

Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri *Aeromonas* sp. pada Lele (*Clarias* sp.) di Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah

Isolation, Characterization and Identification of Aeromonas sp. on Catfish (Clarias sp.) in Banyumas Regency, Central Java

Noerhaliza Rachman Asriana Dwi¹, Dini Siswani Mulia^{2*}, Suwarsito³, Cahyono Purbomartono⁴

^{1,2}Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

^{3,4}Program Studi Akuakultur, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

*corr_author: dinisiswanimulia@ump.ac.id

ABSTRAK

Budidaya lele (*Clarias* sp.) cukup prospektif untuk terus dikembangkan, tetapi di lapangan sering mendapat kendala, salah satunya adalah penyakit bakterial. Infeksi bakteri patogen pada ikan dapat menyebabkan munculnya gejala klinis bahkan kematian. Oleh karena itu, perlu diketahui jenis bakteri penyebab lele sakit agar dapat dilakukan upaya pengendaliannya. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi, karakterisasi dan identifikasi bakteri penyebab penyakit pada lele. Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskriptif kualitatif dengan metode survei dan teknik pengambilan sampel menggunakan *purposive random sampling*. Pengambilan sampel ditentukan dari satu kolam budidaya lele di Desa Singasari dan Cikawung, Banyumas. Uji postulat Koch dilakukan untuk membuktikan isolat bakteri yang diisolasi merupakan bakteri penyebab penyakit pada lele. Isolat yang telah diuji postulat Koch kemudian diidentifikasi secara morfologi dan biokimiawi. Hasil isolasi bakteri diperoleh 17 isolat dari daerah Singasari dan Cikawung. Sebanyak tujuh isolat dari dua tempat tersebut dilakukan uji lanjut. Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa mortalitas ikan selama 14 hari pengamatan mencapai 60-100%. Gejala klinis eksternal yang muncul, yaitu hiperemia, hemoragik, depigmentasi, *white spot*, ulser, erosi, sirip progresif, abdominal dropsi, dan *exophthalmia color alteration*. Gejala klinis internal yang muncul, yaitu hati pucat, ginjal kehitaman, usus kehitaman, empedu pecah, insang pucat, edema, dan asites. Hasil karakterisasi secara morfologi dan biokimiawi berdasarkan *Bergeys's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition* diperoleh bahwa ketujuh isolat adalah bakteri *Aeromonas* sp., dengan kesamaan ciri, yaitu Gram negatif, fermentatif, katalase positif, oksidase positif, dan memproduksi gas.

Kata-kata kunci: *Aeromonas* sp., Identifikasi, Karakterisasi, Lele, Postulat Koch

ABSTRACT

Catfish (Clarias sp.) cultivation is prospective enough to continue to be developed, but in the field, it often encounters obstacles, one of which is bacterial disease. Pathogenic bacterial infections in fish can cause clinical symptoms and even death. Therefore, it is necessary to know the type of bacteria that causes sick catfish so that control efforts can be made. This study aims to isolate, characterize, and identify the bacteria that cause

disease in the catfish. The research carried out was descriptive qualitative research using survey methods and sampling techniques purposive random sampling. The sampling of fish was determined from one catfish cultivation pond in Singasari and Cikawung Villages in Banyumas District. The Koch's postulate test was carried out to prove that the bacterial isolates isolated were the bacteria that cause disease in the catfish. The isolates that had been tested for Koch's postulates were then identified morphologically and biochemically. The bacterial isolation results obtained were 17 isolates from the Singasari and Cikawung areas. A total of seven isolates from two places underwent further testing. The results of Koch's postulate test showed that fish mortality during the 14 days of observation was 60%-100%. External clinical signs that appear include hyperemia, hemorrhagic, depigmentation, white spot, ulcers, erosion, ragged tail fin, abdominal dropsy, and exophthalmia color alteration. Internal clinical signs that appear are pale liver, blackish kidneys, blackish intestines, broken bile, pale gills, edema, and ascites. The results of morphological and biochemical characterization are based on Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition. It was found that the seven isolates were *Aeromonas* sp., with similar characteristics, namely, Gram-negative, fermentative, catalase positive, oxidase positive, and producing-gas.

Keywords: *Aeromonas* sp., Catfish, Characterization, Identification, Koch's Postulates

PENDAHULUAN

Lele (*Clarias* sp.) merupakan salah satu produk perikanan air tawar yang potensial di Indonesia dan memiliki minat konsumsi yang cukup tinggi. Minat konsumsi yang cukup tinggi ini dapat berdampak pada perekonomian (Ferdian *et al.*, 2012). Menurut data statistik dari Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Banyumas (2022), konsumsi ikan lele di wilayah tersebut mencapai 568.440 kg pada tahun 2021. Jumlah ikan yang dikonsumsi meningkat 27% dari tahun 2020-2021. Jumlah pembudidaya lele di Kabupaten Banyumas juga meningkat sebagai akibat dari pertumbuhan konsumsi ikan ini. Setiap tahun, peningkatan ini akan terus bertambah. Produksi lele dumbo di Kabupaten Banyumas mengalami peningkatan dari tahun 2019 hingga 2021, yaitu dari 3.394.404 kg menjadi 3.627.523 kg (6,9%). Wilayah yang banyak membudidayakan lele di antaranya Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen dan Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas (Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Banyumas, 2022).

Budidaya lele di lapangan seringkali mendapatkan kendala. Serangan patogen yang membuat ikan sakit hingga mati menjadi salah satu kendala yang dihadapi para pembudidaya ikan (Sari *et al.*, 2012). *Aeromonas* adalah bakteri Gram negatif, bersifat anaerobik, yang banyak ditemukan di perairan seluruh dunia. *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, dan *A. veronii* sebelumnya telah dideskripsikan dengan baik sebagai patogen ikan yang ditularkan melalui stress yang menyebabkan penyakit *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS) (Cai *et al.*, 2012; Dias *et al.*, 2016; Hassan *et al.*, 2017; Mulia *et al.*, 2020; 2021; 2023). Adapun kerugian yang ditimbulkan dari serangan patogen ini antara lain kondisi fisik ikan yang mengalami kerusakan, seperti hemoragik, hiperemia, ulser, nekrosis, erosi, abses, abdominal dropsy, abdominal asites, sampai eksoptalmia (Mulia *et al.*, 2011; 2021; 2023; Semwal *et al.*, 2023).

Berdasarkan informasi yang diterima dari Bapak Kusbiono Jumadi R., S.Pt. saat berkunjung ke Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Banyumas pada tanggal 30 Mei 2022, kematian lele di Kabupaten Banyumas pada tahun 2020 mencapai 169.895 ekor (27%) dari total produksi 637.150 ekor. Sementara itu, pada tahun 2021 setidaknya ada 216.869 ekor (38%) dari total 577.980 ekor. Mayoritas kematian lele disebabkan oleh

penyakit. Ikan ini banyak dibudidayakan di Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen, dan Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas, keduanya di Kabupaten Banyumas. Di Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen, tercatat ada 12.300 ekor lele dumbo yang mati pada tahun 2020-2021 dari total produksi 29.000 ekor. Hal ini menunjukkan bahwa Desa Cikawung memiliki tingkat kematian ikan sebesar 42,2%. Sementara itu, pada tahun 2021 di Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas, tercatat sebanyak 37% ikan mati dari total produksi 177.000 ekor (Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Banyumas, 2022).

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, sangat penting melakukan penelitian mengenai identifikasi bakteri penyebab penyakit pada lele. Selain itu, perlu dilakukan pengujian terhadap bakteri untuk mengetahui seberapa ganas bakteri tersebut menyebabkan kematian pada ikan dengan uji postulat Koch, agar dapat dilakukan upaya pencegahan terhadap penyakit tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi, karakterisasi, dan identifikasi bakteri penyebab penyakit pada lele (*Clarias* sp.).

METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan metode survei dan teknik pengambilan sampel *purposive random sampling*, yaitu pengambilan sampel secara acak, dan telah ditentukan tempat serta jenis sampel yang akan digunakan (Mulia *et al.*, 2011). Penelitian dilaksanakan pada bulan Sampel ikan yang digunakan untuk isolasi bakteri adalah lele yang menunjukkan gejala penyakit. Lele sehat digunakan untuk uji postulat Koch. Bahan yang digunakan yaitu medium pertumbuhan *glutamate starch phenyl* (GSP), *trypticase soy broth* (TSB), *trypticase soy agar* (TSA), *triple sugar iron agar* (TSIA), *sulfur indol motility* (SIM), *methyl red-voges proskauer* (MR-VP), dan medium O/F; gula-gula (glukosa, sukrosa, laktosa, manitol, dan dekstrosa); reagen uji (oksidase, katalase, barits, kovacs, pewarnaan Gram), gliserol 20%, *phosphate buffer saline* (PBS), dan alkohol 70%. Alat utama yang digunakan yaitu tabung konikal, cawan petri, jarum ose, bunsen, timbangan analitik, autoklaf, *laminar air flow* (LAF), *shaker* inkubator, inkubator, mikropipet, gelas ukur, dan *stirring hot plate*.

1. Pengambilan Sampel

Sampel lele sakit diambil dari kolam budidaya di Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen dan Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas, Kabupaten Banyumas. Pengambilan sampel ditentukan dari satu kolam budidaya lele dan diambil secara acak 3 ekor ikan lele sakit. Selanjutnya, dilakukan tahap isolasi dan pemurnian bakteri di Laboratorium Mikrobiologi sampai diperoleh koloni yang seragam. Sampel diambil dari luka tubuh dan organ ginjal melalui pembedahan pada ikan yang terserang penyakit. Pada saat pengambilan sampel, juga dilakukan pengukuran parameter kualitas air, meliputi pH air, oksigen terlarut (*dissolved oxygen/DO*), dan suhu air.

2. Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Bakteri yang telah dikultur, selanjutnya diisolasi untuk mendapatkan kultur murni bakteri. Isolasi dan pemurnian dilakukan pada medium GSP dan dinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penyimpanan bakteri murni dilakukan dengan menggunakan medium TSB yang ditambah 20% gliserol disimpan dalam *cryotube 1,5 corning* dan selanjutnya disimpan dalam freezer pada suhu -20°C.

3. Uji Postulat Koch

Bakteri yang telah berhasil dimurnikan selanjutnya dilakukan uji postulat Koch. Pengujian dilakukan dengan menyuntik secara intramuskular masing-masing isolat bakteri

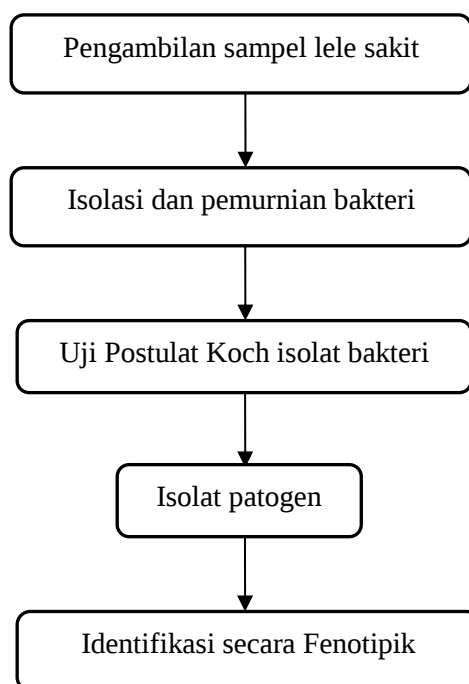
sebanyak 0,1 mL (kepadatan 10^6 CFU/mL) pada 10 ekor lele setiap ember yang dilakukan secara duplo. Pengamatan dan pencatatan dilakukan setiap hari selama 14 hari dengan memperhatikan gejala klinis eksternal dan internal. Apabila ada ikan yang sekarat atau mati, maka ikan tersebut langsung dibedah dan diamati bagian organ dalamnya.

4. Identifikasi secara Fenotipik

Pengamatan morfologi koloni dilakukan terhadap bakteri pada medium GSP dan TSA. Isolat bakteri hasil pemurnian selanjutnya dikultur dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Morfologi koloni yang diamati berupa ukuran, bentuk, elevasi, warna, tepi, dan tekstur permukaan koloni. Pengujian biokimiawi meliputi uji pewarnaan Gram, oksidase, katalase, O/F, TSIA, SIM, MR-VP, dan uji gula-gula (glukosa, laktosa, sukrosa, dekstrosa, manitol).

5. Analisis Data

Data hasil uji postulat Koch dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Identifikasi fenotipik dilakukan secara deskriptif dengan mencocokkan hasil karakterisasi morfologi dan biokimiawi bakteri yang dibandingkan dengan buku identifikasi bakteri *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition* (Brenner *et al.*, 2005). Diagram alir pelaksanaan penelitian tersaji pada Gambar 1.



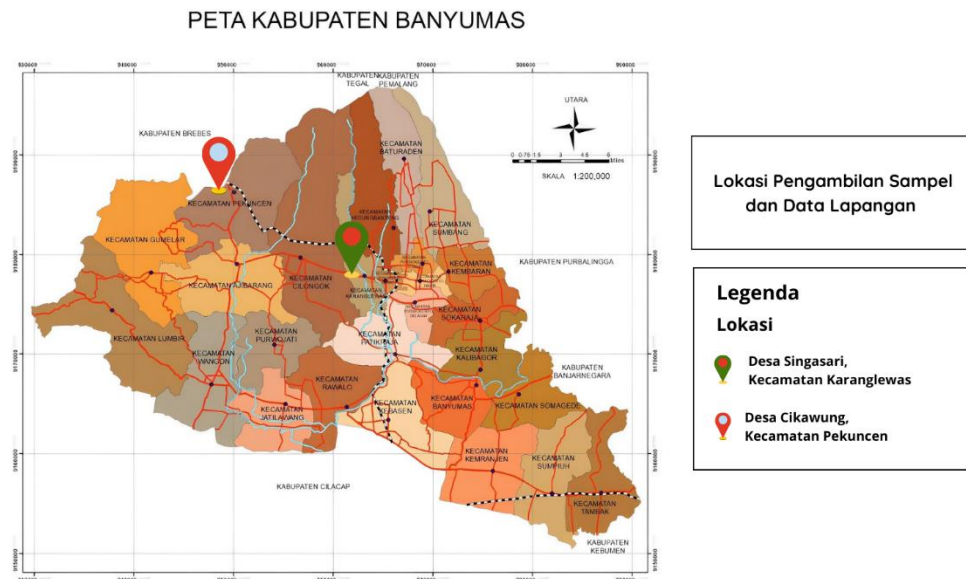
Gambar 1. Diagram alir pelaksanaan penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel lele sakit, yaitu Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas, dan Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen, Kabupaten Banyumas (Gambar 2). Pemilihan lokasi berdasarkan produksi lele di daerah tersebut, sementara titik pengambilan sampel didasarkan dari prosentase ikan sakit (Gambar 2). Kejadian penyakit

ikan di Desa Singasari yaitu 37% dari total produksi 177.000 ekor, sedangkan di Desa Cikawung yaitu 42,2% dari total produksi 29.000 ekor. Prosentase ini cukup tinggi dibandingkan dengan wilayah lain di Kabupaten Banyumas.



Gambar 2. Peta lokasi pengambilan sampel

Lokasi pertama, yaitu Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas, Kabupaten Banyumas (Badan Pusat Statistik Kabupaten Banyumas, 2021a). Kolam yang dipilih adalah milik Bapak Khamidin (Gambar 3). Lele yang dibudidayakan yaitu lele sangkuriang. Kolam budidaya ini terletak di area persawahan. Total kolam keseluruhan sebanyak 27 kolam. Berdasarkan penuturan pemilik, banyak kejadian penyakit ikan dalam budidayanya seperti ulser, koreng, luka patil merah, dan sirip geripis. Hal ini terjadi jika cuaca tidak menentu terutama pada saat musim penghujan, karena sumber pengairan berasal dari sungai dan sawah. Sistem pengairannya menggunakan bak penampungan. Hasil pengukuran parameter kualitas air pada kolam tersebut, yaitu pH air 7,0, DO sebesar 7,6 mg/L, dan suhu air sebesar 29°C.



Gambar 3. Lokasi pengambilan sampel; A: Kolam Singasari, B: Kolam Cikawung

Lokasi kedua, yaitu Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen. Kecamatan Pekuncen terletak di barat laut wilayah Kabupaten Banyumas dan merupakan daerah yang subur dengan curah hujan yang cukup tinggi (Badan Pusat Statistik Kabupaten Banyumas, 2021b). Pengambilan sampel ikan sakit dari kolam budidaya milik Bapak Titih (Gambar

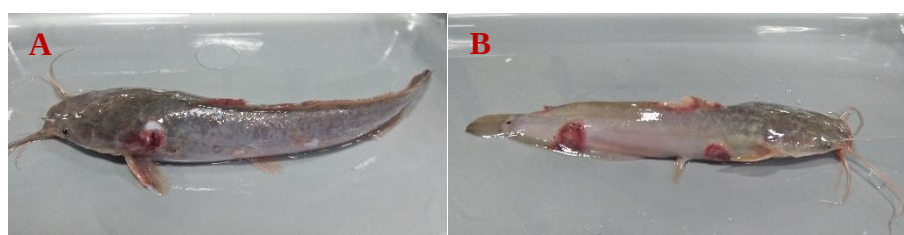
3). Adapun jenis lele yang dibudidayakan yaitu lele mutiara. Kondisi kolam ikan di Desa Cikawung ini terletak di dekat sungai besar. Total kolam sebanyak 7 kolam yang terdiri atas kolam tanah dan kolam terpal bundar. Sumber pengairan berasal dari sungai dengan sistem pengairan mengalir langsung dari pipa-pipa. Pada saat pengambilan sampel, satu kolam sebanyak 3000 ekor terkena penyakit seperti ulser, sirip geripis, dan jamur. Hasil pengukuran parameter kualitas air pada kolam tersebut, yaitu pH air 6,8, DO sebesar 5,5 mg/L, dan suhu air sebesar 27,5°C (Tabel 1). Menurut Standar Nasional Indonesia (2000), kisaran suhu yang baik untuk pemeliharaan lele yaitu sekitar 27-30°C. pH yang baik untuk budidaya lele berkisar antara 6,5-8,5. Sementara nilai DO pada media pemeliharaan lele tidak boleh <5,00 mg/L (SNI 01-6483.4-2000).

Tabel 1. Pengukuran Parameter Kualitas Air

Lokasi	Parameter Kualitas Air	Hasil Pengukuran	Kelayakan Parameter Kualitas Air (SNI, 2000)
Singasari, Karanglewas	Suhu air (°C)	29	27-30
	pH	7,0	6,5-8,5
	DO (mg/L)	7,6	>5
Cikawung, Pekuncen	Suhu air (°C)	27,5	27-30
	pH	6,8	6,5-8,5
	DO (mg/L)	5,5	>5

Sumber: SNI 01-6483.4 (2000)

Berdasarkan Tabel 1 dapat dikatakan bahwa parameter kualitas air pada kedua kolam budidaya tersebut baik, meskipun banyak terdapat ikan sakit. Sampel ikan sakit yang diambil dari kedua kolam tersebut menunjukkan gejala klinis terserang penyakit. Gejala klinis eksternal yang ditunjukkan pada lele sakit dari Desa Singasari, Karanglewas, yaitu erosi, lesi pada punggung, sirip geripis, dan hiperemia (Gambar 4). Sementara itu, gejala klinis eksternal yang ditunjukkan pada lele sakit dari Desa Cikawung, Pekuncen yaitu ulser di seluruh tubuh, sirip progresif, hemoragik, abses, dan depigmentasi pada tubuhnya (Gambar 3). Rata-rata panjang tubuh ikan dari Desa Singasari, Karanglewas yaitu ± 16 cm, sedangkan ikan dari Desa Cikawung, Pekuncen, yaitu ± 15 cm.



Gambar 4. Sampel lele sakit; A: Lele sakit dari Desa Singasari; B: Lele sakit dari Desa Cikawung

2. Isolasi Bakteri

Hasil isolasi dan pemurnian bakteri dari Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas diperoleh sebanyak 8 isolat, sedangkan dari Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen diperoleh 9 isolat. Keseluruhan isolat yang diperoleh dari kedua lokasi tersebut, yaitu 17 isolat. Selanjutnya, dipilih sebanyak 7 isolat dari total keseluruhan untuk dilakukan uji postulat Koch (Tabel 2).

Tabel 2. Isolat Terpilih dari Hasil Pemurnian Bakteri pada Medium GSP

Isolat	Morfologi Koloni				Keterangan
	Ukuran	Bentuk	Warna	Elevasi	
BmSL-02	Moderate	Circular	Kuning	Cembung	Isolat dari ginjal ikan lele 1 Singasari
BmSL-04	Moderate	Circular	Kuning	Cembung	Isolat dari ginjal ikan lele 1 Singasari
BmSL-07	Small	Circular	Kuning	Cembung	Isolat dari ginjal ikan lele 3 Singasari
BmCL-02	Moderate	Circular	Kuning	Cembung	Isolat dari ulser ikan lele 1 Cikawung
BmCL-03	Moderate	Circular	Kuning	Cembung	Isolat dari ginjal ikan lele 1 Cikawung
BmCL-05	Large	Circular	Kuning	Cembung	Isolat dari ulser ikan lele 2 Cikawung
BmCL-07	Large	Circular	Kuning	Cembung	Isolat dari ginjal ikan lele 2 Cikawung

3. Uji Postulat Koch

Uji postulat Koch dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang berhasil diisolasi tersebut merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit pada ikan lele. Hasil penelitian menunjukkan gejala klinis eksternal, internal, dan mortalitas pada lele yang diujikan berbeda-beda (Tabel 3 dan 4).

Gejala klinis eksternal lele pada uji postulat Koch sama seperti gejala lele yang terinfeksi alami. Gejala klinis eksternal yang timbul berupa ikan sering muncul ke permukaan, depigmentasi pada sirip, tubuh, dan dekat mulut, erosi (lecet), sirip progresif, hiperemia, *white spot* di seluruh tubuhnya, ulser, abdominal dropsi, *exophthalmia color alteration*, bercak-bercak merah (hemoragik) pada punggung, abses, bahkan ada ikan yang empedunya terlihat dari luar dan plat mulutnya tipis. Selain itu, terdapat inflamasi (peradangan) pada bagian perut dan punggung bekas suntik disertai dengan pembengkakan, lesi pada beberapa bagian tubuh, eritema kepala, serta mulut hancur sebagian.

Gejala klinis internal yang timbul, yaitu hati kuning pucat, bercak hitam, bintik putih, kehijauan, bahkan ada yang hancur. Ginjal kehitaman dengan bintik putih, merah pucat kekuningan, coklat terdapat bintik hitam. Selain itu, usus kehitaman, kuning, dan kosong, empedu pecah, insang putih pucat bahkan ada yang hancur, abu-abu sampai hitam, lambung bengkak, pucat, terdapat bercak hitam, dan kosong, abdominal asites (terdapat banyak cairan kuning abnormal di dalam perut), ada beberapa ikan yang darahnya sangat coklat tidak merah segar.

Saat pengujian postulat Koch, isolat bakteri belum teridentifikasi jenisnya, tetapi memiliki gejala yang sama dengan yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. yang menyebabkan penyakit MAS. Penelitian sebelumnya juga melaporkan gejala klinis yang ditimbulkan oleh *Aeromonas* sp. antara lain kondisi fisik ikan yang mengalami kerusakan, seperti ulser, nekrosis, hemoragik, hiperemia, abses, sirip progresif, abdominal dropsi, ginjal pucat, dan *exophthalmia* (Mulia *et al.*, 2011; Austin and Austin 2016; Dias *et al.*, 2016; Mulia *et al.*, 2023).

Tabel 3. Hasil Pengujian Postulat Koch Isolat Bakteri dari Desa Singasari, Banyumas

Kode Isolat	Sampel (ekor)	Mortalitas (ekor)	Mortalitas (%)	Gejala Klinis Eksternal	Gejala Klinis Internal
Kontrol PBS	20	0	0	Sirip progresif, <i>white spot</i> , depigmentasi, <i>recovery</i> pada hari ke-5	-
BmSL-02	20	20	100	Depigmentasi dekat mulut, kumis, sirip dada, dan tubuh, tubuh sangat berlendir, <i>white spot</i> di tubuh, kepala dan mulut, hiperemia dan abses di kepala dan ekor, sirip progresif, abdominal dropsi, ulser, erosi, ikan mengapung di permukaan, ekor hancur, <i>exophthalmia color alteration</i> , mulut hancur, erosi, inflamasi pada abdomen dan bekas suntik, eritema.	Hati kuning, bercak hitam, sangat pucat dengan bercak putih, merah hancur, dan kehijauan, empedu pecah, ginjal kehitaman dengan bintik putih, merah pucat kekuningan, usus kehitaman dan kosong, insang putih pucat, abu-abu sampai hitam, lambung bengkak dan kosong, asites.
BmSL-04	20	20	100	<i>White spot</i> , hiperemia punggung dan kepala, sirip progresif, ulser, abses punggung, depigmentasi mulut dan tubuh, mulut hancur sebagian, abdominal dropsi, lesi, erosi pada tubuh dan bawah mulut, hemoragik kepala dan dada, <i>exophthalmia color alteration</i> .	Hati hitam mudah hancur, pucat, kuning, empedu pecah, usus dan lambung kosong, lambung kemerahan, ginjal pucat kehitaman, bintik putih, kuning, insang pucat, darah cokelat.
BmSL-07	20	20	100	Erosi, depigmentasi tubuh, sirip, hiperemia, Sirip progresif, <i>white spot</i> di seluruh tubuh, ulser, tubuh sangat berlendir, <i>color alteration</i> , lesi, bercak kuning di kepala, abdominal dropsi, <i>exophthalmia color alteration</i> , ikan muncul ke permukaan, hemoragik punggung, inflamasi pada perut	Ginjal pucat, kehitaman, merah terdapat bintik putih, hati sangat pucat, bintik putih, merah terdapat bintik kuning, kuning, ada yang hatinya hitam hancur, insang pucat, kehitaman, dan sedikit hancur, usus kosong, asites, edema, lendir kuning dari insang

Tabel 4. Hasil Pengujian Postulat Koch Isolat Bakteri dari Desa Cikawung, Banyumas

Kode Isolat	Sampel (ekor)	Mortalitas (ekor)	Mortalitas (%)	Gejala Klinis Eksternal	Gejala Klinis Internal
Kontrol PBS	20	0	0	Sirip progresif, <i>white spot</i> , depigmentasi, <i>recovery</i> pada hari ke-5	-
BmCL-02	20	12	60	Hiperemia sirip dan punggung, sirip progresif, depigmentasi, <i>white spot</i> , luka kekuningan di punggung, abdominal dropsi, erosi, luka kuning dekat ekor, ulser bawah mulut, mulut berwarna kuning, eksophtalmia, hemoragik punggung, ulser, abses.	Ginjal kehitaman, ada yang pucat dan hitam, hati hancur, pucat, ada yang coklat dan ada yang abu-abu, lambung dan usus kosong berwarna kuning, empedu pecah, berwarna kuning, insang pucat, asites.
BmCL-03	20	20	100	Sirip progresif, hemoragik, depigmentasi, erosi, sirip dada kuning, inflamasi punggung, empedu terlihat dari luar, abdominal dropsi, ulser, ikan sering muncul ke permukaan, abses kepala, hiperemia, <i>white spot</i> di kepala, benjolan di bawah perut, <i>color alteration</i> , sering muncul ke permukaan.	Hati pucat dan ada yang berwarna kuning, empedu pecah, ginjal coklat kehitaman dan hancur, insang merah pucat, asites, lambung bengkak, pucat, usus kosong.
BmCL-05	20	19	95	Depigmentasi tubuh, mulut, kumis dan sirip, sirip progresif, hiperemia, <i>white spot</i> , ulser berwarna kuning di perut dan punggung, organ keluar di bawah perut, benjolan berwarna kuning, <i>exophtalmia color alteration</i> , abses dekat sirip dada dan punggung, empedu terlihat dari luar, mulut habis sebagian, lesi.	Hati pucat dan hancur, ginjal coklat kehitaman dan ada yang sangat pucat terdapat bintik putih, insang pucat, lambung dan usus kosong, asites, empedu pecah, usus berwarna kuning.
BmCL-07	20	20	100	Hemoragic punggung, sirip progresif, <i>white spot</i> di tubuh dan kepala, depigmentasi tubuh, sirip dada, hiperemia punggung, kumis, mulut hancur sebagian, erosi, <i>exophtalmia color alteration</i> , abdominal dropsi, sering muncul ke permukaan	Ginjal kehitaman, hati pucat, kehitaman dan ada yang hancur, insang putih pucat, usus kosong dan ada yang hancur, empedu pecah, edema.

4. Identifikasi Fenotipik

Isolat bakteri yang berasal dari lele Singasari dan Cikawung diidentifikasi secara fenotipik, yaitu berdasarkan karakterisasi secara morfologi dan biokimiawi bakteri. Selanjutnya, hasil karakterisasi tersebut dibandingkan dengan buku identifikasi *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition* (Brenner *et al.*, 2005). Hasil karakterisasi morfologi dan biokimiawi tersaji pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Karakteristik Morfologi dan Uji Biokimiawi Isolat Bakteri dari Desa Singasari

Karakterisasi		Isolat			Brenner <i>et al.</i> (2005)
		BmSL-02	BmSL-04	BmSL-07	
Morfologi Koloni	Ukuran	Small	Punctiform	Moderate	nd
	Bentuk	Sirkular	Punctiform	Sirkular	Sirkular
	Warna	Krem	Krem	Krem	Krem
		Transluent	Transluent	Transluent	
	Elevasi	Convex	Convex	Convex	Convex
	Tepi	Entire	Entire	Entire	Entire
	Sifat Permukaan	Glistening	Glistening	Glistening	nd
Morfologi Sel	Bentuk	Batang	Batang	Batang	Batang
	Gram	-	-	-	-
	Flagela	-	+	+	-
Uji Biokimia	Oksidase	+	+	+	+
	Katalase	+	+	+	+
	Motilitas	-	+	+	+
	Produksi Indol	-	+	+	+
	O/F	+	+	+	d
	TSIA	A/A, G	A/A, G	A/A	Ada H ₂ S
	Methyl Red	+	+	+	+
	Voges	-	-	-	d
	Poskauer				
	Glukosa	+	+	+	+g
	Sukrosa	+	+	+	+
	Laktosa	+g	+g	+g	d
	Manitol	+g	+g	+g	+
	Dextrose	+	+	+	nd
Genus		<i>Aeromonas</i>			

Keterangan: +: >90%; -: <10%; +g: positif dengan produksi gas; A/A: reaksi asam; G: gas; d: 11-89% strain adalah positif (hasil uji berbeda antar spesies); nd: *not determined*

Tabel 5 dan 6 menunjukkan karakterisasi morfologi dan biokimiawi tujuh isolat. Hasil penelitian menunjukkan karakter yang hampir sama, yaitu koloni berukuran kecil hingga sedang, bentuk punctiform (titik kecil) dan sirkular, berwarna putih kekuningan (krem). Jika dilihat dari kemampuannya dalam ditembus cahaya, koloni tersebut bersifat translucent (dapat ditembus cahaya sebagian). Menurut Abbott *et al.* (2003) sebagian besar *Aeromonas* sp. menghasilkan koloni berwarna coklat hingga kuning kecokelatan (*cream*) pada medium TSA. Elevasi koloni convex, tepian entire, dan sifat permukaan koloni yang glistening (mengkilat). Sementara itu, bentuk sel dari ketujuh isolat yaitu batang pendek. Hasil tersebut menurut Brenner *et al.* (2005) merupakan bakteri *Aeromonas* sp.

Tahapan selanjutnya dari identifikasi fenotipik yaitu uji biokimiawi. Berdasarkan uji pengecatan Gram yang dilakukan, ketujuh isolat merupakan bakteri Gram negatif. Pengecatan Gram terhadap *Aeromonas* sp. menunjukkan bakteri Gram negatif (Holt *et al.*, 1994). Kelompok bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang tipis, berlapis tiga, kandungan lemak tinggi tetapi peptidoglikannya rendah. Bakteri Gram negatif ditandai dengan koloni berwarna. Warna merah disebabkan karena kelompok bakteri Gram negatif memiliki komponen peptidoglikan yang tipis, sehingga tidak dapat mempertahankan warna kristal violet pada saat proses dekolorisasi dan mampu menyerap warna safranin (Anggraini *et al.*, 2016).

Tabel 6. Karakteristik Morfologi dan Uji Biokimiawi Isolat Cikawung

Karakterisasi		Isolat				Brenner <i>et al.</i> (2005)
		BmCL-02	BmCL-03	BmSL-05	BmCL-07	
Morfologi Koloni	Ukuran	Small	Punctiform	Moderate	Moderate	nd
	Bentuk	Sirkular	Punctiform	Sirkular	Sirkular	Sirkular
	Warna	Krem	Krem	Krem	Krem	Krem
		Transluent	Transluent	Transluent	Transluent	
	Elevasi	Convex	Convex	Convex	Convex	Convex
	Tepi	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire
	Sifat Permukaan	Glistening	Glistening	Glistening	Glistening	nd
Morfologi Sel	Bentuk	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
	Grams	-	-	-	-	-
	Flagela	+	+	+	+	-
Uji Biokimia	Oksidase	+	+	+	+	+
	Katalase	+	+	+	-	+
	Motilitas	+	+	+	+	+
	Produksi Indol	+	+	+	+	+
	O/F	+	+	+	+	d
	TSIA	A/A	A/A	A/A	A/A	Ada H ₂ S
	Methyl Red	+	+	+	+	+
	Voges	-	-	-	-	d
	Poskauer					
	Glukosa	+g	+	+	+	+g
	Sukrosa	+g	+	+	+	+
	Laktosa	+g	+	+	+g	d
	Manitol	+g	+	+g	+g	+
	Dextrose	+g	+g	+	+	nd
Genus		<i>Aeromonas</i>				

Keterangan: +: >90%; -: <10%; +g: positif dengan produksi gas; A/A: reaksi asam; G: gas; d: 11-89% strain adalah positif (hasil uji berbeda antar spesies); nd: *not determined*

Hasil uji oksidase pada ketujuh isolat bakteri menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna pada kertas saring menjadi biru. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri menghasilkan enzim oksidase. Menurut Sinubu *et al.* (2022) enzim oksidase yang dihasilkan oleh bakteri berperan dalam mengkatalisis proses oksidasi dan reduksi elektron. Menurut Brenner *et al.* (2005) hasil ini menunjukkan adanya kemiripan karakteristik bakteri *Aeromonas* sp. Hal serupa yang dikemukakan oleh Abbott *et al.* (2003) bahwa dari 193 strain *Aeromonas* menunjukkan oksidase positif.

Hasil uji katalase terhadap isolat BmCL-07 bernilai negatif sedangkan enam isolat lain menghasilkan nilai positif. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung pada isolat bakteri yang bercampur dengan larutan H₂O₂. Menurut Pulungan & Tumangger (2018), H₂O₂ bersifat toksik terhadap sel karena dapat menonaktifkan enzim dalam sel. Katalase merupakan enzim yang digunakan bakteri untuk menguraikan H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ sehingga tidak menjadi toksin. Bakteri katalase negatif tidak dapat memecah H₂O₂ menjadi O₂ dan H₂O. Menurut Brenner *et al.* (2005) hasil ini menunjukkan adanya kemiripan karakteristik bakteri *Aeromonas* sp.

Pada uji motilitas, isolat BmSL-02 bersifat non motil, sedangkan enam isolat lainnya bersifat motil. Motilitas ini ditunjukkan dengan adanya flagella yang berfungsi sebagai alat gerak. Menurut Pardamean *et al.* (2021), hasil uji positif pada motilitas ditunjukkan dengan adanya kekeruhan di sekitar bekas tusukan. Selanjutnya menurut Anggraini *et al.* (2016)

flagella merupakan salah satu struktur utama di luar sel bakteri yang menyebabkan terjadinya pergerakan (motilitas) sel bakteri. Bakteri golongan basil dapat bergerak dengan adanya flagella yang tersebar baik pada ujung-ujungnya maupun pada sisi medium. Hal ini selaras dengan yang dikemukakan Brenner *et al.* (2005) bahwa kebanyakan bakteri *Aeromonas* sp. memiliki flagella sebagai alat geraknya. Adapula bakteri *Aeromonas* sp. yang tidak memiliki flagella, hal ini tergantung dari jenisnya. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Abbott *et al.* (2003) bahwa *A. sobria* dan *A. salmonicida* bersifat nonmotil (0%).

Hasil uji indol pada enam isolat bakteri bernilai positif sedangkan isolat BmSL-02 bernilai negatif. Menurut Mulia *et al.* (2012), *Aeromonas* sp. memiliki ciri khusus yaitu dapat mengubah senyawa tryptopan menjadi senyawa indol yang ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan media SIM. Hal ini juga sesuai dengan Anggraini *et al.* (2016) bahwa uji indol bernilai positif karena adanya produksi indol dari tryptopan dengan ditandai cincin berwarna merah setelah ditambah reagen Kovacs. Sementara itu, menurut Rahayu and Gumilar (2017), hasil uji indol positif pada bakteri ditunjukkan dengan adanya cincin merah pada bagian atas, karena indol bereaksi dengan aldehid. Cincin merah muda memudar oleh gerakan yang tiba-tiba, cincin menjadi pecah dan menghasilkan warna merah muda. Hasil ini menunjukkan adanya kemiripan dengan bakteri *Aeromonas* menurut Brenner *et al.* (2005) dengan nilai uji indol yang positif.

Uji O/F pada ketujuh isolat bakteri menunjukkan hasil yang positif. Hal ini berarti bahwa bakteri mampu memanfaatkan karbohidrat pada kondisi anaerob melalui fermentasi maupun aerob dengan adanya oksigen (bersifat oksidatif) (Anggraini *et al.*, 2016). Hasil uji O/F menurut Brenner *et al.* (2005), menunjukkan hasil uji yang berbeda antar spesies. Bakteri *Aeromonas* sp. merupakan bakteri anaerob fakultatif dan dapat memfermentasi karbohidrat (Oladele and Temitope, 2016). Organisme anaerob fakultatif dapat bertahan dan tumbuh baik dalam kondisi dengan atau tanpa oksigen. Organisme ini memiliki kemampuan untuk menggunakan oksigen jika tersedia, namun juga dapat beralih ke metabolisme anaerobik saat oksigen tidak tersedia (Madigan *et al.*, 2014). Hasil uji O/F pada *Aeromonas* sp. menunjukkan hasil fermentatif bagi karbohidrat tertentu. Hasil penelitian Zhang *et al.* (2012), isolat *Aeromonas* sp. memiliki kemampuan fermentasi glukosa, inositol, dan adonitol sebagai sumber karbon utama tanpa memproduksi gas. Beberapa isolat juga menunjukkan kemampuan fermentasi laktosa, arabinosa, rhamnosa, dan sukrosa. Hasil fermentasi karbohidrat dapat bervariasi antara *Aeromonas* sp. yang berbeda.

Berdasarkan hasil pengujian TSIA yang dilakukan pada tujuh isolat menunjukkan hasil (A/A) dengan dan tanpa adanya gas. Hasil ini menandakan bahwa bakteri mampu memfermentasi seluruh karbohidrat, seluruh warna medium berubah menjadi kuning dan tidak mampu menghasilkan H₂S. Hal ini berarti semua isolat bakteri tidak memiliki kemampuan dalam mereduksi asam-asam amino yang mengandung sulfur. Hasil penelitian selaras dengan yang diperoleh Anggraini *et al.* (2016), yaitu hasil pengujian TSIA isolat bakteri *Aeromonas* sp. menunjukkan hasil negatif karena tidak dapat mereduksi H₂S. Mikroorganisme desulfurase jika dibiakkan pada medium yang kaya asam amino yang mengandung sulfur akan menghasilkan senyawa FeS yang berwarna hitam. Dalam penelitian ini, bakteri tidak mampu menghasilkan H₂S, tetapi mampu memfermentasi glukosa dengan membentuk gas dari fermentasi.

Hasil uji *methy*l red (MR) pada seluruh isolat menunjukkan hasil positif. Hal ini menandakan bahwa tidak adanya fermentasi campuran pada isolat tersebut. Beberapa bakteri memfermentasikan glukosa dan menghasilkan berbagai bahan yang bersifat asam. Hasil uji positif ini sesuai dengan hasil identifikasi bakteri menurut Brenner *et al.* (2005). Selanjutnya dilakukan uji *voges proskauer* (VP) untuk mengetahui pembentukan asetil metil

karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi gula. Hasil penelitian menunjukkan nilai negatif dengan tidak terjadinya perubahan warna. Hal ini menandakan bahwa hasil akhir fermentasi bakteri bukan asetoin dan bakteri tidak memfermentasikan karbohidrat (Anggraini *et al.*, 2016). *Aeromonas* sp. tidak menghasilkan asetoin yang diperlukan untuk reaksi VP yang positif (Abbott *et al.*, 2003). Hasil ini juga sesuai dengan yang dikemukakan Brenner *et al.* (2005).

Hasil uji positif pada uji gula-gula ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi kuning pada medium dengan disertai atau tidak disertai pembentukan gas. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mampu memfermentasikan karbohidrat. Sebagian besar mikroorganisme terutama spesies *Aeromonas* memperoleh energi dari substrat berupa karbohidrat yang selanjutnya difermentasi menghasilkan asam-asam organik (asam laktat dan asetat) dengan disertai atau tidak disertai pembentukan gas (Volk, 1993). Hasil ini sesuai dengan Brenner *et al.* (2005), bakteri *Aeromonas* sp. mampu memfermentasikan karbohidrat. Kamiso *et al.* (1996) menemukan variasi yang sangat besar dari pengujian biokimiawi *Aeromonas* sp. terutama pada produksi gas, glukosa, laktosa, manitol, dulkitol, sorbitol, arabinosa, adonitol, dan raffinosa.

Ketujuh isolat menunjukkan kesamaan ciri dengan *Aeromonas* sp. yaitu koloni berwarna kuning saat ditumbuhkan pada medium GSP, bentuk sirkuler dan berelevasi convex. *Aeromonas* sp. memiliki ciri-ciri Gram negatif, motilitas positif, katalase dan oksidase positif, fermentatif, indol positif, MR positif, VP negatif, dan menghasilkan gas saat pengujian gula-gula. Hasil pengujian biokimiawi *Aeromonas* sp. menunjukkan hasil yang bervariasi. Hal ini dikarenakan *Aeromonas* sp. memiliki variasi spesies dan juga variasi strain yang menunjukkan adanya variasi sifat biokimiawi (Holt *et al.*, 1994).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari hasil isolasi bakteri, terdapat 17 isolat yang diperoleh dari dua tempat di Kabupaten Banyumas, yaitu Desa Singasari dan Desa Kawung. Sebanyak tujuh isolat, yaitu tiga isolat dari Desa Singasari, Kecamatan Karanglewas (BmSL-02, BmSL-04, dan BmSL-07) dan empat isolat dari Desa Cikawung, Kecamatan Pekuncen (BmCL-02, BmCL-03, BmCL-05, dan BmCL-07) dipilih untuk dilakukan uji postulat Koch. Hasil uji postulat Koch menunjukkan gejala klinis eksternal (hiperemia, hemoragik, depigmentasi, *white spot*, ulser, erosi, sirip progresif, abdominal dropsi, dan *exophthalmia color alteration*) dan internal (hati pucat, ginjal kehitaman, usus kehitaman, empedu pecah, insang pucat, edema, dan asites), dengan mortalitas ikan sebesar 60-100%. Hasil karakterisasi secara morfologi dan biokimiawi berdasarkan *Bergeys's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition* diperoleh kesimpulan bahwa ketujuh isolat adalah bakteri *Aeromonas* sp., dengan kesamaan ciri, yaitu Gram negatif, fermentatif, katalase positif, oksidase positif, dan memproduksi gas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Khamidin dan Bapak Titih selaku pemilik budidaya lele di Kabupaten Banyumas yang telah memberikan sumbangsinya dalam penelitian ini berupa sampel ikan sakit, serta kepada Zahrotun Nisa yang telah membantu penulis dalam serangkaian penelitian tentang identifikasi bakteri. Penelitian ini bagian dari Hibah PGB Universitas Muhammadiyah Purwokerto dengan No: A.11-III/716-S.Pj./LPPM/XII/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, S. L., Wendy, K. W., Cheung and Janda, J. M. (2003) 'The Genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes', *Journal of Clinical Microbiology*, 41(6), pp. 2348-2357.
- Anggraini, R., Aliza, D. and Mellisa, S. (2016) 'Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan Uji Mikrobiologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias hariepinus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar', *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1(2), pp. 271-286.
- Austin, B. and Austin, D.A. (2016) *Bacterial Fish Pathogens*, 6th ed. Switzerland: Springer International Publishing.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Banyumas. (2021a) *Kecamatan Karanglewas dalam Angka 2021*. Badan Pusat Statistik Kabupaten Banyumas: CV. Prima Puspa Sari. Available at: <https://banyumaskab.bps.go.id/publication/2021/09/24/6835c003e26eca316a4e1cf3/kecamatan-karanglewas-dalam-angka-2021.html>. (Accessed: 4 March 2023).
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Banyumas. 2021b. *Kecamatan Pekuncen dalam Angka 2021*. Badan Pusat Statistik Kabupaten Banyumas: CV. Prima Puspa Sari. Available at: <https://banyumaskab.bps.go.id/publication/2021/09/24/3d2f91dabe8d5b906acd75f7/kecamatan-pekuncen-dalam-angka-2021.html>. (Accessed: 4 March 2023).
- Brenner, D. J., Krieg, N. R. and Staley, G. M. (2005) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. USA: Department of Microbiology and Molecular Genetic, Michigan State University, East Lansing.
- Cai, S. H., Wu, Z. H., Jian, J. C., Lu, Y. S. and Tang, J. F. (2012) 'Characterization of Pathogenic *Aeromonas veronii* bv. *veronii* Associated with Ulcerative Syndrome from Chinese Long Snout Catfish (*Leiocassis longirostris* Günther)', *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, pp. 382–388. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1517-838220120001000046>.
- Dias, M.K.R., Sampaio, L.S., Proietti-Junior, A.A., Yoshioka, E.T.O., Rodrigues, D.P., Rodriguez, A.F.R., Ribeiro, R.A., Faria, F.S., Ozório, R.O.A. and Tavares-Dias, M. (2016) 'Lethal Dose and Clinical Signs of *Aeromonas hydrophila* in *Arapaima gigas* (Arapaimidae), The Giant Fish from Amazon', *Veterinary Microbiology*, 188: 12-15. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.04.001>.
- Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Banyumas. (2022) *Data Statistik Konsumsi Lele Dumbo, Produksi Lele Dumbo, dan Kejadian Penyakit Ikan*. Banyumas: Dinas Perikanan dan Peternakan Kabupaten Banyumas.
- Ferdian, F., Maulina, I. and Rosidah. (2012) 'Analisis Permintaan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Konsumsi di Kecamatan Losarang Kabupaten Indramayu', *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 3 (4), pp. 93-98.
- Hassan, M.A., Noureldin, E.A., Mahmoud, M.A. and Fita, N.A. (2017) 'Molecular Identification and Epizootiology of *Aeromonas veronii* Infection Among Farmed *Oreochromis niloticus* in Eastern Province, KSA', *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 43(2), pp. 161-167. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2017.06.001>.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. USA: William & Wilkins. Departement of Microbiology, Gltner Hall, Michigan State University, East lansing, pp. 48824-1101.

- Kamiso, K.H., Triyanto and Hartati, S. (1996) 'Uji Konsentrasi Penghambatan Minimal, Resistensi dan Penggunaan Antibiotik untuk Menanggulangi Penyakit Motil *Aeromonas* Septisemia (MAS) pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)', *Jurnal Perikanan UGM*, 1(1), pp. 49-53.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H. and Stahl, D. A. (2014) *Brock Biology of Microorganisms* (14th ed.). USA: Pearson.
- Mulia, D. S., Apriyanti, W., Maryanto, H. and Purbomartono, C. (2012) 'Imunogenisitas Antigen Whole Cell Bakteri *Aeromonas hydrophila*', *Sains Akuatik*, 14(1), pp. 25-32.
- Mulia, D. S., Isnansetyo, A., Pratiwi, R. and Asmara, W. (2020) 'Molecular Characterizations of *Aeromonas caviae* Isolated from Catfish (*Clarias* sp.)', *AACL Bioflux*, 13(5), pp. 2717-2732. Available at: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203600153>.
- Mulia, D. S., Isnansetyo, A., Pratiwi, R. and Asmara, W. (2021) 'Antibiotic Resistance of *Aeromonas* spp. Isolated from Diseased Walking Catfish (*Clarias* sp.)', *Biodiversitas*, 22(11), 4839-4846. Available at: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d221116>.
- Mulia, D.S., Maryanto, H. and Purbomartono, C. (2011) 'Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri pada Lele Dumbo yang Terserang Penyakit di Kabupaten Banyumas', *Saintek*, 7(1), pp. 1-15.
- Mulia, D. S., Pratiwi, R., Asmara, W., Azzam-Sayuti, M., Yasin, I. S. Md. and Isnansetyo, A. (2023) 'Isolation, Genetic Characterization, and Virulence Profiling of Different *Aeromonas* Species Recovered from Moribund Hybrid Catfish (*Clarias* spp.)', *Veterinary World*, 16(24), pp 1974–1984. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.1974-1984>.
- Oladele, A. C. and Temitope, O. S. (2016) 'Isolation and Characterization of *Aeromonas* Species Isolated from Food and Diarrhoeagenic Stool in Ibadan Metropolis, Nigeria', *Food Science and Quality Management*, 51: 20-31.
- Pardamean, E. S., Syawal, H. and Riauwaty, M. (2021) 'Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Dipelihara Dalam Keramba Jaring Apung', *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 26(1), pp. 26-31.
- Pulungan, A. S. and Tumangger D. E. (2018) 'Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase dari Daun Buasbuas (*Premna pubescens* Blume)', *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, dan Kesehatan*, 5(1), 72-80. Available at: <https://doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1665>.
- Rahayu, S.A. and M.H. Gumilar. (2017) 'Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), pp. 50-56. Available at: <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.13112>.
- Sari, N. W., Iesje, L. and Nety, A. (2012) 'Pengaruh Pemberian Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Setelah Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*', *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 17(2), pp. 43-59.
- Semwal A, Kumar A, and Kumar N. (2023) 'A Review on Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and Their Mitigation Through Medicinal Herbs in Aquaculture', *Heliyon*, 9(e14088), pp. 1-23. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14088>.

-
- Sinubu, W. V., Tumbol, R. A., Undap, S. L., Manoppo, H. and Krechoff, R. L. (2022) 'Identifikasi Bakteri Patogen *Aeromonas* spp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Desa Matungkas, Kecamatan Dimembe, Kabupaten Minahasa Utara', *Budidaya Perairan*, 10(2), pp. 109-120. Available at: <https://doi.org/10.35800/bdp.10.2.2022.36633>
- Standar Nasional Indonesia (SNI). (2000) *Produksi Benih Ikan Patin Siam (Pangasius hyphthalmus) Kelas Benih Sebar*. Jakarta: BSN.
- Volk, W. (1993) *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga.
- Zhang, Q., Zhang, J., Yang, Y. and Wu, Y. (2012) 'Isolation and Identification of *Aeromonas* spp. from Different Sources', *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1(6), pp. 1415-1422.