

Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Pertambakan Muara Jambi, Provinsi Jambi

Isolation and Identification of *Aeromonas hydrophila* on Catfish (*Clarias gariepinus*) Farm Muara Jambi, Jambi Province

Titiss Wulandari^{1*}, Agustin Indrawati², Fahriyan Pasaribu²

¹Graduate of Medical Microbiology,

²Department of Animal Disease and Veterinary Public Health,
Faculty of Veterinary Medicine, IPB University,

Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Babakan, Bogor, Jawa Barat 16680, Indonesia
Telp. (0251)8629 459, Fax. (0251)8629 459

*Corresponding author: titiss_wulandari@yahoo.com

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dengan gejala klinis pada kolam bioflok di Kabupaten Muara Jambi, Provinsi Jambi. Bakteri diisolasi dari 35 ekor ikan lele yang memiliki gejala infeksi *A. hydrophila*. Pengambilan sampel dilakukan *Purposive random sampling*. Identifikasi dilakukan uji biokimia berdasarkan Standar Nasional Indonesia SNI 7303.1-2015 dan dilakukan uji konfirmasi metode PCR target gen *aerA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 35 ekor ikan terisolasi 12 isolat bakteri *A. hydrophila* pada uji biokimia. Namun pada pengujian PCR pada agarose gel 0.8% menunjukkan 8 Isolat positif gen *aerA* pada 309 bp. Hasil yang berbeda dapat diakibatkan karena adanya positif palsu pada saat uji biokimia. Hasil identifikasi *A. hydrophila* dengan metode PCR dapat digunakan hasil yang lebih akurat dan waktu uji lebih cepat dibandingkan dengan uji biokimia. Identifikasi yang cepat dapat mempermudah dalam pencegahan infeksi lebih efektif dan cepat.

Kata kunci: *Aeromonas hydrophila*, *Clarias gariepinus*, gen *aerA*

Abstract

The aim of this study was to determine *Aeromonas hydrophila* with clinical sign biofloc pool in Muara Bungo, Jambi Province. Bacteria were isolated from 35 catfishes that had symptoms of *A. hydrophila* infection. Sampling was done by purposive random sampling. The identification of biochemical tests based on the Indonesian National Standard SNI 7303.1-2015 and a confirmation test of the PCR method for the *aerA* gene. The PCR test on 0.8% agarose gel showed 8 positive isolates of the *aerA* gene at 309 bp. Different results can be caused by positive errors during biochemical tests. The results of identification of *A. hydrophila* by PCR method can be used more accurate results and faster compared to biochemical tests. Identification can make it easier to prevent infection more effectively and sensitivity.

Key words: *Aeromonas hydrophila*, *Clarias gariepinus*, gen *aerA*

Received: 28 Maret 2019

Revised: 26 Mei 2019

Accepted: 17 Juli 2019

PENDAHULUAN

Ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan komoditas ikan air tawar yang banyak dibudidayakan di provinsi Jambi. Ikan lele banyak digemari oleh masyarakat karena mempunyai nilai gizi yang baik. Ikan lele pertumbuhannya relative cepat dan mudah berkembangbiak (Khairuman 2008).

Produksi ikan lele di Jambi pada tahun 2009 tercatat sebanyak 1280 ton, kemudian mengalami peningkatan menjadi 4070 ton pada tahun 2013 (BPS 2013).

Budidaya ikan lele di Provinsi Jambi pada umumnya menggunakan sistem bioflok. Sistem bioflok merupakan teknologi budidaya yang didasarkan pada prinsip asimilasi nitrogen anorganik (amonia, nitrit dan nitrat) oleh

mikroba dalam media budidaya. Kemudian dapat dimanfaatkan oleh organisme budidaya sebagai sumber makanan (De Schryver *et al.*, 2009). Bioflok merupakan suatu agregat yang tersusun atas bakteri pembentuk flok, bakteri filamen, mikroalga (fitoplankton), protozoa, bahan organik serta pemakan bakteri. Pemanfaatan nitrogen anorganik oleh bakteri dapat mencegah terjadinya akumulasi nitrogen anorganik pada kolam budidaya yang dapat menurunkan kualitas air. Penambahan sumber karbon ke dalam air menyebabkan nitrogen dimanfaatkan oleh bakteri, selanjutnya akan mensintesis protein dan sel baru. Bioflok kemudian dimanfaatkan sebagai pakan ikan, sehingga dapat mengurangi kebutuhan protein pakan (Avnimelech, 2007).

Kolam bioflok berbentuk bundar, menggunakan terpal dengan rangka atau dinding dari bambu, berdiameter 2–3 meter tinggi air 1 m, dengan tebar ikan sebanyak 3000 ekor per kolam. Sistem bioflok lebih efektif digunakan untuk budidaya dibandingkan dengan sistem konvensional, karena sistem bioflok membantu kejadian penyakit menurun (Rusherlistyani, 2017). Menurut Dwi (2017) selama masa pemeliharaan pada sistem bioflok terdapat sekitar 20% ikan yang mati, sehingga sampai masa panen tersisa sebanyak 80% ekor. Namun masalah yang sering dihadapi dalam budidaya adalah penebaran ikan dengan padat tebar tinggi, tidak mengikuti prosedur sistem bioflok (Sheperd, 1989).

Menurut Sukenda (2008) padat tebar dapat menimbulkan risiko penyebaran penyakit. Salah satunya adalah penyakit oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* (Agus, 2004). Infeksi bakteri ini menyebabkan masalah yang serius bagi petani ikan. Dampak penyakit tersebut dapat menurunkan kualitas daging dan menimbulkan kerugian ekonomi (Supriyadi, 1981).

A. hydrophila merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat patogen. Bakteri ini menginfeksi ikan lele dan menyebabkan penyakit penyakit bercak merah (Yogananth *et al.*, 2009). Gejala yang ditimbulkan oleh penyakit ini seperti kehilangan nafsu makan, luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan,

pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limfa (Austin, 1993). Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi kejadian penyakit pada ikan lele dikolam bioflok yang disebabkan oleh *A. hydrophila*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Jambi dan Balai Uji Standar Karantina Ikan Jakarta Timur. Sampel pada penelitian ini terdiri dari 4 jenis, yaitu: usap organ hati, limfa, ginjal dan usus ikan lele yang berasal dari pertambakan Muara Jambi dilakukan secara *purposive random sampling*.

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah sampel organ (Hati, Usus, Ginjal dan Limfa) ikan lele sakit 35 ekor yang berasal dari kolam Muara Jambi. Media *Rimler Shotts* (RS), *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Oksidatif Fermentatif* (OF), *Kalium Sianida* (KCN), *Tryptic Soy Brot* (TSB), *Hidrogen Klorida* (HCl), Farafin, Antibodi *A. Hydrophila*, Gelatin, *Natrium Klorida* (NaCl Fisiologi), pewarna kristal violet, ATTC 35654, Antigen O, *Phospat Buffer Saline* (PBS) steril, *agarose gel* 0.8%, primer target. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain sarung tangan, masker, rak *stainless*, pipet mikro, petridist, vortex, *UV transilluminator*, PCR.

Penelitian ini menggunakan sampel usap organ ikan lele dikultur pada media *Blood Agar Plate* (BA), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Bakteri yang telah tumbuh di media BA dengan ciri-ciri hemolitik kemudian dikultur pada media TSA di murnikan pada media *Trypticase Soy Agar* (TSA) diinkubasi 37 °C selama 18–24 jam. Selanjutnya di evaluasi pada media *Rimler-Shotts*, bakteri yang tumbuh pada media *Rimler-Shotts* dengan adanya berwarna kuning dilanjutkan uji biokimia.

Selanjutnya dilakukan uji biokimia yang meliputi: Gram, katalase, oksidase, motilitas dan uji lainnya berdasarkan panduan SNI 7303.1-2015. Sampel yang positif selanjutnya dilakukan ekstraksi DNA bakteri *A. hydrophila* menggunakan metode *boiling*. Koloni *A.*

hydrophila diambil 1–2 ose dan dilarutkan dengan 100 µl. Sampel dihomogenkan dengan vortex selama 10–30 detik, selanjutnya dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Kemudian disentrifugasi selama 4 menit dengan kecepatan 12500 rpm. Hasil supernatan disimpan pada suhu -20°C.

Identifikasi spesies *A. hydrophila* dilakukan dengan mendeteksi gen spesifik *aerA* menggunakan primer forward 5'-CAAGAACAAGTTCAAGTGGCCA-3' dan reverse 5'-ACGAAGGTGTGGTTCCAGT-3' (Gehua et al., 2003). Reaksi PCR untuk mendeteksi gen dengan menggunakan *GoTaq[®] Green DNA polymerase* (Promega). Master mix PCR untuk masing-masing target gen adalah 12.5 µl PCR buffer, 2.5 µl MgCl₂ (25 mM), 0.5 µl dNTP mix (200 µM), 2.5 µl primer forward (12 µM), 2.5 µl primer reverse (12 µM), 12.5 Mm *GoTaq[®] Green DNA polymerase*, 3 µl DNA template.

Proses amplifikasi DNA *A. hydrophila* target gen *aerA*, diawali dengan tahap denaturasi pada 95°C dalam 5 menit, kemudian diikuti 50 siklus yang berlangsung dengan tahap denaturasi pada 95°C selama 0.5 menit, annealing 59°C selama 0.5 menit, dan ekstensi pada 72°C selama 0.5 menit. Elongasi akhir pada 72°C selama 7 menit (Gehua et al., 2003). Hasil amplifikasi selanjutnya divisualisasi dengan elektroforesis *agarose gel* 0.8% buffer Tris-acetate-EDATA (TAE), SYBR safe, marker 100 bp. Sampel yang positif *aerA* pada panjang amplicon 309 bp.

Data dianalisis secara deskriptif dengan ditampilkan dalam bentuk gambar dan tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi dari 35 ekor ikan lele yang memiliki gejala klinis dilakukan isolasi dengan pemeriksaan morfologi koloni. Ikan lele dumbo yang terserang penyakit diduga karena adanya faktor-faktor lingkungan yaitu tingkat kepadatan tebar, stres, dan faktor musim.

Menurut Dini (2010) faktor yang munculnya infeksi dapat diakibatkan kontaminasi dari peralatan, perubahan suhu dan lingkungan yang kurang memadai. Berdasarkan pengamatan

didaerah Muara Jambi menunjukkan bahwa kondisi lingkungan cukup baik, akan tetapi kualitas air dalam bioflok kurang memadai dan juga kepadatan tebar cukup tinggi. Hal ini kemungkinan penyebab terjadinya kematian beberapa ikan lele dikolam tersebut.

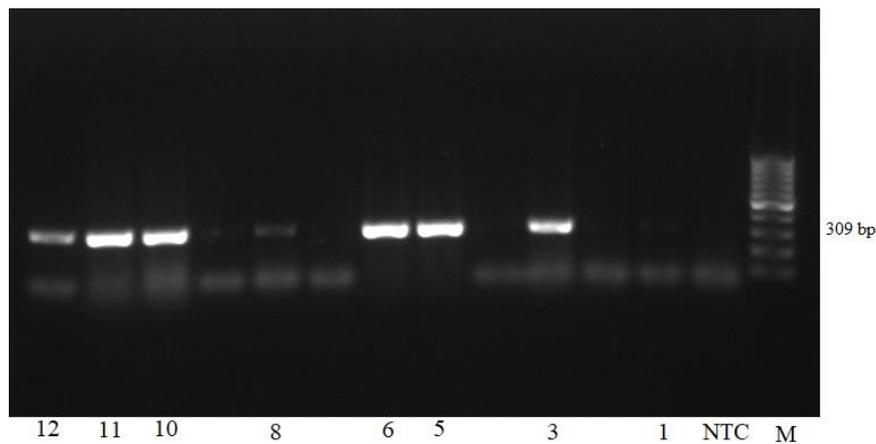
Berdasarkan hasil isolasi dari *swab* organ didapat koloni berwarna krem pada media BA, bentuk bulat, tepi licin, berlendir dan berbentuk cembung (Gambar 1). Hal ini serupa dengan hasil penelitian Anggraini (2016) yang menyatakan morfologi isolasi bakteri *A. hydrophila* pada organ hati, ginjal, dan limfa sampel ikan dari kolam beton didapat koloni berwarna putih kekuningan (krem), bentuk bulat, tepian licin, elevasi cembung.

Hasil uji biokimia didapatkan jumlah keseluruhan yang teridentifikasi (Tabel 1) bakteri *A. hydrophila* 12 isolat yang positif uji biokimia. Hasil secara mikroskopis dengan pewarnaan gram 12 isolat menunjukkan bakteri bersifat gram negatif dan berbentuk *rod*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Muslikha (2016) koloni *A. hydrophila* yaitu berwarna krem, elevasi cembung, dan tepiannya halus, sedangkan morfologi selnya berbentuk batang dan bersifat gram negatif. Uji KOH 3% semua isolat menunjukkan positif ditandai adanya lendir pada kaca objek. Hasil serupa dengan penelitian yang dilakukan Rika (2016) bahwa uji gram dilakukan dengan KOH 3% terdapat lendir pada permukaan objek isolat saat ditetesi KOH 3%. Kelompok bakteri gram negatif memiliki peplidoglikan yang tipis sehingga mempermudah sel pecah (Waluyo, 2007).

Hasil uji katalase menunjukkan adanya reaksi positif yaitu dengan munculnya gelembung udara, adanya reaksi positif ditunjukkan oleh seluruh sampel. Menurut Lubis (2014) katalase merupakan enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂, hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena menginaktivasikan enzim dalam sel. Berdasarkan hasil pemeriksaan pada uji oksidase hasil menunjukkan positif ditandai dengan terbentuknya warna biru pada kertas saring dan juga positif pada uji O/F, hasil serupa dari



Gambar 1. Isolat *A. hydrophila* pada media BA



Gambar 2. Amplifikasi gen *aerA* (309) pada *A. hydrophila*; 8 isolat positif terhadap gen *aerA*. Kode isolat 1, 3, 5, 6, 8, 10, 11 dan 12; NTC= *Non template control*; M= *Marker 100 bp*

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri *A. hydrophila* pada ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Karakterisasi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Bentuk	<i>rod</i>											
Pewarnaan gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Uji gram (KOH 3%)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Motilitas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Suhu 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Suhu 50°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
TSA Nacl 3%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSA Nacl 5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSB pH 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSB pH 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSB pH 11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KCN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DNase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ag. O. A.h	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

penelitian Sri (2016) yang menyebutkan bahwa genus *Aeromonas* memiliki ciri Gram negatif, katalase positif, oksidase positif dan bersifat fermentative (Holt, 1994). Hasil uji motilitas dengan menggunakan media MIO didapatkan bahwa semua isolat bersifat motil, hal ini menandakan semua isolat memiliki flagella. Flagella merupakan salah satu struktur sel yang menyebabkan terjadinya pergerakan pada sel bakteri (Dwijiseputro, 2010).

Hasil inkubasi pada suhu 37°C bakteri mampu tumbuh pada media TSA sedangkan inkubasi pada suhu 50°C bakteri tidak tumbuh pada media TSA. Menurut Hafifudin (2004) suhu optimum bakteri *A. hydrophila* adalah 20–37°C. Berdasarkan hasil uji TSA NaCl 3% bakteri mampu tumbuh, sedangkan pada TSA NaCl 5% bakteri tidak tumbuh. Menurut Marianti (2018) konsentrasi optimal NaCl adalah pada konsentrasi 2–3.5%.

Berdasarkan uji TSB pH 3 bakteri tidak mampu tumbuh, sedangkan hasil TSB pH 9 dan 11 bakteri mampu tumbuh pada media. Menurut Wibowo (2010) pH optimum bakteri lebih dari pH 7. Hasil uji KCN menunjukkan positif dan DNase positif. Sedangkan uji gelatinase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim gelatinase menjadi asam amino, hasil positif ditandai jika medium tetap cair dan negatif jika medium membeku. Pada hasil penelitian menunjukkan media bersifat negatif positif. Penelitian serupa dengan Arwin (2016) bahwa bakteri yang dilakukan uji gelatin medium membeku.

Berdasarkan uji dengan menggunakan antigen O bakteri *A. hydrophila* menunjukkan positif dengan ditandai adanya butiran-butiran gelembung kecil pada kaca objek. Antigen O (Antigenik somatik) merupakan bagian terpenting dalam menentukan virulensi kuman, karena mempunyai struktur kimia lipopolisakarida disebut endotoksin pada lapisan luar tubuh kuman (Sylvia, 2000).

Hasil amplifikasi dari 12 isolat *A. hydrophila* positif biokimia divisualisasi pada 0.8% *agarose gel* dengan target gen *aerA* menunjukkan 4 isolat negatif dan 8 isolat positif gen *aerA* pada pita DNA 309 bp (Gambar 2). Hasil yang berbeda

ini dapat disebabkan hasil positif palsu pada uji biokimia. Hal ini dapat disebabkan kontaminasi Amna (2012) dan dapat juga diakibatkan standar biosafety (Arifin, 2016).

Hasil identifikasi *A. hydrophila* dengan metode PCR target gen *aerA* dapat digunakan untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat, karena metode PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang cepat, efisien untuk mendeteksi, mengidentifikasi, dan mengukur organisme dibandingkan dengan uji biokimia (Maheaswari, 2016). Identifikasi yang cepat dapat mempermudah dalam penanganan infeksi lebih tepat.

KESIMPULAN

Sebanyak 12 isolat dapat diisolasi dari usap organ ikan lele pada pertambakan kolam bioflok di Kabupaten Muara Jambi, Provinsi Jambi yang memiliki gejala infeksi *A. hydrophila* pada uji biokimia. Pada uji metode PCR 8 isolat positif gen *aerA* pada 309 bp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Jambi dan Kepala Balai Uji Standar Karantina Ikan Jakarta Timur yang telah memberikan izin dan fasilitas yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, I. 2004. Pengantar Pangan dan Gizi. Penebar Swadaya Jakarta, 1–120.
- Amna, F.K., Majdwati, A. 2012. Hubungan penebalan dinding kandung kemih pada ultrasonografi dengan sedimen urin leukosit pada penderita klinis infeksi kandung kemih. Yogyakarta. [Artikel ilmiah]. Mutiara Medika, 12(1), 12-18.
- Anggraini, R., Aliza, D., Mellisa, S. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila*

- dengan uji mikrobiologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. 2, 270-286.
- Arifin, A., Hayati, Z., Jamil, K.F. 2016. Isolasi dan identifikasi bakteri di lingkungan laboratorium mikrobiologi klinik RSUDZA Banda Aceh. J. Ilmiah mahasiswa kedokteran komunitas, 1(4), 1-8.
- Arwin, M., Frans, G.I., Reiny, T. 2016. Karakteristik *Aeromonas hydrophila* yang di isolasi dari ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Aquatic Science Management, 4(2), 52–55.
- Austin, B. 1993. Bacterial Fish Pathogens. In Disease in Farmed and wild fish. Ellis Horwood Ltd Publisher Chichester, p364.
- Avnimcleeh, Y. 2007. Feeding wit microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. J. Aquacult., 264, 140-147.
- BPS Badan Pusat Statistik. 2013. Volume produksi lele - gurame – lainnya 2009 -2013. [Internet]. [Diunduh September 29, 2018, 10:41:35 PM]. Tersedia pada:https://www.djpb.kkp.go.id/public/upload/statistik_lainnya/Statistik%20LELE,%20GURAME,%20LAINNYA.
- De Schryver, P.D., Verstraete, W. 2009. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reaktors. J. Biore Techno Elsevier, 100, 162–1167.
- Dini, S.M. 2010. Isolation, characterization, and Identification of bacterium *Aeromonas sp.* causative agents of Motile Aeromonas Septicemia (MAS) in gouramy. Sains Akuatik, 13 (2), 9–16.
- Dwi, S., Heriningsih, S., Ruserlistyani. 2017. Peningkatan produktivitas kelompok tani ikan lele dengan teknik bioflok. Jurnal pengabdian dan pemberdayaan masyarakat, 1(2), 2549–8347.
- Dwijiseputro, 2010. Dasar-dasar mikrobiologi. Djembatan, Jakarta.
- Hafifuddin. 2004. Potensi antibakteri daun kirinyuh chromolaena odonata untuk pengobatan penyakit cacar pada ikan gurame *osprhonemus gouramy* yang disebabkan bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi] Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams and Wilkins Baltimore, 9, 787.
- Khairuman, Amri, K., Sihombing, T. 2008. Budidaya lele dumbo di kolam terpal. PT Agromedia Pustaka Depok, 15–20.
- Lubis, Lukito, A.M. 2002. Lele ikan berkumis paling populer. Agromedia Jakarta.
- Maheaswari, R., Kshirsagar, J.T., Lavanya, N. 2016. Polymerase chain reaction a molecular diagnostic tool in periodontology. J. Indian. Soc. Periodontol., 20(2), 128-135.
- Mariati, E. 2018. Pengaruh kombinasi konsentrasi nacl dan lama fermentasi terhadap produksi asam laktat dari kubis (*Brassica oleracea*). J. Penelitian Teknologi Industri, 10(1), 17–24
- Muslikha, S., Pujiyanto, S.N., Jannah, Novita, H. 2016. Isolasi, karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan deteksi gen penyebab penyakit Motile Aeromonas Septicemia (MAS) dengan 16s rRna dan aerolysin pada ikan Lele (*Clarias sp.*). J. Biologi, 5(4), 1-7.
- Rika, A., Aliza, D., Mellisa, S. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji

- mikrobiologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariiepinus*) yang dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. J. Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah, 1(2), 270-286.
- Rusherlistyani, Dwi, S., Heriningsih, S. 2017. Budidaya lele dengan Sistem kolam bioflok. LPPM UPN VY, 1-31.
- Sheperd, J.C., Bromage, N.R. 1989. Intensive fish farming. Blacwell Scientific Publications London, 11, 404.
- SNI 7303. 2015. Metode identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* secara biokimia. Standar Nasional Indonesia.
- Sukenda, H., Hadi, Rahman, Harris, E. 2008. Pengaruh Penambahan Karbon dan Probiotik Terhadap Profil Bakteri dan Kualitas Air Pada Budidaya Udang Vanamei *Litopenaeus vannamei*. Aquacultura Indonesiana, 9(3), 135-141.
- Supriyadi, H., Taufik. 1981. Identifikasi dan Cara Penanggulangan Penyakit Bacterial pada Ikan Lele (*Clarias batrachus*). Bogor, Bull. Penel. Perik., 1(3), 447-454.
- Sri, R., Triyanto, dan Murwantoko. 2016. Isolasi dan identifikasi *Aeromonas spp.* Dari lele dumbo (*Clarias sp.*) sakit di Kabupaten Ngawi. J. Perikanan Universitas Gajah Mada, 18(2), 55-60.
- Sylvia, R., Alan, R. 2000. Pendekatan diagnostik serologik dan pelacak antigen *Salmonella typhi*. Sari Pediatri, 2(2), 90-95.
- Waluyo, L. 2007. Mikrobiologi umum edisi revisi. UMM Press, 319.
- Wang, G., Clifford, G.C., Chenyi, L., Chad, P., Cindy, K.M., Tamara, M.A.C.K., Richard, C., David, L., Woodward, Frank, G.R. 2003. Detection and characterization of the hemolysin genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* by multiplex PCR. J. Clin. Microbiol., 41(3).
- Wibowo, M., Ratih, I., Ety, R. 2008. Aktivitas kitinase, lesitinase, dan hemolisin isolat dari Bakteri ikan nila (*Oreochromis niloticus lin.*) yang dikultur dalam keramba jaring apung waduk Jatiluhur Purwakarta. J. Ris. Akuakul, 4(2), 257-265.
- Wibowo, M., Ratih, I., Ety, R. 2010. Uji patogenisitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus lin*) melalui postulat koch. J. Ris. Akuakul., 5(2), 245-255.
- Yogananth, N., Bhagyaraj, R., Chanthuru, A., Anbalagan, T., Mullai, N.K. 2009. Detection of virulence gene in *Aeromonas hydrophila* isolates from fish samples using PCR technique. J. Biotec Biochem., 4(1), 51- 53.
