

INSIDENSI BAKTERI GENUS VIBRIO YANG BERASOSIASI DENGAN KULTUR MASSAL MIKROALGAE DARI PEMBENIHAN UDANG DI PANTAI UTARA JAWA TENGAH

Sarjito^{1*}, Diana Chilmawati¹, S. P. Rahmanto¹, Slamet Budi Prayitno¹

¹Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro Jl. Prof Soedarto S.H, Kampus Tembalang – Semarang 50275

*Email : sarjito_msdp@yahoo.com

Abstrak

Pakan alami terutama mikroalga mempunyai peranan penting dalam pembenihan udang. Manajemen kultur massal mikroalga yang kurang tepat, dimungkinkan adanya kontaminasi bakteri genus *Vibrio*. Genus *vibrio* merupakan bakteri patogen yang sering menyerang pada pembenihan udang. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini dapat mengakibatkan kematian larva secara massal di pembenihan udang. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji insidensi genus *vibrio* yang berasosiasi dengan kultur massal mikroalga dari pembenihan udang di pantai Utara Jawa Tengah. Sebanyak 21 isolat bakteri berhasil diisolasi media kultur mikroalga pada medium TCBS. Berdasarkan performa morfologi dari kedua puluh satu isolat tersebut, maka enam isolat terpilih (STD09, STD10, STD12, STD13, STD15 dan STD20,) untuk uji Postulat Koch.

Hasil Postulat Koch menunjukkan bahwa keenam isolat tersebut mampu mengakibatkan udang uji sakit 26,7 – 100 % dan mortalitas 3,3 – 100 %, sehingga berpotensi sebagai causative agent *vibriosis* pada udang vaname. Hasil karakterisasi secara morfologi dan biokimia diperoleh bahwa genus *Vibrio* yang berasosiasi dengan kultur massal mikroalga dan mampu menstimulasi *vibriosis* pada pembenihan udang di pantai Utara Jawa Tengah adalah *V. mimicus* (STD 09), *V. harveyi* (STD 10); *V. parahaemolyticus* (STD 12; STD 13); *V. fischeri* (STD 15), *V. alginolyticus* (STD 20).

Kata kunci : Mikroalga; Genus *vibrio*, Udang *vanamaei*

PENDAHULUAN

Kultur massa mikroalga merupakan salah satu kunci keberhasilan usaha pembenihan udang, sebagai sumber pakan. Berbagai mikroalga yang sering dilakukan kultur secara massal adalah *Skeletonema costatum*, *Chlorella* sp. *Chaetoceros calcitrans* (Suminto dan Hirayama, 1993; Chilmawati, 2009). Akan tetapi, kultur mikroalga tidak terlepas oleh adanya kontaminan dari mikroorganisme atau bakteri. Suminto dan Hirayama (1993) melaporkan bahwa bakteri yang merupakan kontaminan dalam kultur mikroalga adalah *Vibrio* sp, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Alcalygenus*, *Alteromonas* dan *Flavobacterium*. Oleh karena itu, penangangan produksi mikroalga, terutama kultur massal yang tidak tepat, dimungkinkan adanya kontaminasi bakteri, khususnya genus *Vibrio*.

Pada praktek keseharian di panti benih udang, transmisi bakteri patogen dari media kultur massal pakan alami ke media pemeliharaan larva udang dapat terjadi pada saat pemberian pakan (Chilmawati, 2009). Oleh karena itu, apabila kontaminan dari mikroalga

adalah bakteri patogen, misalnya Genus *Vibrio*, maka infeksi bakteri genus *Vibrio* yang patogen tersebut dapat mengakibatkan kematian benih udang atau penyakit ini sering disebut vibriosis (Kamiso, 2004). Genus *vibrio* ini merupakan genus dominan yang bertanggung jawab dalam mortalitas organisme budidaya (Sung *et al.*, 1999). Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini dapat mengakibatkan kematian larvae secara masal di pembenihan udang.

Bakteri genus *Vibrio*, telah dilaporkan sebagai bakteri patogen (Sharma dan Chaturvedi, 2007). Agensia vibriosis pada udang/invertebrate tersebut adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. damsela*, *V. charchariae*, *V. anguillarum*, *V. ordalli*, *V. cholerae*, *V. salmonicida*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. pelagia*, *V. splendida*, *V. fischeri* dan *V. harveyi* (Austin dan Austin, 2007). *V. alginolyticus* dilaporkan menginfeksi kerapu (Sarjito *et al.*, 2009), *V. anguillarum* juga telah dilaporkan telah menyerang sidat, lele, dan rainbow trout (Schaperclaus, 1992). Menurut Chirtolite *et al.* (2007), *V. harveyi* dapat menyebabkan penyakit udang bercahaya. Bakteri ini dilaporkan di hatchery, air laut, bak penetasan, bak pemijahan, tangki kultur alga dan bak larva di panti pembenihan. Oleh karena itu, Informasi mengenai genus *Vibrio* yang berasosiasi dengan kultur massal udang sangat penting dalam rangka deteksi kontaminan ini dan tindakan pencegahan terhadap out break vibriosis di pembenihan udang.

MATERI DAN METODA

Metode penelitian yang digunakan adalah eksploratif confirmatory (Arikunto, 2002). Enam sampel kultur massal mikro algae diperoleh dari usaha pembenihan udang di Pantai Utara Jawa Tengah yaitu Unit Pembenihan udang di Rembang dan Jepara. Kultur massal algae yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah kultur massal *Skeletonema* sp. dan *Chlorella* sp. Udang uji adalah juvenile udang sehat dengan berat berkisar antara 1-1,5 g/ekor diperoleh dari unit pembenihan udang di Jepara Jawa Tengah.

Isolasi dan purifikasi bakteri genus *Vibrio* dari kultur massal mikroalgae menggunakan metode *spread plate* (Harley dan Prescott, 2002). pada media TCBS. Isolasi dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro. Duapuluh satu isolat murni (STD 01 – STD21) diperoleh dari media kultur massal mikroalgae di pantai utara Jawa Tengah. Keduapuluh satu isolat ini, kemudian disimpan dalam Nutrien Agar Trisalt (NA, Merck) miring. Berdasarkan *performace morfologi* dari kedua puluh satu isolat (bentuk, warna dan karakter koloni) dipilih 6 isolat (STD 09, STD 10, STD 12, STD 13, STD 15 dan STD 20) untuk dilakukan uji uji postulat Koch dan uji karakterisasi secara morfologi dan uji biokimia.

Enam isolat terpilih dikultur pada media cair *zobell 2201E half strength*, (Sarjito, 2010). Hasil kultur, kemudian diinjeksudang pada udang uji dengan dosis 0,1ml dengan kepadatan bakteri 10^8 *colony forming unit* (CFU)/mL (Sarjito, 2010). Uji Postulat Koch pada penelitian ini dilakukan terhadap 10 ekor udang /isolat dengan 3 kali ulangan. Uji ini dilaksanakan di laboratorium Budidaya Perairan, FPIK, Universitas Diponegoro. Sebelum uji postulat Koch, udang diaklimatisasi selama satu minggu, kemudian dianastesi menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 1 mL/20 L air. Pada penelitian ini bakteri diinjeksi melalui ruas abdomen ke dua pada udang uji dengan *syringe tuberculin*. Pengamatan gejala klinis atau udang sakit dan mortalitas dilakukan setiap jam, selama 96 jam pasca infeksi. Pergantian air sebesar 75 % dilakukan sebelum pemberian pakan, pada pagi hari. Temperatur kualitas air selama pemeliharaan dapat dikatakan layak untuk budidaya udang vannamei yaitu berkisar antara 26 – 28°C, pH 6,8 – 7,3; amoniak : 0,001 - 0,003 mg/l, dan oksigen terlarut sebesar 5 mg/l, serta salinitas 27 – 30 ppt.

Identifikasi keenam isolat bakteri Genus *Vibrio* dilakukan dengan pendekatan morfologi dan biokimia mengacu pada Macfaddin (1980) dan Sarjito *et al.* (2008). Selanjutnya identifikasi bakteri mengacu pada Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.* 1998); *Bacteria from Fish and other Aquatic Animals : A Practical Identification Manual* (Buller (2004) dan *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish* (Austin dan Austin, 2007). Uji ini dilaksanakan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM), Kelas II Semarang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil isolasi bakteri yang berasal dari berbagai media kultur massal mikroalga dengan media TCBS diperoleh 21 isolat bakteri. Karakter dari ke 21 isolat tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter Isolat Bakteri yang Berasal dari Media Kultur Mikroalga berdasarkan Warna, Bentuk serta Karakteristik Koloni

No	Kode Isolat	Asal Isolat	Kosentrasi Media	Media	Bentuk	Warna	Bentuk
1	STD 01	<i>Chlorella sp</i>	10^1	TCBS	Fillamentous	Putih	Cembung
2	STD 02	<i>Chlorella sp</i>	10^1	TCBS	Bulat	Putih	Cembung
3	STD 03	<i>Chlorella sp</i>	10^3	TCBS	Bulat	Putih	Cembung
4	STD 04	<i>Chlorella sp</i>	10^3	TCBS	Bulat	Putih	Cembung
5	STD 05	<i>Chlorella sp</i>	10^3	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung
6	STD 06	<i>Chlorella sp</i>	10^5	TCBS	<i>Irregular</i>	Hijau	cembung
7	STD 07	<i>Chaetoceros sp</i>	10^5	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung
8	STD 08	<i>Chaetoceros sp</i>	10^1	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung
9	STD 09	<i>Nannochloropsis sp</i>	10^3	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung

10	STD 10	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ¹	TCBS	<i>Irregular</i>	Hijau	Cembung
11	STD 11	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ¹	TCBS	Bulat	Putih	Cembung
12	STD 12	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ¹	TCBS	<i>Irregular</i>	Putih	cembung
13	STD 13	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ¹	TCBS	<i>Filamentous</i>	Putih	cembung
14	STD 14	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ³	TCBS	Bulat	Putih	Cembung
15	STD 15	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ¹	TCBS	<i>Irregular</i>	Kuning	Cembung
16	STD 16	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ⁵	TCBS	Bulat	Hijau	cembung
17	STD 17	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ¹	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung
18	STD 18	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ³	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung
19	STD 19	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ⁵	TCBS	Bulat	Putih	Cembung
20	STD 20	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ⁵	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung
21	SBA 21	<i>Skeletonema</i> sp.	10 ⁵	TCBS	Bulat	Hijau	Cembung

Berdasarkan karakter morfologi dan asal isolat dari 21 isolat, maka dipilih 6 isolat untuk dilakukan uji selanjutnya (Tabel 2).

Tabel 2. Enam Isolat Terpilih Berdasarkan Asal dan Performance Morfologi

No.	Kode isolat	Media	Asal Isolat	Bentuk Koloni	Bentuk Koloni	Karakteristik Koloni
1	STD 09	TCBS	<i>Nannochloropsis</i> sp	Bulat	Hijau	Cembung
2	STD 10	TCBS	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Filamentous</i>	Hijau	Cembung
3	STD 12	TCBS	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Irregular</i>	Putih	Cembung
4	STD 13	TCBS	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Irregular</i>	Kuning	Cembung
5	STD 15	TCBS	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Kuning	Cembung
6	STD 20	TCBS	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Kuning	Cembung

Hasil uji postulat Koch dari keenam isolat terpilih disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Udang Uji sakit dan Kematian Udang selama Postulat Koch

No.	Kode isolat	Jumlah Udang Yang menunjukkan Gejala Klinis (%)	Persentase Kematian (%)
1.	STD 09	100	93,3
2.	STD 10	26,7	6,6
3.	STD 12	100	100
4.	STD 13	33,3	26,7
5.	STD 15	36,7	3,3
6.	STD 20	100	96,7

Berdasarkan Tabel 3. memperlihatkan bahwa keenam isolat mampu mengakibatkan udang sakit 33,3 – 100 % dan kemudian mati berkisar antara 3 – 100 %. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa keenam isolat tersebut berpotensi sebagai agensia penyebab

vibriosis pada pembenihan udang. Gejala klinis gejala dari udang uji sakit antara lain adalah hepatitis pankreas pucat kemerahan, melanosis, ekor merah, kaki renang merah, tubuh pucat, usus kosong dan ekor kehitaman dan geripis.

Hasil identifikasi secara morfologi dan biokimia (Tabel 4.) dari keenam isolat genus *Vibrio* yang berasosiasi dengan kultur massal mikroalga adalah *V. mimicus* (STD 09). *V. harveyi* (STD 10); *V. parahaemolyticus* (STD 12; STD 13), *V. fischeri* (STD 15), *V. alginolyticus* (STD 20).

Tabel 4. Hasil Uji Morfologi dan Biokimia Isolat STD 09; STD10, STD 12; STD 13, STD 15 dan STD 20

Uji Bio Kimia	Isolat bakteri					
	STD09	STD10	STD12	STD13	STD15	STD20
	<i>Vibrio mimicus</i>	<i>Vibrio harveyi</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>
Morfologi bentuk						
Bentuk koloni	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular
Bentuk elevasi	Convex	Convex	Convex	Convex	Convex	Convex
Bentuk tepi	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire
Media/warna	TCBS/Hijau	TCBS/Kuning	TCBS/Putih	TCBS/Putih	TCBS/Kuning	TCBS/kuning
Morfologi sel						
Gram	-	-	-	-	-	-
Bentuk	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
0 %NaCl	+	+	+	+	+	+
5 %NaCl	+	+	+	+	+	+
Sifat fisiologis dan biokimia						
O/F	F	F	F	F	F	F
Motility	+	+	+	+	+	+
Produksi :						
Katalase	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-
Lisin	+	+	+	+	+	+

dekarboksilase						
Ornithin dekarboksilase	-	-	-	-	+	-
TSIA	K/K	A/A	A/K	A/K	K/K	A/A
Tumbuh pada 30°C	+	+	+	+	+	+
Indole	-	-	-	-	-	+
Metyl-red		-	-	-	+	-
Voges-proskauer	-	-	-	-	-	-
Simon citrat	+	+	-	-	-	-
Pemecahan gelatin	-	+	-	-	-	-
Urea	-	-	-	-	-	-
Hidrolisis dari :						
Aesculin	-	-	-	-	-	-
Produksi asam dari :						
Glukosa, acid	-	+	+	+	-	+
Lactos, acid	-	-	-	-	-	-
Sukrosa, acid	-	+	+	+	-	+

KETERANGAN :

- + : 90% lebih strain positif
- : 90% lebih strain negatif
- ND : not determine
- d : 11-89% positif
- v : variabel

Pembahasan

Hasil penelitian diperoleh bahwa keenam isolat terpilih yang mampu mengakibatkan 26,7 –100 % udang uji sakit dan mampu mengakibatkan kematian sebesar 3,3-100 % atau sebagai causative agent *vibriosis* pada udang vannamei. Sedangkan, udang uji yang diinjeksi dengan menggunakan PBS memiliki tingkah laku yang laku normal dan kelulushidupan 100%. Oleh karena itu, keenam genus *Vibrio* tersebut memiliki potensi sebagai agensia penyebab vibriosis pada udang vannamei. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa genus *Vibrio* yang berasosiasi dengan kultur massal mikroalgae di pembenihan udang dari pantai utara Jawa Tengah bersifat *pathogen*. Hal ini diduga berkaitan kemampuan memproduksi toksin, enzym dan haemolysin dari bakteri tersebut (Sarjito *et al.*, 2007). Serangan genus *Vibrio*, menurut Irianto (2005) bersifat *septicemia*, dimana efek toksin bisa menyebar ke seluruh tubuh melalui sistem transportasi darah dalam tubuh, sehingga toksin bisa ditemukan jauh dari tempat infeksi dan kolonisasi bakteri (Todar, 2002). Hal ini dibuktikan dengan

terdeteksinya gejala klinis pada udang uji selama postulat Koch yaitu hepatopankreas pucat kemerahan, melanosis, ekor merah, kaki renang merah, tubuh pucat, usus kosong dan ekor kehitaman dan geripis. Gejala klinis yang terdeteksi tersebut, menurut Austin dan Austin (2007) merupakan indikasi adanya infeksi bakteri genus *vibrio*. Gejala klinis yang serupa juga telah dilaporkan pada udang yang terserang vibriosis (Soto-Rodriguez *et al.*, 2010; Sarjito *et al.*, 2012).

Bakteri genus *Vibrio* pernah dilaporkan berasosiasi dengan mikroalgae (Suminto dan Hirayama, 1993). Bakteri genus *vibrio* yang sama juga pernah dilaporkan pada pembenihan turbot (Diggles *et al.*, 2000). Bakteri Genus *Vibrio* telah dilaporkan pula berasosiasi dengan udang (Austin and Austin, 2007; Austin, 2011; Red dan Davar, 2010). Pada penelitian ini, hasil karakterisasi secara morfologi dan biokimia diperoleh bahwa enam isolat bakteri yang berasosiasi dengan kultur massal mikro di pembenihan udang pantai utara Jawa Tengah yaitu *V. mimicus* (STD 09), *V. harveyi* (STD 10); *V. parahaemolyticus* (STD 12; STD 13); *V. fischeri* (STD 15); dan *V. alginolyticus* (STD 20). Hasil penelitian menunjukkan bahwa keenam bakteri genus *Vibrio* (*V. mimicus*; *V. harveyi*; *V. parahaemolyticus*; *V. fischeri*, *V. alginolyticus*) yang berasosiasi dengan kultur massal mikroalgae dari pembenihan udang di pantai utara Jawa Tengah juga bersifat patogen. Oleh karena itu berpotensi sebagai agensia penyebab vibriosis pada pembenihan udang. *V. mimicus* biasa diketemukan di lingkungan estuarin, dan merupakan bakteri yang hidup bebas atau berasosiasi dengan zooplankton, krustacea, moluska, penyu, dan ikan (Mizuno *et al.*, 2009). *V. mimicus* dilaporkan pula sebagai agensia penyebab vibriosis pada udang windu, *P. Monodon*, (Srinivasan dan Ramasamy, 2009); lobster, *P. Homarus*, (Raissy *et al.*, 2011) dan udang vanamei (Sarjito *et al.*, 2015). *V. harveyi* secara umum telah dilaporkan sebagai bakteri patogen budidaya krustacea (Ligthner, 1996); organisme air (Gomez-Gil, 2004); vertebrata dan invetebrata laut (Austin and Zhang, 2006). *V. harveyi* diketemukan menyerang pembenihan udang yang mengakibatkan penyakit udang menyala (Vinod *et al.*, 2006, Chrisolite *et al.*, 2008) dan udang vanamei (Huang *et al.*, 2013). *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri yang banyak ditemukan di perairan (Melky dan Salim, 2006). Akan tetapi insidensi *V. parahaemolyticus* sebagai agensia penyebab vibriosis juga pernah dilaporkan pada udang vanamei, *L. Vannamei*, (Tran *et al.*, 2013), udang windu, *P. Monodon*, (Felix *et al.*, 2011; Tran *et al.*, 2013); udang (Sudheesh *et al.*, 2002), kerang dan tiram (Rojas *et al.*, 2011); ikan kerapu (Sarjito *et al.*, 2009), dan kepiting (Sarjito *et al.*, 2014; Sarjito *et al.*, 2016).

V. fischeri merupakan mikroba normal yang dapat disolasi dari air laut dan merupakan bakteri yang tidak patogen yang berasosiasi dengan organisme laut (Lamas *et al.*, 1990). Bakteri ini ditemukan berasosiasi dengan budidaya turbot (*Scophthalmus maximus*) (Montes *et al.*, 2003), akan tetapi tidak bersifat patogen (Montes *et al.*, 1999). Walaupun demikian, bakteri ini diduga menstimulasi outbreak vibriosis (Lee dan Mory, 1995). Oleh karena itu, bakteri ini sering pula dilaporkan menyerang pada ikan dan invertebrata (Austin and Austin, 2007). *V. alginolyticus* biasa menyerang pada udang (Sudheesh *et al.*, 2002); ikan dan invertebrata (Austin and Austin, 2007). Hasil ini yang sama juga pernah dilaporkan oleh bahwa bakteri genus *Vibrio* merupakan bakteri patogen penting yang diisolasi pada media budidaya udang (Liu *et al.*, 2004). Bakteri ini pernah dilaporkan menyerang pada udang di Taiwan (Liu *et al.*, 2004); China (Ren *et al.*, 2013) dan India (Selvin dan Lipton, 2003).

KESIMPULAN

Hasil penelitian diperoleh bahwa genus *Vibrio* yang berasosiasi dengan kultur massal mikro algae di pembenihan udang pantai utara Jawa Tengah adalah *V. mimicus* (STD 09), *V. harveyi* (STD 10); *V. parahaemolyticus* (STD 12; STD 13); *V. fischeri* (STD 15), *V. alginolyticus* (STD 20). Keenam bakteri tersebut mampu mengakibatkan udang uji sakit 26,7 – 100 % dan mortalitas 3,3 – 100 %, sehingga berpotensi sebagai agensia penyebab vibriosis pada pembenihan udang vaname.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Para pemilik *hatchery* udang di Rembang dan Jepara, Ketua Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Ketua UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro dan Kepala Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu Hasil Produk Perikanan Kelas II Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

- Arikunto, S.M. 2002. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*, Edisi Revisi. Rineka Cipta. Jakarta.
- Austin B. dan D.A.Austin. 2007. *Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish. Fourth edition*. Ellis Horword limited, Chichester..
- Austin, B. 2011. *Taxonomy of Bacterial Fish Pathogens*. Austin Veterinary Research 2011, 42:20

- Austin, B. And H.H., Zhang, 2006. *Vibrio harveyi* a Significant pathogen of Marine Vertebrates and Invertebrates . Lett. Appl. Microbiol., 43 : 119 - 124
- Brock, T.D. and M.T. Madigan 1991. *Biology of microorganisms*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Buller, N. B. 2004. *Bacteria from Fish and other Aquatic Animals : A Practical Identification Manual*. CABI Oxford.
- Chrisolite, B., S. Thiyagarajan, S.V. Alavandi, E.C. Abhilash, N. Kalaimandi, K.K. Vijayan, T.C. Santiago. 2008. *Distribution of Luminescent Vibrio harveyi and Their Bacteriophages in a Commercial Shrimp Hatchery in South India*. *Aquaculture* 275: 13–19.
- Chilmawati, D., 2009. Pengaruh Pencucian Sel Terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Thesis. Universitas Diponegoro, 76 hal.
- Diggles, B.K, J. Carson, P.M. Hine, R.W. Hiskman and M.J. Tait, 2000. *Vibrio* Species Associated with Mortalities in Hatchery-reared Turbot (*Colistium nudipinnis*) and Brill (*C. guntheri*) in New Zealand. *Aquaculture*, 183 : 1-12.
- Gomez-Gil, B., S. Soto-Rodriquez, A. Garcia-Garca, R. Vazquez-Juarez, F.L. Thompson, and J. Swings, 2004. Molecular Identification of *Vibrio harveyi* Related Isolates Associated with Diseases Aquatic Organisms *Microbiol.*, 150 : 1709-1777.
- Harley, J.P and M. Prescott. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology* 5th edition. The Mc Grow-Hill Comparies. USA..
- Holt, J.G., N.R. Kreig, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1998. *Bergey's Manual of Determinative Microbiology*. 9th ed. The Williams & WilKJTins Co, Baltimore.
- Huang. H.H., X.L. Liu, J.H Xiang, dan P. Wang. 2013. Immune Response of *Litopenaeus vannamei* after Infection with *Vibrio harveyi*. *Aquaculture* 406(407): 115–120.
- 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.
- Lamas, J. R. Anadon, S. Devesa, A and .E. Toranzo, 1990. Visceral neoplasia and epidermal papillomas in cultured turbot *Scophthalmus maximus*., *Dis. Aquat. Org.*, 8 : 179–187.
- Lee, K.H., and E.G. Mory. 1995. Symbiotic role of the viable but nonculturable state of *Vibrio fischeri* in Hawaiian Coastal Sea water. *Appl. Environ. Microbiol.*, .61 : 278–283.
- Lightner, DV. 1996. *A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for disease of cultured penaid shrimp*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.

- Liu, C.H., W. Cheng, J.P, Hsu, and J.C. Chen. 2004. *Vibrio alginolyticus* Infection in the White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Confirmed by Polymerase Chain Reaction and 16S rDNA Sequencing. *Disease Of Aquatic Organisms*, 61: 169–174.
- Mac Faddin, J. F., 1980. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*, Second Edition. Williams & Wilkins. Baltimore.
- Melky dan A. Agussalim. 2006. *Distribusi Bakteri Vibrio pada Kolom Air Perairan Banyuasin*. Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Mizuno, T; Sultan, S. Z; Y. Kaneko; T. Yoshimura; Y. Maehara; H. Nakao; T. Tsuchiya; S. Shinoda; S. Miyoshi. 2009. Modulation of *Vibrio mimicus* Haemolysin Through Limited Proteolysis by an Endogenous Metalloprotease. *FEBS J.*, 276(3): 825-834.
- Montes, M., M.J. Pérez, and T.P. Nieto, 1999. Numerical taxonomy of Gramnegative, facultative anaerobic bacteria isolated from skin of turbot (*Scophthalmus maximus*) and surrounding water. *Syst. Appl. Microbiol.*, 22: 604–618.
- Rad, M. And Davar.S., 2010. Isolation and Characterization of *Vibrio (Listonella) anguillarum* from Cat fish. *J. Vet. Antm. Sci.*, 34 (4) : 413 – 415.
- Raissy, M; H. Momtaz; M. Moumeni; M. Ansari; E. Rahimi. 2011. Molecular Detection of *Vibrio* spp., in Lobster Hemolymph. *African Journal of Microbiology Research.*, 5(13): 1697-1700.
- Ren, C., H. Chaoqun, J. Xiao, S. Hongyan, Z. Zhao, C. Chang, and P. Luo. 2013. *Distribution and Pathogenic Relationship of Virulence Associated Genes among Vibrio alginolyticus from the Mariculture Systems*. *Molecular and Cellular Probes*, 27: 164-168.
- Sarjito. 2010. *Aplikasi Biomolekuler Untuk Deteksi Agensia Penyebab Vibriosis pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti Vibriosis [Disertasi]*. Program Doktor Manajemen Sumberdaya Pantai Universitas Diponegoro. Semarang.
- Sarjito, Hastuti, S., Samidjan I., and Prayitno, S.B., 2014. The Diversity Of Vibrios Related To Vibriosis In Mud Crabs (*Scylla Serrata*) From Extensive Brackish Water Pond Surrounding Of Semarang Bay, Indonesia. *Proceeding of International Conference of Aquaculture Indonesia*, pp: 113 - 119
- Sarjito, Ningrum, N.E.W., Radjasa, O.K., dan Prayitno, S.B., 2012. Application of Repetitive Sequence Base PCR on The Richness of *Vibrio* on The Tiger Shrimps (*Penaeus monodon* F.) . *Jurnal of Coastal Development*, 15 (3) : 304 – 310
- Sarjito^a, Prayitno, S.B., Radjasa, O.K., dan Hutabarat, S., 2008. Karakterisasi Molekuler Agensia Penyebab Utama Vibriosis Pada Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari Karimunjawa, *Aquaculture Indonesiana*, 9 (02) : 67 - 72
- Sarjito^b, Prayitno, S.B., Radjasa, O.K., Sabdono, A.dan Hutabarat, S., 2009. Phylogenetik Diversity of the Causative Agent Vibriosis Assosiated ith Grouper In Karimunjawa Islands, Indonesia. *Curr. Research of Bacteriology*, 2 (1) : 19–21

- Sarjito, Apriliani A., Afriani, D, Haditomo, AHC. 2015. Agensia Penyebab Vibriosis Pada Udang Vaname (*Litopenaus Vannamei*) Yang Dibudidayakan Secara Intensif Di Kabupaten Kendal. *Jurnal Kelautan Tropis*, 3 (5) : 31–42
- Sarjito, Haditomo, A.H.C, Desrina, Ferinandika, F.B., Setyaningsih, L., Prayitno, S.B., 2016. Ectoparasites And Vibrios Associated With Fattening Cultured Mud Crabs [*Scylla Serrata* (Forsskal, 1775)] From Pemalang Coast, Indonesia. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)* 78:4–2 (2016) 207–214
- Schaperclaus. W., 1992. *Fish Disease Vol 1*. A.A. Balkema, Rotterdam.
- Selvin, J and A.P, Lipton. 2003. *Vibrio alginolyticus* Associated with White Spot Disease of *Penaeus monodon*. Department of Biotechnology, Malankara Catholic College.. 57: 147–150.
- Sharma A. and Chaturvedi, A.N., , 2007. Population dynamic of *Vibrio* sp. in the river Narmahada at Jabalpur. *J. Enviroment. Biol.*, 28 : 747 - 751
- Soto-Rondriguez; G. Bruno; R. Lozano. 2010. Bright Red Syndrome in Pasific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* is Caused by *Vibrio harveyi*. *Dis Aquat Org*, 2: 11-19.
- Sudheesh P.S., K. Jie, and H.S. Xu. 2002. Random Amplified Polymorphic DNA-PCR Typing of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* Isolated from Cultured Shrimps. *Aquaculture* 207:11–17.
- Suminto and K. Hirayama. 1993. Relation between Diatom Growth and Bacterial Population in Semi Mass Culture Tank of Diatom. *Bull. Fac., Nagasaki University*, 74(75): 37-41.
- Sung, HH., SF Hsu., CK Chen., YY Ting, and WL Cao. 1999. Relationship between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. *Aquaculture*. 192:101-111.
- Tran, L; L. Nunan; R. M. Redman; L. L. Mohny; C. R. Pantoja; K. Fitzsimmons; D. V. Lightner. 2013. Determination of the Infectious Nature of the Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome Affecting Penaeid Shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms.*, 105: 45-55.
- Vinod, M.G., M.M. Shivu, K.R. Umesha, B.C. Rajeeva, G. Krohne, and I. Karunasagar. 2006. Isolation of *Vibrio harveyi* Bacteriophage with a Potential for Biocontrol of Luminous Vibriosis in Hatchery Environments. *Aquaculture*, 255: 117–124