$ cfu/ml dan $1,69 \times 10^9$ cfu/ml, yaitu 1 hari. Selanjutnya jumlah ikan perlakuan yang mati semakin menurun dengan menurunnya dosis kepadatan bakteri yang diinfeksi. Hasil perhitungan RWK selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Waktu Kematian (RWK) ikan gabus selama uji patogenisitas bakteri *A. hydrophila* ASB01

Perlakuan (cfu/ml)	Rerata Waktu Kematian tiap ulangan (hari)			RWK (hari)
	1	2	3	
$1,69 \times 10^{11}$	1,00	1,00	1,00	1,00
$1,69 \times 10^{10}$	1,00	1,00	1,00	1,00
$1,69 \times 10^9$	1,00	1,00	1,00	1,00
$1,69 \times 10^8$	1,33	1,22	1,29	1,28
$1,69 \times 10^7$	2,50	2,38	2,14	2,34
$1,69 \times 10^6$	2,57	2,20	2,29	2,35
$1,69 \times 10^5$	3,50	3,75	3,50	3,58
$1,69 \times 10^4$	5,50	5,00	4,00	4,83
$1,69 \times 10^3$	0,00	0,00	0,00	0,00
Kontrol	0,00	0,00	0,00	0,00

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa hari kematian ikan setelah diinfeksi *A. hydrophila* amat singkat, yaitu berkisar antara 1,00 – 4,83 hari. Selain itu juga menunjukkan bahwa hari mulai terjadinya kematian yang diakibatkan *A. hydrophila* pada dosis tinggi dan pada dosis yang rendah hanya selisih satu atau empat hari saja. Singkatnya rerata waktu kematian kemungkinan disebabkan oleh patogenisitas bakteri. Di samping itu, diduga karena metode infeksi dilakukan

secara intramuskular yang menyebabkan bakteri langsung masuk ke dalam tubuh ikan gabus secara sistemik, yaitu melalui pembuluh darah masuk ke dalam peredaran darah. Metode infeksi bakteri ke dalam tubuh ikan dapat dilakukan secara rendaman dan injeksi secara intramuscular dan intraperitoneal. Apabila diinfeksi secara rendaman waktu kematian lebih lama. Triyanto (1988) melaporkan bahwa rerata waktu kematian pada jenis ikan lain, yaitu lele lokal yang diinfeksi dengan

A. hydrophila secara rendaman selama 60 menit adalah 5 – 10 hari. Selain disebabkan patogenisitas, *serotype* dan *biotype* maupun metode infeksi, kecepatan rerata waktu kematian juga tergantung dari daya tahan tubuh masing-masing individu ikan dan juga spesies ikan yang terinfeksi.

3. Patogenisitas

Berdasarkan uji patogenisitas dan perhitungan menurut Reed & Muench (1938 di dalam Anderson 1974) diperoleh estimasi kepadatan suspensi *A. hydrophila* pada tingkat kepadatan $2,69 \times 10^5$ cfu/ml mengakibatkan kematian sebesar 50 %. Hasil uji patogenisitas bakteri *A. hydrophila* dengan berbagai tingkat kepadatan pada ikan gabus ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Patogenisitas bakteri *A. hydrophila* ASB01 terhadap ikan Gabus

Perlakuan (cfu/ml)	Jumlah ikan (ekor)			Tingkat Kematian	
	Ikan uji	Ikan mati	Ikan hidup	Rasio	%
$1,69 \times 10^{11}$	10	10,00	0,00	10,00/10	100
$1,69 \times 10^{10}$	10	10,00	0,00	10,00/10	100
$1,69 \times 10^9$	10	9,33	0,67	9,33/10	93,30
$1,69 \times 10^8$	10	8,33	1,67	8,33/10	83,30
$1,69 \times 10^7$	10	7,00	3,00	7,00/10	70,00
$1,69 \times 10^6$	10	6,33	3,67	6,33/10	63,33
$1,69 \times 10^5$	10	4,67	5,33	4,67/10	46,70
$1,69 \times 10^4$	10	2,33	7,67	2,33/10	23,30
$1,69 \times 10^3$	10	0,00	10,00	0,00/10	0,00
Kontrol	10	0,00	10,00	0,00/10	0,00

Hasil estimasi kepadatan suspensi bakteri dalam uji patogenisitas untuk penentuan LD₅₀ dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan hasil penelitian lainnya dengan menggunakan jenis ikan lain. Murtiningsih (2003) LD₅₀ strain Cangkringan sebesar $4,9 \times 10^9$ cfu/m pada lele dumbo; Olga & Rini (2006) strain AP02 sebesar $7,87 \times 10^7$ cfu/ml pada patin, Hayati *et al.* (2012) strain BGB01 pada betok sebesar $2,07 \times 10^6$ sel. Perbedaan ini kemungkinan oleh adanya perbedaan *serotype* dan *biotype* bakteri, spesies ikan dan suhu. Suhu air selama penelitian ini berkisar antara 25,5 – 30,5 °C. Suhu air di tempat pemeliharaan ikan Murtiningsih (2003) berkisar antara 25 – 28,5 °C, sedangkan Olga & Rini (2006) 26 – 30,5 °C. Anonim (1980 di dalam Triyanto, 1988) menyatakan bahwa virulensi atau kemampuan bakteri meningkat dengan meningkatnya suhu. Disamping itu ada kemungkinan pula disebabkan

perbedaan dalam produksi enzim dan toksin, karena isolat yang digunakan berbeda. Pendapat ini didukung oleh Jutono *et al.* (1971 di dalam Triyanto, 1988) bahwa virulensi bakteri dipengaruhi oleh produksi enzim dan toksin dari sel-sel bakteri itu sendiri.

Menurut Lallier dan Daigneault (1984 di dalam Mulia, 2003) yang mengelompokkan *A. hydrophila* menjadi bakteri virulen dan non virulen. Isolat *A. hydrophila* dengan LD₅₀ sebesar $10^{4,5} - 10^{5,5}$ cfu/ml dinyatakan virulen sedangkan isolat *A. hydrophila* dengan LD₅₀ sebesar 10^7 cfu/ml atau lebih dinyatakan nonvirulen. Dengan demikian isolat *A. hydrophila* ASB01 termasuk ke dalam golongan strain yang virulen.

4. Kualitas Air

Selama masa penelitian, suhu air 25,5 – 30,5 °C, DO 3,2 – 7,7 ppm, CO₂ terlarut 4,5 – 27,07 ppm, pH 6,9 – 7,3

dan NH₃-N 0,0018 – 0,0298 ppm. Secara umum kualitas air yang teramati masih dalam kisaran yang mendukung kehidupan ikan gabus.

Kesimpulan

Perkembangan gejala penyakit pada gabus yang diinfeksi *A. hydrophila* dalam uji patogenesis serupa dengan gejala penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Peningkatan kepadatan bakteri yang diinfeksi pada gabus mengakibatkan perkembangan gejala penyakit semakin parah dan rerata waktu kematian yang semakin singkat. Lethal dosis yang dapat mematikan ikan gabus sebesar 50 % (LD₅₀) adalah pada tingkat kepadatan bakteri 2,69 x 10⁵ cfu/ml.

Daftar Pustaka

- Alapide-Tendencia, E.V & L.D. de la Pena, 2001. Bacterial Diseases. In: *Health Management in Aquaculture* (G.D.Lio-po, C.R.Lavilla & E.R.Cruz-Lacierda, eds). Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Centre, Philippines. 25 – 41
- Anderson, D.P., 1974. Fish Immunology. In: *Disease of Fishes*. Vol. 4. T.F.H.Publication. Inc Ltd.The British Crown Colony of Hongkong.
- Dwiyono,J., 1999., Perkembangan Daya Tahan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Divaksin *Aeromonas hydrophila* Dengan Jenis Antigen-H dan Antigen-O. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tidak dipublikasi.
- Farmer, J.J., M.J.Arduino, & F.w.Brenner-Hickman, 2000. The Genera *Aeromonas* and *Pleisiomonas*. In: *The Prokariot*, second edition, Vol. IV. (Balows, A., H.G.Truper, M.Dworkin, W.Harder, K.H Scileifet, eds). Springer-Verlag.
- Hayati, J., W.Susanti, B.S.Sihananto & Olga, 2012. Vaksin *Aeromonas hydrophila* BGB01 Jenis Antigen H dan Antigen O untuk Mengendalikan MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada Ikan Betok (*Anabas testudineus*). Buku Panduan Seminar Nasional Tahunan IX Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan Tahun 2012. PL-07 hal 26
- Mulia, D.S., 2003. Pengaruh Vaksin Debris Sel *Aeromonas hydrophila* Dengan Kombinasi Cara Vaksinasi dan Booster terhadap Respon Imun dan Tingkat Perlindungan Relatif pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). *Tesis*. PPs Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tidak dipublikasi.
- Mulia, D.S., C.Purbomartono, & J.R.Wulandari, 2009. Optimasi Dosis Protein Sitoplasma Sel *Aeromonas hydrophila* untuk Pengendalian Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). *Sains Akuatik. Jurnal Ilmu-ilmu Perairan*, 12(1):27 - 38
- Murtiningsih, 2003. Penggunaan Vaksin Protein Sitoplasma Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tidak dipublikasi.
- Newman, S.G. 1982. *Aeromonas hydrophila*. A.Review with Emphasis on Its Role in Fish Disease. In: *Les Antigènes des Microorganismes Pathogenes des Poissons Symposium International de Talloires*. Anderson, M.Dorson & P.H.Dubourget, Eds). pp.87 – 117

- Nitimulyo, K.H., Triyanto, & S.Hartati, 1997. Uji Antigenisitas dan Efikasi *Aeromonas hydrophila* pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J.Fish.Sci.)*, 1 (2): 9 – 16
- Olga & R.K.Rini, 2006. Penggunaan Vaksin *Whole Cell* untuk Pengendalian Penyakit Mas (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Agroscentia: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian*, 13(1): 48 – 54
- Olga & Fatmawati, 2008. Penyediaan Ikan Gabus (*Channa striata*) Bebas *Aeromonas hydrophila* melalui Vaksinasi. *Laporan Hibah Research Grant. Program I-MHERE B.1 Batch II UNLAM. Fakultas Perikanan UNLAM. Banjarbaru.*
- Post, G. 1983. *Textbook of Fish Health*. TFH Publications. Hongkong.
- Roberts, R.J., 1993. Motile *Aeromonas Septicemia*. In: *Bacterial Disease of Fish* (Inglis.V., R.J.Robert and N.R.Bromage, eds). Blackwell Scientific Publication, London, pp. 143 – 155
- Sarono, A., K.H. Nitimulyo., I.Y.B Leluno, Widodo, N. Thaib, E.B.S. Haryani, S.Haryanto, Triyanto, Ustadi, A.N. Kusumahati, Novianti & S.W. Setianingsih. 1993. Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri. Kerjasama Pusat Karantina Pertanian dan Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM. Yogyakarta
- Stevenson, R.M.W., 1988. Vaccination against *Aeromonas hydrophila*. In: *Fish Vaccination*, (A.E.Ellis, ed.). Academic Press Ltd.London.pp.112 - 123
- Supriyadi, H., H.Mangunwiryo, Maryono & J.Effendi, 1995. Pencegahan Penyakit Bakterial Pada Ikan Gurame dengan cara vaksinasi. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 1(4): 28 – 35)
- Taukhid, P., 1981. Mengenal Beberapa Organisme Penyebab Penyakit pada Ikan Air Tawar serta Cara Pemberantasannya. *Warta Mina*, 63:18 – 21.
- Triyanto, 1988. Patologi dan Patogenesis Beberapa Isolat Bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap Ikan Lele (*Clarias batrachus* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tidak dipublikasi.