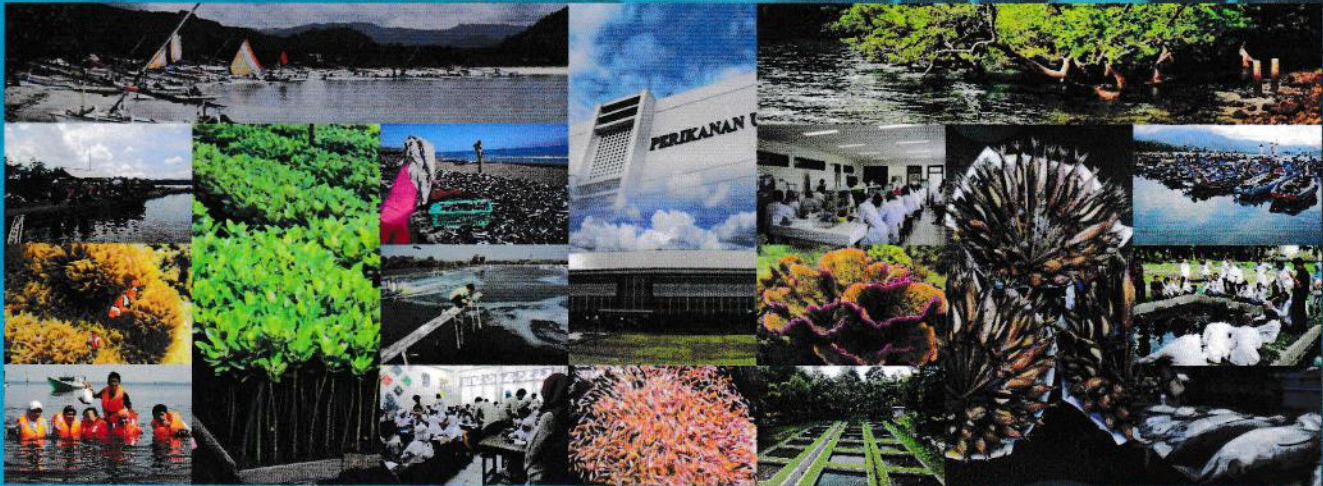




# Semnaskan-UGM

SEMINAR NASIONAL TAHUNAN XIII  
HASIL PENELITIAN PERIKANAN DAN KELAUTAN



## Prosiding

### Jilid I

### BUDIDAYA PERIKANAN

Departemen Perikanan Fakultas Pertanian UGM

Jl. Flora Gd. Perikanan A4 Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Telp. +62-82227774626; Fax. +62-274-551218

e-mail: [semnaskan\\_ugm@yahoo.com](mailto:semnaskan_ugm@yahoo.com)

website: <http://www.semnaskan-ugm.org/>

**KEANEKARAGAMAN AGENSIA PENYEBAB PENYAKIT BAKTERI PADA IKAN  
LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) DARI DEMAK**

BA-03

**Sarjito\*, A.H.Condro dan Restiana W. Ariyati**

Program Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Diponegoro  
\*e-mail: sarjito\_msdp@yahoo.com

**Abstrak**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui agensia penyebab penyakit bakteri yang menyerang ikan lele (*Clarias gariepinus*) dari sentral produksi Kabupaten Demak. Penelitian ini menggunakan metode eksploratif. Sebanyak 17 isolat berhasil diisolasi dari bagian luka maupun ginjal lele yang menunjukkan gejala serangan penyakit bakteri pada medium Na, GSP dan TCBS. Uji *postulat koch* dilakukan untuk menentukan isolat yang diuji selanjutnya. Isolat terpilih dikarakterisasi secara molekuler dengan 16S rDNA dan sensitivitasnya terhadap obat-obatan yang beredar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-September 2015. Hasil uji *postulat koch* diperoleh bahwa tiga isolat yaitu D2, D7 dan D12 mengakibatkan kematian 10%, 20% dan 30% ikan uji, sedangkan 14 isolat lainnya tidak mengakibatkan kematian ikan uji. Berdasarkan hasil analisis sekuen gen 16S rDNA ketiga agensia penyebab penyakit bakteri pada lele diperoleh bahwa isolat D2 memiliki kekerabatan terdekat dengan *Plesiomonas* sp. (87%), isolat D7 dengan *Aeromonas caviae* (96%) dan D12 dengan *Aeromonas sobria* (97%). Ketiga agensia penyebab penyakit bakteri tersebut tidak sensitif terhadap obat yang beredar di pasaran. Berdasarkan hasil penelitian didapat bahwa ketiga agensia penyebab penyakit bakteri dari sentral produksi Kabupaten Demak adalah *Plesiomonas* sp., *Aeromonas caviae* dan *Aeromonas sobria*.

**Kata kunci:** agensia penyebab, bakteri, lele, sensitivitas, 16S rDNA

**Pengantar**

Budidaya ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) masih merupakan usaha yang cukup menguntungkan, karena permintaan yang terus meningkat. Permintaan yang cenderung meningkat dari pasar lokal maupun domestik, maka mendorong pembudidaya ikan tersebut untuk meningkatkan produksi dengan penerapan budidaya secara intensif. Budidaya lele secara intensif sudah diterapkan oleh budidaya di sentral produksi provinsi Jawa Tengah (Sarjito *et al.*, 2013<sup>a</sup>). Akan tetapi, penerapan teknologi ini secara tidak tepat, dapat menimbulkan dampak negatif, antara lain, pencemaran lingkungan dan memacu adanya serangan penyakit (Sarjito *et al.*, 2013<sup>a</sup>). Serangan penyakit ini dapat terjadi, karena interaksi yang tidak serasi antara lingkungan, biota dan organisme penyebab penyakit (Irianto, 2005). Secara umum penyakit yang menyerang ikan lele adalah parasit, virus dan bakteri (Irianto, 2005; Sarjito *et al.*, 2013<sup>a</sup>). Penyakit bakteri yang pernah dilaporkan adalah vibriosis (Austin & Austin, 2007; Sarjito *et al.*, 2015), akibat dari serangan penyakit tersebut menyebabkan kematian organisme yang dibudidayakan (Smith, 2006; Austin & Austin, 2007). Agensia penyakit bakteri, mampu menyebabkan mortalitas hingga 50-100% pada ikan uji (Sarjito *et al.*, 2015). Selain itu, serangan penyakit bakteri mengakibatkan adanya borok atau luka pada tubuh ikan, sehingga konsumen kurang menyukainya (Kamiso, 2004).

Berbagai agensia penyebab penyakit bakteri telah dilaporkan pada ikan lele *V. anguillarum* (Schaperclaus, 1992; Sarjito *et al.*, 2013<sup>b</sup>); *V. salmonicida*; *V. Anguillarum*; *V. harveyi* (Sarjito *et al.*, 2013); *A. anguillarum*; *A. caviae* (Austin & Austin, 2007); dan *A. salmonicida* (Kamiso *et al.*, 1994; Sukenda *et al.*, 2008). Akan tetapi, identifikasi agensia penyebab penyakit bakteri pada lele yang dilakukan oleh Kamiso *et al.* (1994); Sukenda *et al.* (2008); Sarjito *et al.* (2013<sup>ab</sup>) menggunakan pendekatan secara morfologi dan biokimia. Untuk itu, dalam rangka ketepatan diagnosis dan pengendalian penyakit ikan, maka perlu identifikasi agensia penyakit secara cepat dan akurat untuk ikan dan udang. Cuningham (2002) menyarankan diagnostik secara molekuler

Berbagai metode secara molekuler untuk mendeteksi jenis bakteri ini telah pula berkembang (Myers *et al.*, 2003; Sarjito, 2010). Identifikasi secara molekuler menggunakan 16S rDNA PCR telah diaplikasikan untuk agensia penyebab vibriosis pada kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) (Sarjito *et al.*, 2007), ikan kerapu (Sarjito *et al.*, 2009) dan *tiger shrimp* (*Penaeus monodon*) (Sarjito *et al.*, 2012). Oleh karena itu, menarik untuk dikaji bakteri yang berasosiasi dengan lele sakit secara molekuler. Pada penelitian ini akan dilaporkan bakteri yang merupakan agensia penyebab penyakit lele yang berasal dari sentral produksi Kabupaten Demak, berdasarkan pada 16 S rDNA PCR dan sensitivitasnya terhadap beberapa obat-obatan yang beredar.

## Bahan dan Metode

### *Tempat dan waktu penelitian*

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksploratif konfirmatori (Nazir, 1999). Sepuluh ikan lele sakit diperoleh dari kolam pembesaran dari Kabupaten Demak. Ikan sampel dipilih secara selektif berdasarkan Kamiso *et al.* (1994) dan Sarjito *et al.* (2013<sup>b</sup>). Sedangkan ikan lele uji berukuran 7-8 cm diperoleh dari unit pembenihan rakyat di Kabupaten Semarang.

Isolasi dan purifikasi bakteri dilakukan dengan metode *streak* pada media NA (merk) dan GSP (Brock & Madigan, 1991; Sarjito *et al.*, 2007; Sarjito *et al.*, 2013<sup>b</sup>) di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro. Tujuh belas isolat murni (D 01-D 16) diperoleh dari ginjal, hati dan luka ikan sampel, kemudian disimpan pada media Nutrien Agar Trisalt (NA, Merck) miring.

Uji *postulat koch* dilakukan untuk mengetahui agensia penyebab penyakit bakteri pada lele sakit dari Kabupaten Demak. Hasil uji *postulat koch* mendasari pemilihan isolat untuk uji selanjutnya dikarakterisasi secara molekuler dan uji sentivitas terhadap obat-obatan yang beredar. Ekstraksi DNA dan amplifikasi DNA untuk PCR dilaksanakan di Laboratorium Kelautan Terpadu FPIK Universitas Diponegoro, sedangkan sekuensing DNA dikirimkan ke Macrogen Korea Selatan.

### *Metode*

#### Uji *postulat koch*

Uji *postulat koch* dilakukan di laboratorium Budidaya Perairan, FPIK, Universitas Diponegoro. Semua isolat dikultur pada media cair *zobelt* (Sarjito, 2010). Penyuntikan isolat pada ikan uji dilakukan secara *intraperitoneal* dengan dosis 0,1 mL dan kepadatan bakteri  $10^8$  Colony Forming Unit (CFU)/ml. Sebelum penyuntikan ikan uji diaklimatisasi selama satu minggu, kemudian dianestesi menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 1 mL/20 L air. Pengamatan gejala klinis dan kematian ikan dilakukan setiap 6 jam, selama 96 jam pasca infeksi. Saat uji *postulat koch* dilakukan pergantian air sebanyak 75% pada pagi hari setelah pemberian pakan. Kualitas air selama uji *postulat koch* adalah layak untuk budidaya lele yaitu temperatur berkisar antara 26-28 °C, pH 7-7,3; amoniak 0,15-0,25 mg/L dan oksigen terlarut sebesar 3-5 mg/L.

#### Ekstraksi dan amplifikasi DNA

Untuk analisis PCR, DNA genom dari isolat D2, D7 dan D12 diekstraksi dari sel dengan cara mengambil sel bakteri dari *plate* agar, disuspensi dalam air dengan mengacu pada metode Ausubel *et al.* (1995) yang dimodifikasi oleh Radjasa *et al.* (2007). PCR dilakukan dengan DNA *thermal cycler* (*Mini cycler*™, MJ Research Inc, Watertown, MA, USA) adalah sebagai berikut: 2 µL template DNA, 40 pmol primer, 125 µmol *deoxyribonucleoside triphosphate*, 5 µL 10x *RedTaq*™ PCR buffer (Sigma, Germany), 1,2 mg mL<sup>-1</sup> (konsentrasi akhir) *bovine* serum albumin (Sigma) dan 0,75 unit *RedTaq*™ DNA polymerase (Sigma) diatur konsentrasi akhir hingga volume 50 µL dengan air steril (Sigma). PCR menggunakan metode Radjasa *et al.* (2007) yang telah dimodifikasi sebagai berikut: denaturasi awal pada 94 °C selama 2 menit, kemudian 30 siklus denaturasi (94 °C selama 2 menit), *annealing* (45 °C selama 2 menit) dan ekstensi (72 °C selama 2 menit), serta ekstensi terakhir pada 72 °C selama 3 menit.

#### Sekuen gen 16S rDNA hasil amplifikasi PCR

Hasil amplifikasi PCR gen 16S rDNA dari isolat D2, D7 dan D12 dipurifikasi. Kemudian analisis sekuensing dilakukan dengan metode dari Brinkhoff & Muyzer (1997) dan Radjasa *et al.* (2007). Hasil sekuen isolat, kemudian dibandingkan homologinya dengan sekuen DNA pada DNA

database gen bank. Penelusuran dilakukan dengan sistem internet, yaitu melalui sistem pelacakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada *National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA* (Atschul *et al.*, 1997)

#### Uji sensitivitas

Uji sensitivitas tiga isolat (D2, D7 dan D12) terhadap empat obat ikan yang beredar dilakukan secara *in vitro*, menggunakan petridish sesuai dengan metoda Holstrom *et al.* (2003). Dosis yang digunakan untuk uji sensitivitas ini adalah 6  $\mu$  8  $\mu$  dan 10  $\mu$  untuk obat A<sup>m</sup> dan 2,5  $\mu$ , 5  $\mu$  dan 7,5  $\mu$  untuk obat B<sup>m</sup>, C<sup>m</sup> dan D<sup>m</sup>. Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong di sekitar kertas cakram setiap 24 jam, sampai zona bening tersebut ditumbuhi bakteri. Inkubasi dilakukan pada suhu ruangan selama 48 jam. Hasil sensitivitas ini mengacu pada ketentuan *National Commitee for Clinical Laboratorium Standard* (NCCLS, 2001).

#### Hasil dan Pembahasan

##### Hasil

Gejala klinis yang terlihat pada ikan sampel yang terserang bakteri adalah lendir yang berlebih, luka dibagian kepala, berenang menyendiri, *hemorrhagic*, luka kemerahan/borok (*ulcer*) pada permukaan tubuh, sungut kemerahan, mulut berwarna kemerahan, perut kembung, sirip gripis yang disertai luka kemerahan pada sirip dada, sirip punggung, sirip ekor, serta hati dan ginjal berwarna pucat. Hasil isolasi dari ketigapuluh ikan sampel diperoleh 16 isolat bakteri yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter isolat berdasarkan kode isolat, asal isolat, warna koloni, bentuk koloni, serta karakteristik pada berbagai media.

No	Kode isolat	Media	Warna	Bentuk	Karakteristik koloni
1.	D1	TCBS	Hitam	Bulat	Pipih
2.	D2	TCBS	Kuning	Bulat	Cembung
3.	D3	TCBS	Kuning	Bulat	Pipih
4.	D4	TCBS	Putih	Bulat	Cembung
5.	D5	TCBS	Kuning	Bulat	Pipih
6.	D6	NA	Hijau	Bulat	Cembung
7.	D7	NA	Pink	Bulat	Pipih
8.	D8	NA	Kuning	Bulat	Pipih
9.	D9	NA	Coklat	Bulat	Pipih
10.	D10	NA	Putih	Bulat	Cembung
11.	D11	NA	Kuning	Bulat	Pipih
12.	D12	NA	Putih	Bulat	Pipih
13.	D13	NA	Putih	Bulat	Cembung
14.	D14	GSP	Pink	Bulat	Cembung
15.	D15	GSP	Putih	Bulat	Cembung
16.	D16	GSP	Pink	Bulat	Cembung
17.	D17	GSP	Coklat	Bulat	Pipih

Hasil uji *postulat koch* diperoleh bahwa tiga isolat D2, D7, D12 yang mengakibatkan kematian pada ikan lele uji sebanyak 10%, 20% dan 30%, sedangkan 14 isolat lainnya tidak mengakibatkan kematian pada ikan uji. Oleh karena itu, ketiga isolat ini yang akan dilakukan uji secara molekuler dengan 16 S DNA.

Hasil karakterisasi secara molekuler dengan penelusuran homologi sekuen 16S rDNA untuk isolat D2, D7 dan D12 dengan sekuen DNA *database gen bank* menggunakan sistem BLAST dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Homologi isolat bakteri agensia penyebab penyakit bakteri pada ikan lele dengan bakteri dari *database gen bank*.

No	Kode Isolat	Kekerabatan Terdekat	Homologi (%)	No. Akses
1.	D2	<i>Plesiomonas</i> sp.	87	gb KR189337.1
2.	D7	<i>Aeromonas caviae</i>	96	gb JQ231158.1
3.	D12	<i>Aeromonas sobria</i>	97	gb KC210798.1

Hasil uji sensitivitas terhadap ketiga agensia penyebab penyakit bakteri D2, D7 dan D7 terhadap beberapa obat yang beredar di pasaran disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji sensitivitas beberapa obat yang beredar di pasaran pada ketiga agensia penyebab penyakit bakteri pada ikan lele dari Kabupaten Demak.

Kode Isolat	Obat A			Obat B			Obat C			Obat D															
	Waktu (Jam)																								
	24			48			24			48															
	Dosis ( $\mu$ L)																								
	6	8	10	6	8	10	2,5	5	7,5	2,5	5	7,5	2,5	5	7,5	2,5	5	7,5	2	4	6	2	4	6	
D2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
D7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
D12	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Keterangan: (R) Resisten.

Hasil uji sensitivitas pada Tabel 3. mengindikasikan bahwa ketiga *selective causative agent* penyakit bakteri pada ikan lele (D2, D7 dan D12) tidak resisten terhadap beberapa obat yang beredar di pasaran.

### Pembahasan

Gejala klinis yang terlihat pada ikan sampel adalah lendir yang berlebihan, luka dibagian kepala, berenang menyendiri, *hemorrhagic*, luka kemerahan/borok (*ulcer*) pada permukaan tubuh, sungut kemerahan, perut membesar, sirip gripis yang disertai luka kemerahan pada sirip dada, sirip punggung, sirip ekor, serta hati dan ginjal berwarna pucat. Gejala klinis yang sama pernah dilaporkan oleh Kamiso *et al.* (1994) serta Red & Davar (2010) pada ikan lele yang terserang penyakit bakteri. Ditemukan kemiripan gejala klinis antara ikan sampel dan ikan uji, antara lain: luka kemerahan pada tubuh, borok/*ulcer*, geripis, kemerahan di sirip dan ujung antenula memerah, tubuh menjadi lebih gelap dan ikan cenderung berenang secara tidak beraturan.

Perbandingan hasil sekuen gen 16S rDNA dari ketiga isolat (D2, D7 dan D12) dengan sekuen dari *gen bank* menunjukkan bahwa strain ini mempunyai kekerabatan dekat dengan *Pleisomonas* sp. (87%), isolat D7 dengan *A. caviae* (96%) dan isolat JT 20 dengan *A. sobria* (97%). Tabel 2. juga menunjukkan pula bahwa ketiga isolat tersebut memiliki tingkat homologi yang cukup tinggi dengan kisaran 87-97%. Isolat yang mempunyai persamaan sekuen 16S rDNA lebih dari 97% dapat mewakili spesies yang sama, sedangkan persamaan sekuen antara 93-97% dapat mewakili identitas bakteri pada tingkat genus tetapi berbeda spesies. Oleh karena itu, agensia penyebab bakteri tersebut teridentifikasi secara molekuler memenuhi kaidah pada level genus, akan tetapi beda spesies.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa agensia penyakit bakteri pada ikan lele dari Kabupaten Demak adalah *Pleisomonas* sp. (D2), *A. caviae* (D7) dan *A. sobria* (D12). *Pleisomonas* sp. masih merupakan anggota dari *vibrionacea*, telah berhasil diisolasi dari ikan air tawar dan kerang-kerangan (Austin & Austin, 2007; Austin, 2011). Genus *aeromonas* menyerang ikan lele (Kamiso *et al.*, 1994; Sukenda *et al.*, 2008); ikan mas (Tambunan *et al.*, 2011) dan mengakibatkan kematian organisme budidaya tersebut (Smith, 2006). Penyakit yang diakibatkan oleh infeksi bakteri patogen ini dapat menyebabkan kematian ikan secara massal (Austin & Austin, 2007). *A. caviae* merupakan salah satu bakteri patogen penyebab *motile aeromonas septicemia* pada ikan lele (Austin & Austin, 2007) dan telah menginfeksi nila dan ikan mas (Niedziela *et al.*, 2002). Sedangkan *A. sobria* menginfeksi ikan *marble goby* (Manin *et al.*, 2010) dan *ornamental fish* (Sreedharan *et al.*, 2013) dan lele (Sarjito *et al.*, 2013<sup>b</sup>). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga agensia ini mengakibatkan kematian sebanyak 10%, 20% dan 30%. Bakteri genus *aeromonas* juga pernah dilaporkan mengakibatkan kematian 20-37,5% pada ikan lele (Sarjito *et al.*, 2013<sup>b</sup>).

Hasil uji sensitivitas diperoleh bahwa ketiga agensia penyebab penyakit bakteri pada ikan lele (D2, D7 dan D12) tidak sensitif terhadap obat A<sup>™</sup>, B<sup>™</sup>, C<sup>™</sup> dan D<sup>™</sup>. Hal ini dibuktikan dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram pada ketiga bakteri tersebut. Bakteri dikatakan resisten, karena memiliki besaran zona hambat 0-10 m (NCCLS, 2001). Resistennya bakteri *Pleisomonas* sp., *A. caviae* (Sreedharan *et al.*, 2013) dan *A. sobria* (Mannin *et al.*, 2010), diduga berkaitan dengan pemakaian obat-obatan selama proses budidaya secara meluas dan irrasional (Kemenkes RI, 2011), serta kandungan bahan aktif/antibiotik pada obat tersebut (White & Dermott, 2001). Resistensi terjadi ketika bakteri bermutasi dalam satu atau lain hal, sehingga menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya untuk mencegah atau mengobati infeksi (Sharma *et al.*, 2009). Pemakaian obat secara irrasional juga berdampak pada pencemaran lingkungan dan mengakibatkan munculnya bakteri resisten (Sukenda *et al.*, 2008). Oleh karena itu, ketiga agensia penyebab penyakit bakteri pada lele tersebut resisten terhadap keempat obat tersebut, diduga pula berkaitan dengan pemberian obat yang irrasional selama proses budidaya dalam rangka pencegahan dan pengobatan penyakit. Resistensi bakteri juga dapat terjadi karena mutasi dan seleksi muatan secara acak, dalam hal ini antibiotik berperan sebagai agen seleksi, sehingga dimungkinkan terjadinya multiplikasi kelompok bakteri resisten dan menekan pertumbuhan bakteri yang memiliki sifat sensitif terhadap antibiotik (Atlas, 1995). Selanjutnya, resistensi terhadap antibiotik ini dapat ditularkan ke bakteri lainnya melalui kelompok gen resisten antibiotik, diantara *genes locus* yang sama dengan agen seperti plasmid, *transposons* dan *integrons* (White & McDermott, 2001).

## Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah *causative agent* penyakit bakteri pada ikan lele di sentral produksi Kabupaten adalah *Pleisomonas* sp. (D2), *A. caviae* (D7) dan *A. sobria* (D12). Ketiga agensia penyebab penyakit tersebut tidak sensitif terhadap beberapa obat yang beredar.

## Ucapan Terima Kasih

Penelitian dibiayai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jendral Pendidikan Penguatan Riset dan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi sesuai surat perjanjian penugasan pelaksanaan penelitian No. 002/SP2H/DRPM/2/2016, tanggal 17 Februari 2016. Ketua Laboratorium Budidaya Perairan FPIK UNDIP, Kepala UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro dan Kepala BKIPM Kelas II, Semarang atas kerjasama dan bantuan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Atschul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller & D.J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acid Res.* 25(1): 3389-3402
- Atlas, R.M. 1995. *Principles of microbiology*. Mosby-Year Book, Inc. Missouri. 374 p.
- Austin, B. & D.A. Austin. 2007. *Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish*. Fourth edition. Ellis Horwood limited. Chichester.
- Austin, B. 2011. Taxonomy of bacterial fish pathogens. *Austin Veterinary Res.* 42 (1): 20
- Ausubel, F.M., R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith & K. Struhl. 1988. *Current protocols in molecular biology*. Wiley-Interscience. New York.
- Brock, T.D. & M.T. Madigan. 1991. *Biology of microorganisms*. Prentice Hall, Englewood Cliffs. New Jersey.
- Brinkhoff, T. & G. Muyzer. 1997. Increased species diversity and extended habitat range of sulfur-oxidizing *Thiomicrospira* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (1): 3789-3796
- Cunningham, C.O. 2002. Molecular diagnosis of fish dan shellfish diseases: Present status dan potential use in desases control. *Aquaculture* 206 (1): 19-55
- Holmstrom, K. 2003. Antibiotic use in shrimps farming and implications for enviromental impacts and human health. *J. Food Sci. and Tech.* 38(1): 255-262
- Irianto, A. 2005. *Patologi ikan telestoi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Kamiso. 2004. Status penyakit ikan dan pengendaliannya di Indonesia. Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV, Purwokerto 18-19 Mei 2004. Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto.
- Kamiso, H.N., Triyanto & S. Hartati. 1994. Karakteristik *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele (*Clarias* sp.) di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah Selatan. *Agric. Sci.* 4(1): 741-750
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Buku panduan hari kesehatan sedunia*. Kemenkes. Jakarta.

- Manin, B.O. & J. Ransangan. 2010. Molecular identification and biochemical assays of bacterial isolates from red sore disease in marble goby, *Oxyeleotris marmoratus*. Submitted (03-DEC-2011) Microbiology and Fish Disease Laboratory, Borneo Marine Research Institute, Jalan UMS, Kota Kinabalu, Sabah 88400. Malaysia.
- Myers, M.L., G. Panicker, A.K. Bej. 2003. PCR detection of a newly emerged pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 pathogen in pure cultures and seeded waters from the gulf of Mexico. *Appl Environ Microbiol.* 69(4): 2194-2000
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2001. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Approved standard M100-S11. Wayne, Pa: NCCLS.
- Nazir, M. 1999. Metode penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Radjasa, O.K., D. Nasima, A. Sabdon, K.K. Tsukamoto & K. Ohwada, 2007. Characterization of psychrophilic bacteria from Sea Waters of Makasar Street, Indonesia. *J. Biol., Sci.* 7(4): 658-662
- Rad, M. & S. Davar. 2010. Isolation and characterization of *Vibrio (Listonella) anguillarum* from cat fish. *J. Vet. Anm. Sci.* 34(4): 413-415
- Sarjito. 2010. Aplikasi biomolekuler untuk deteksi agensia penyebab vibriosis pada ikan lele dan potensi bakteri sponge sebagai anti vibriosis. Disertasi. Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sarjito, N.E.W. Ningrum, O.K. Radjasa & S.B. Prayitno. 2012. Application of repetitive sequence base PCR on the richness of vibrio on the tiger shrimps (*Penaeus monodon* F.) . *J. of Coast. Dev.* 15 (3): 304-310
- Sarjito, S.B. Prayitno & A.H.C. Haditomo. 2013<sup>a</sup>. Pengantar parasit dan penyakit ikan. UNDIP Press. Semarang.
- Sarjito, S.B. Prayitno, O.K. Radjasa & S. Hutabarat. 2007. Causative agent vibriosis pada kerapu bebek (*Cromileptes Altivelis*) dari Karimunjawa 1: Pathogenisitasnya terhadap ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *J. Ilmu Kelautan* 12(3): 173-180
- Sarjito, O.K. Radjasa, A.H.C. Condro & S.B. Prayitno. 2013<sup>b</sup>. Causative agent motile aeromonas di sentral produksi ikan lele Provinsi Jawa Tengah. Disajikan Pada Seminar Nasional KAI-2013. Solo, 2-3 September 2013.
- Sarjito, A.H.C. Haditomo. & S.B. Prayitno. 2015. Causative agent vibriosis pada ikan lele dumbo (*Clarias gaeripinus*) yang dibudidayakan di kolam bersalinitas rendah. Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan VI, Semarang.
- Sarjito, O.K. Radjasa, S. Hutabarat & S.B. Prayitno. 2009. Phylogenetic diversity of causative agent of vibriosis associated with groupers fish from Karimunjawa Island, Indonesia. *Curr. Res. of Microbiol.* 2(1): 14-21
- Sharma, A.C.R., C.R. Bora, R.K. Chaurasia & V. Sahu, 2009. Antibiotic susceptibility and genetic analysis of *Vibrio* species isolated from riverine environment. *Curr. Res. Bacteriol.* 19(1): 1-13
- Schaperclaus, W. 1992. Fish disease Vol 1. A.A. Balkema. Rotterdam.
- Smith, P. 2006. Break points for disc diffusion susceptibility testing of bacteria associated with fish diseases: A review of current practice. *Aquaculture* 261(1):1113-1121

- Sreedharan, K. & S.I.S. Bright. 2013. Multiple antibiotic resistant bacteria associated with mass mortality of ornamental fishes. Submitted 11 Sept 2013 National Centre for Aquatic Animal Health, Fine Arts Avenue, Cochin, Kerala 682016, India.
- Sukenda, L.J., D. Wahyuningrum & A. Hasan. 2008. Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. J. Akuakultur Indonesia 7(2): 159-169
- Tambunan, E.J., G. Mahasari, & S. Koesdarto. 2011. Infestasi ktoparasit *Lernea* sp. sebagai faktor pemicu munculnya infeksi bakteri *Aeromonas* sp. pada benih ikan mas (*Cyprinus carpio*).
- White, D.G. & P.F. McDermott. 2001. Biocides, drug resistance, and microbial evolution. Curr. Opin.Microbiol. 4(1): 313-317