

SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DI KABUPATEN MAGELANG

*Bacterial Selective Associated with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Mortality in Magelang Regency*

Sarjito¹, Monica Nanda¹, Sulisyaningrum², Alfabetian Harjuno Condro Haditomo³, Desrina¹, Slamet Budi Prayitno¹

¹Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Magelang

³Division of Marine Life Science, Graduate School of Fisheries Science, Hokkaido University

Email: sarjito@live.undip.ac.id

Diserahkan tanggal 27 September 2020, Diterima tanggal 20 Desember 2020

ABSTRAK

Kematian ikan nila yang terjadi karena wabah penyakit di Kabupaten Magelang mencapai kisaran 40 - 75 % pada bulan Juni – September 2019, mengakibatkan kerugian ekonomi bagi pembudidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis, dan bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila tersebut. Metode studi kasus konfirmatori dengan *purposive sampling* diaplikasikan. Duapuluh tiga ikan nila sakit panjang $8,87 \pm 0,61$ cm diperoleh dari kolam pembesaran di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang, sebagai sampel. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode gores pada media TSA dan GSP. Hasil isolasi dari duapuluh tiga ikan sampel diperoleh 43 isolat bakteri murni. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna dan karakter serta asal koloni, dari 44 isolat bakteri tersebut terseleksi 6 isolat (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77) untuk dilakukan uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan API KIT Vitek 2 Compact. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji adalah pergerakan ikan pasif dan berenang di permukaan air, sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, *exophthalmia* dan produksi lendir berlebih serta organ dalam yang memucat. Uji postulat Koch diperoleh bahwa keenam isolat bakteri menyebabkan ikan uji sakit dengan mortalitas berkisar antara 46,6 - 96,6%. Hasil karakterisasi diperoleh bahwa keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77).

Kata kunci : aeromonas; pseudomonas; streptococcus; kematian; ikan nila

ABSTRACT

*Mortality of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) due to disease outbreaks in Magelang Regency reached 40 - 75% from June - November 2019, resulting in economic losses of farmer. This study aims were to determine the clinical symptoms and bacteria associated with tilapia mortality. A confirmatory case study method with purposive sampling was applied. Twenty-three sick tilapia fish with a length of 8.87 ± 0.61 cm were obtained from grow out pond in Keji Village, Muntilan District and Pabelan Village, Mungkid District, Magelang District, as samples. Bacteria isolation was carried out by scratch method on TSA and GSP media. The isolation from twenty-three fish samples resulted on 43 bacterial isolates. Based on morphological characters, isolation media, shape and color as well as sources and character colony of 44 isolates, they were selected into 6 isolates (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77) for further testing, i.e: the Koch postulate test and biochemical characterization using Vitek 2 Compact. API KIT. The clinical symptoms detected in the samples and test fish were fish that moved passively and swam on the surface of the water, wrinkled fins, wounds on the body, pale gills, red spots on the body, *exophthalmia* and excess mucus production and pale internal organs. The Koch postulate test result showed that the six selected bacterial caused the test fish to be sick with a mortality ranging from 46.6-96.6%. The characterization of the selective bacteria associated with tilapia mortality in Magelang Regency, namely: SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77 were *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96%); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) and *Aeromonas caviae* (98%) respectively.*

Keywords: aeromonas; pseudomonas; streptococcus; mortality; tilapia

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar ekonomis penting dan menjadi salah satu komoditas ikan unggulan di provinsi Jawa Tengah. Oleh karena itu, budidaya ikan ini juga sudah berkembang di hampir seluruh wilayah Jawa Tengah, termasuk pula di

Kabupaten Magelang. Produksi ikan nila di kabupaten Magelang mencapai kenaikan secara tajam dari 4.811,36 ton pada tahun 2016 menjadi 7.022,57 ton tahun 2019 atau mengalami peningkatan sebesar 45,96% (Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang, 2021) Peningkatan produksi ikan ini dikarenakan adanya ekstensifikasi lahan dan penerapan teknologi intensif. Akan tetapi, apabila penerapan

teknologi intensif yang tidak tepat, akan dapat berdampak pada penurunan kualitas air (Sarjito *et al.*, 2019), meningkatkan stress pada ikan yang dipelihara, sehingga organisme budidaya mudah terserang penyakit (Hardi *et al.*, 2017; Hardi *et al.*, 2018). Hal ini dibuktikan pula dengan penurunan produksi ikan ini di wilayah ini menjadi 5.601,21 ton atau sekitar 20,23 % di tahun 2020 (Dinas Peternakan dan Perikanan, 2020). Penurunan produksi ini dapat berkaitan dengan adanya serangan penyakit, terutama akibat serangan bakteri patogen, sehingga mengakibatkan kerugian secara ekonomi (Muslikha *et al.*, 2016, Agustina *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan penyakit bakteri pada ikan nila (Eissa *et al.*, 2010; Kayansamruaj *et al.*, 2014; Amanu *et al.*, 2015). Agensia penyebab penyakit yang berasosiasi dengan penyakit bakteri pada ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila* (Zahran *et al.*, 2019; Monir *et al.*, 2020), *Pseudomonas* sp. (Eissa *et al.*, 2010; Zahran *et al.*, 2019), *Streptococcus* sp. (Ashari *et al.*, 2014; Zahran *et al.*, 2019), *Alteromonas shigelloides* dan *Mycobacterium* sp. (Manrique *et al.*, 2019; Zahran *et al.*, 2019; Elbahnaswy dan Gehad 2020); *S. agalactiae* (Kayansamruaj *et al.* 2014; Doan *et al.*, 2019), *P. putida* dan *P. aerogenosa* (Hardi *et al.*, 2019). Out break dari penyakit bakteri pada sistem budidaya akan dapat mengakibatkan kematian 50 - 100% pada ikan nila (Kimura *et al.*, 2017).

Adanya kasus kematian 40 -75% ikan nila secara terus menerus pada kolam pembesaran di Desa Keji dan Pabelan Kabupaten Magelang selama bulan Juni – September 2019 (Sulistyaningrum, 2021, Komunikasi Pribadi) dengan gejala klinis adanya serangan penyakit bakteri, sangat menarik untuk ditelaah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis dan bakteri yang berasosiasi dengan out break penyakit dan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah. Kepastian akan bakteri penyebab kematian ikan yang merupakan hasil penelitian ini akan dapat dijadikan dasar untuk mendesain cara pencegahan dan pengendalian penyakit bakteri pada ikan nila di wilayah ini secara lebih tepat pada masa yang akan datang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2019 di Laboratorium BPTPB Cangkringan, Yogyakarta, laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro dan Loka Hama Penyakit, Serang, Banten.

METODE PENELITIAN

Ikan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 23 ekor ikan nila sakit dengan ukuran panjang $8,87 \pm 0,62$ cm yang berasal dari kolam pembudidaya ikan di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang. Sedangkan 210 ekor ikan nila uji berukuran $8,94 \pm 0,56$ cm diperoleh dari unit pembenihan Rakyat di Kabupaten Semarang.

Wadah uji yang digunakan uji postulat Koch adalah akuarium berukuran $40 \times 30 \times 30$ cm³ yang dilengkapi dengan sistem aerasi. Media bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan GSP (*Glutamate Stratch Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media cair.

Metode studi kasus confirmatori dan *purpusive* sampling digunakan pada penelitian ini. Ikan nila sampel dipilih secara selektif berdasarkan kriteria dari Zahran *et al* (2019). Isolasi dan purifikasi bakteri dilakukan dengan metode

streak pada media NA (merk) dan GSP (Brock dan Madigan, 1991; Sarjito *et al.*, 2007; Sarjito *et al.*, 2014^b, Anupama *et al* 2015; Amal *et al* 2018) Empat puluh tiga isolat murni (SN 01 – SN 77) diperoleh dari ginjal, hati dan luka ikan sampel, kemudian disimpan pada media Nutrien Agar Trisalt (NA, Merck) miring. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna, karakter dan asal koloni, dari 43 isolat bakteri tersebut dipilih 6 isolat terseleksi yaitu SN 03, SN 26, SN 48, SN 51, SN 66 dan SN 77 untuk dilakukan uji selanjutnya. Uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan menggunakan Vitek 2 compact.

Kultur keenam isolat bakteri terseleksi dilakukan dengan cara menginokulasi isolat bakteri tersebut dari media TSA miring ke dalam media cair TSB, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker*. Metode kultur bakteri ini mengacu pada Sarjito (2010). Selanjutnya, untuk menghitung kepadatan bakteri menggunakan *spectrophotometer*. Pada penelitian ini uji postulat Koch dilakukan dengan menginjeksikan keenam isolat terseleksi ke ikan uji sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan 10^5 CFU/ secara *intrapertoneal*. Ikan yang digunakan sebanyak 180 ekor. Selain itu, sebagai kontrol ikan uji juga diinjeksi dengan 0,1 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Selanjutnya, ikan uji yang sudah diinjeksi dengan keenam bakteri dan PBS dilakukan pengamatan berkaitan gejala klinis sebagai indikasi ikan uji sakit dan kematian ikan uji sampai hari ke-7 paska injeksi.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis pada ikan sampel maupun ikan uji dan mortalitas selama berlangsungnya uji postulat Koch, dan karakterisasi keenam selektif bakterial yang berasosiasi dengan kematian ikan nila. Gejala klinis diamati secara visual meliputi tingkah laku dan morfologi ikan. Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan Vitek 2 compact. Vitek 2 compact merupakan alat sejenis kit API yang terdiri dari 47 slot reagen biokimia. Prosedur kerja identifikasi bakteri menggunakan vitek 2 compact, mengacu pada Biomerieux (2016); Pincus (1978) yang dimulai dari sterilisasi, inokulasi inkubasi, test reaksi dan analisis hasil kesesuaian isolate. Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan suhu dilakukan saat pengambilan ikan sampel dan pelaksanaan uji postulat Koch.

Data berupa gejala klinis, jenis bakteri, mortalitas ikan uji dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Gejala Klinis

Gejala klinis yang ditunjukkan ikan nila sampel berupa perubahan tingkah laku dan morfologi ikan. Tingkah laku ikan sampel adalah tidak normal, pergerakan ikan terlihat lebih pasif dan cenderung berenang di permukaan air. Perubahan morfologi ikan sampel adalah sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, insang pucat, *exophthalmia* dan produksi lendir pada tubuh ikan berlebih serta organ dalam yang memucat (Gambar 1).

Isolat Bakteri

Hasil isolasi yang dilakukan pada ginjal, hati, insang maupun luka dari 23 ikan nila sampel diperoleh 44 isolat

bakteri, tersaji pada Tabel 1. Dari ke empatpuluh empat isolat (Tabel 2) , kemudian diseleksi berdasarkan media yang digunakan, bentuk, warna maupun karakteristik koloni serta

asal isolat diperoleh 6 isolat (Tabel 2) untuk dilakukan uji postulat Koch dan identifikasi.

Tabel.1. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	Organ
1	SN01	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
2	SN02	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
3	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
4	SN04	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
5	SN05	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
6	SN06	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
7	SN07	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
8	SN08	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
9	SN09	Irregular	Putih	Convex	Lobate	TSA	insang
10	SN15	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
11	SN16	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
12	SN26	Iregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
13	SN27	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
14	SN28	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
15	SN29	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	luka
16	SN30	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
17	SN31	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
19	SN41	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
20	SN42	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
21	SN43	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
22	SN44	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
23	SN45	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
24	SN46	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	insang
25	SN47	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
26	SN48	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
27	SN49	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	insang
28	SN50	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
29	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
30	SN63	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	ginjal
31	SN64	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
32	SN74	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
33	SN75	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
34	SN76	Circular	Kuning	convex	Lobate	GSP	insang
35	SN77	Iregular	Kuning	convex	Entire	GSP	Luka
36	SN65	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
37	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
38	SN67	Circular	Kuning	Convex	Lobate	GSP	ginjal
39	SN68	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
40	SN78	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
41	SN79	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
42	SN80	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	insang
43	SN81	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
44	SN82	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka

Tabel 2 . Selektif Isolat Bakteri Berdasarkan Karakteristik Morphologi

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	Organ
1.	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
2.	SN26	Iregular	Putih	Convex	Entire	TSA	Hati
3.	SN48	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	ginjal
4.	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
5.	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
6.	SN77	Iregular	Kuning	Convex	Entire	GSP	Luka

Uji Postulat Koch

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa keenam isolat terseleksi (SN03, SN26, SN48, SN51, SN77 dan SN66) mengakibatkan ikan uji sakit dan mati berkisar antara 46,6 - 96,6%. Gejala klinis ikan uji yang sakit adalah mirip dengan gejala klinis pada ikan sampel. Gejala klinis tersebut adalah exophthalmia, produksi lender berlebihan, bercak merah, luka warna merah - hitam pada bekas injeksi, dan sirip geripis. Gambar 2 menunjukkan bahwa pola kematian ikan uji yang diinjeksi keenam isolat terseleksi memiliki puncak kematian ikan uji yang berbeda. Namun, isolat SN77 memperlihatkan tingkat kematian paling tinggi (99,6%) dibandingkan dengan isolat lainnya.

Uji Karakterisasi menggunakan Vitek 2. Compact

Hasil karakterisasi 6 isolat bakteri terseleksi (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) dengan menggunakan

Vitek 2 Compact disajikan pada Tabel 3 yang memperlihatkan bahwa keenam isolat bakteri terseleksi yaitu isolat SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77 adalah *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96 %); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) dan *Aeromonas caviae* (98%).

Kualitas Air

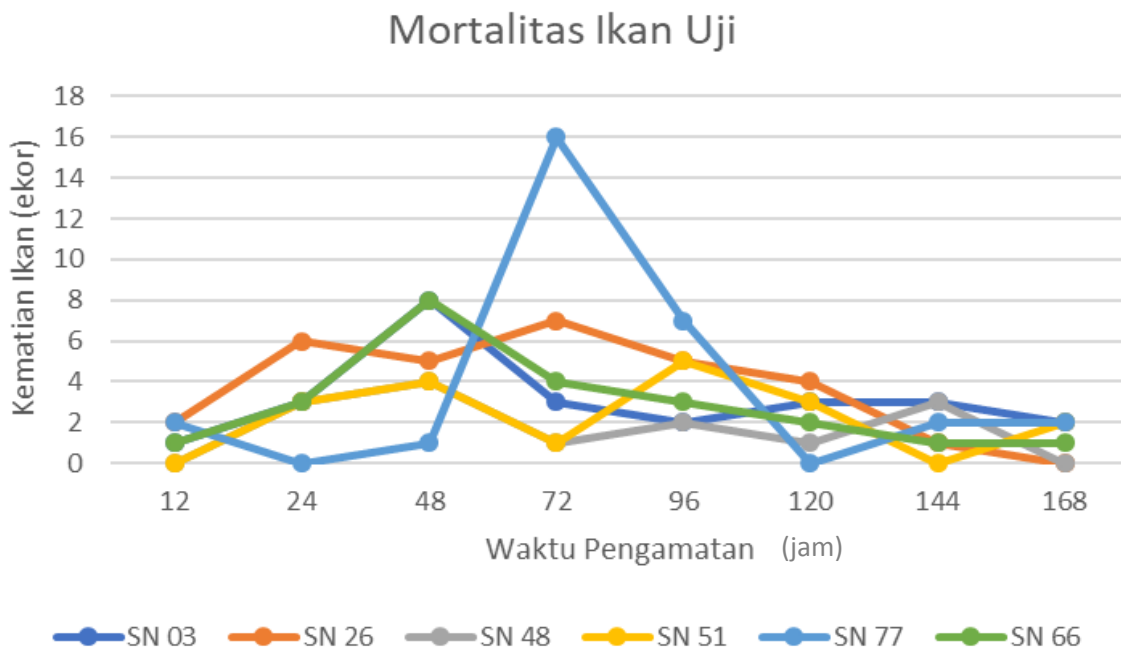
Hasil peneraan beberapa parameter Kualitas air pada kolam pembesaran ikan nila di kabupaten Magelang dan selama pelaksanaan uji postulat Koch adalah layak untuk pemeliharaan ikan nila (Tabel 4).



Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Uji yang Diinfeksi dengan Selektif Bakteri yang Berasosiasi dengan Kematian Ikan Nila

Keterangan: ↖ = Exophthalmia; ↓ = Sirip Geripis; ↑ = Insang Pucat; ↗ = Luka; ↘ = Bercak Merah

a= diskolorisasi, exophthalmia, sirip geripis; b= diskolorisasi, bercak merah dan luka; c.=exophthalmia, insang pucat, sirip geripis dan produksi lender berlebihan



Gambar2. Pola kematian Ikan Uji Selama Uji Postulat Koch

Tabel 3. Hasil Identifikasi Bakteri yang Berasosiasi dengan Kematian Ikan Nila di Kabupaten Magelang

No	Karakteristik		SN 03	SN 16	SN 51	SN 48	SN 66	SN 77
1.	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE (APPA)		-	-	+	-	-	-
2.	Adonitol (ADO)		-	-	-	-	-	-
3.	L-Pyrroludonyl Arylamidase (PyrA)		-	+	+	-	-	+
4.	L-Arabitol (IARL)		-	-	-	-	-	-
5.	D-CELLOBIOSE (dCEL)		-	-	-	-	-	+
6.	Beta-Galactosidase (BGAL)		+	-	+	-	-	+
7.	H ₂ S Production (H ₂ S)		-	-	-	-	-	-
8.	Beta-Acetyl-Glucosaminidase (BNAG)		+	-	+	-	-	+
9.	Glutamyl Arylamidase pNA (AGLTp)		-	+	+	-	-	-
10.	D-Glucose (dGLU)		+	+	+	+	+	+
11.	Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)		+	+	-	+	+	-
12.	Fermentation/Glucose (OFF)		+	-	+	-	-	+
13.	Beta-Glucosidase (BGLU)		-	-	-	-	-	+
14.	D-Maltose (dMAL)		+	+	+	-	-	+
15.	D-Mannitol (dMAN)		+	-	+	-	-	+
16.	D-Mannose (dMNE)		+	-	+	+	-	-
17.	Beta-Xylosidase (BXYL)		-	+	-	-	+	-
18.	Beta-Alanine arylamidase pNA (BALap)		-	-	-	-	-	-
19.	L-Proline Arylamidase (ProA)		+	-	+	+	+	+
20.	Lipase (LIP)		+	-	-	-	-	+
21.	Palatinose (PLE)		-	-	-	-	-	-
22.	Tyrosine Arylamidase (TyrA)		+	+	+	+	+	-
23.	Urease (URE)		+	-	-	-	-	-
24.	D-Sorbitol (dSOR)		+	+	-	-	-	+
25.	Saccharose/ucrose (SAC)		+	-	-	-	-	+
26.	D-Tagatose (dTAG)		-	+	+	-	-	-
27.	D-Trehalose (dTRE)		+	+	+	-	-	+
28.	Citrate (Sodium) (CIT)		-	-	+	+	+	-
29.	Malonate (MNT)		-	-	-	+	+	-
30.	5-Keto-D-Gluconate (5KG)		-	-	-	-	+	-
31.	L-Lactate Alkalinization (ILATk)		-	+	+	+	-	+
32.	Alpha-Glucosidase (AGLU)		-	-	-	-	-	-
33.	Succinate Alkalinization (SUCT)		+	+	+	+	+	+
34.	Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase (NAGA)		-	-	+	-	-	-
35.	Alpha-Galactosidase (AGAL)		-	-	-	-	-	-
36.	Phosphatase (PHOS)		-	-	-	-	-	-
37.	Glycine Arylamidase (GlyA)		-	+	+	-	-	-
38.	Ornithine Decarboxylase (ODC)		-	-	-	-	-	-
39.	Lysine Decarboxylase (LDC)		-	-	-	-	-	-
40.	L-Histidine (IHISa)		-	+	-	+	+	-
41.	Courmarate (CMT)		+	-	+	-	-	+
42.	Beta-Glucuronidase (BGUR)		-	-	-	-	-	-
43.	o/129 Resistance (O129R)		-	-	-	+	+	+
44.	Glu-GlyArg-Arylamidase (GGAA)		+	-	+	-	-	+
45.	L-Malate Assimilation (IMLTa)		-	-	+	+	+	-
46.	Ellman (ELLM)		+	+	+	-	-	+
47.	L-Lactate (ILATa)		-	-	-	+	-	-
Hasil identifikasi (% kesesuaian dengan spesies)			<i>Aeromonas hydrophila</i> (97%)	<i>Streptococcus agalactiae</i> (98)	<i>Aeromonas sobria</i> (96%)	<i>Pseudomonas putida</i> (96%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (96%)	<i>Aeromonas caviae</i> (98%)

Tabel 4. Nilai Beberapa Parameter Kualitas Air di Lokasi Sampling dan selama Uji Postulat Koch

Parameter	Kolam		Uji Postulat Koch							Kisaran Optimum
	Keji	Pabelan	PBS	SN03	SN26	SN48	SN51	SN66	SN77	
DO (mg/L)	3,1-3,3	3,2-3,4	3,2-3,3	3,1-3,4	3,2-3,6	3,1-3,4	3,2-3,4	3,2-3,5	3,1-3,4	≥ 3 ^{a)}
Suhu (°C)	26-28	25 - 28	25- 28	25 - 28	26 - 28	26 - 28	25 - 28	26 - 28	25 - 28	25-32 ^{b)}
pH	7,1-7,6	7,1-7,8	7,2-7,6	7,2-7,7	7,2-7,8	7,3-7,6	7,0-7,8	7,4-7,7	7,3-7,9	6,5-8,5 ^{a)}

Keterangan: a) SNI6139:2009; b) SNI7550:2009

Pembahasan

Gejala klinis ikan sampel maupun ikan uji adalah sirip geripis, bercak merah pada tubuh, luka pada tubuh, insang pucat, produksi lendir berlebih, *exophthalmia* dan warna permukaan tubuh yang pudar. Gejala klinis tersebut pernah dilaporkan pada ikan nila yang terserang penyakit bakteri oleh Aksoy *et al* (2020) dan Doan *et al* (2019). Sedangkan, ikan juga terlihat pasif dan cenderung berenang di permukaan. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan nila tersebut, merupakan gejala spesifik adanya serangan penyakit bakteri. Gejala yang serupa pernah dilaporkan oleh Piasamboon *et al.* (2020) dan Zhang *et al.* (2020) dijelaskan bahwa gejala klinis tersebut berupa perubahan morfologi tubuh, *exophthalmia* dan siripnya terkelupas. Tingkah laku ikan uji setelah pasca penyuntikan bakteri ialah gerakan renang ikan nila uji menjadi pasif dan gerakan renang yang tidak terarah. Hal ini menunjukkan adanya reaksi pasca reinfeksi isolat bakteri yang diinjeksikan pada ikan nila uji. Selanjutnya, ikan nila yang terserang penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan adanya perubahan morfologi dan kematian (Dong *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2017).

Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam selektif bakteri (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) menyebabkan ikan uji sakit. Keenam selektif bakteri tersebut mengakibatkan hampir semua ikan uji sakit (96,6 - 100%) dan mati (40,6 - 96,6 %) ikan uji. Oleh karena itu, keenam bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan di kabupaten Magelang merupakan bakteri yang bersifat “*true pathogen*”. Lima isolat (SN 03, SN 26, SN77, dan SN 66) masuk dalam katagori pathogenitas tinggi, karena mengakibatkan kematian ikan uji antara 66,8 - 96,6 %. Hanya satu isolat (SN51) dalam katagori pathogenitas sedang, karena isolat ini mengakibatkan ikan uji sakit dan mati sebesar 40,6 %. Hasil ini juga ditunjang dengan optimalnya kualitas air selama proses uji postulat Koch berlangsung, sehingga sakit dan matinya ikan uji bukan disebabkan oleh faktor kualitas air, tetapi disebabkan oleh infeksi bakteri yang diinjeksikan. Hasil ini membuktikan bahwa kematian ikan nila sampai dengan 75% pada kolam pembesaran di kabupaten Magelang disebabkan oleh infeksi bakteri. Hasil ini mirip dengan penelitian terdahulu oleh Wang *et al.* (2017); Thomas *et al.* (2013); Eugenin *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa infeksi bakteri pathogen dapat mengakibatkan 100 % mortalitas pada ikan nila.

Berdasarkan hasil karakterisasi enam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang teridentifikasi sebagai *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteri bersifat *true pathogen* dan berasosiasi dengan tiga

genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*. Ketiga genus tersebut sering dilaporkan sebagai agensia penyakit bakteri pada ikan (Baldissera *et al.*, 2018; Hardi *et al.*, 2019).

Tiga bakteri genus *Aeromonas* yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *A. hydrophila*, *A. sobria* dan *A. Caviae*. Ketiga bakteri tersebut bersifat *true pathogen*. *A. hydrophila* secara umum merupakan bakteri alami yang berada di perairan dan bersifat patogen oportunistik, sehingga pertumbuhannya akan meningkat secara pesat apabila kondisi lingkungan mengalami penurunan dan dapat mengakibatkan kematian ikan (Baldissera *et al.*, 2018). *A. hydrophila* pernah dilaporkan menginfeksi ikan nila dan mengakibatkan kematian dalam kurun waktu 3 - 7 hari (Naby *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2020; Kuebutornye *et al.*, 2020). *A. sobria* dilaporkan menyerang ikan nila (Fa dan Yaoma, 2015, Abolghai *et al.* 2016), fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Dar *et al.*, 2016) dengan gejala klinis antara lain: sirip geripis, dan tubuh sangat berlendir. *A. caviae* juga menyerang ikan

Menurut Thomas *et al.* (2013) dan Anandan *et al.* (2017), *A. caviae* bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 100%. Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Oleh karena itu *A. caviae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila akibat infeksi *A. caviae* pernah pula dilaporkan oleh Peepim *et al* (2016); Souza *et al* (2019) dan Mzula *et al* (2019). *A. caviae* merupakan bakteri patogen yang dapat menginfeksi ikan sehingga menyebabkan kematian mencapai 90%.

S. agalactiae terdeteksi menjadi salah satu bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang. *Streptococcus* sp. merupakan salah satu agensia penyebab *Streptococcosis* dengan gejala umum seperti: lemah, warna gelap, hilang nafsu makan, disorientasi atau hilang keseimbangan, uni/bilateral *exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan dan luka pada bagian eksternal (Lee *et al* 2020; Wang *et al* 2019; Zamri *et al.*, 2014). Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Hasil ini membuktikan bahwa *S. agalactiae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila secara massal sebagai akibat infeksi *S. agalactiae* pernah pula dilaporkan pada ikan nila oleh Sirimanapong *et al.*(2018) dan Doan *et al.* (2019).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri genus *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. aeruginosa*) berasosiasi dengan kematian nila di kabupaten Magelang. *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri umum yang sering ditemukan di lingkungan perairan dan pathogen pada ikan (Lopez *et al.*, 2012; Hardi *et al.*, 2019). *P. putida* dan *P. aeruginosa*

menginfeksi ikan nila di danau Qaroun dan Wadi-El Rayan, Mesir (Eissa *et al.* (2010), ikan rainbow trout (Altinok *et al.*, 2008). *P. putida* merupakan pathogen terhadap ikan, dengan gejala ikan mengalami eksophtalmia, pigmentasi gelap pada kulit dan ulserasi terutama di sisi dorsal (Altinok *et al.*, 2008). Sedangkan *P. aeruginosa* merupakan patogen oportunistik ikan air tawar dengan gejala klinis adalah pendarahan pada tubuh ikan sehingga organ di dalam tubuh ikan menjadi rusak (Ashraf *et al.*, 2016). Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa isolat *P. aeruginosa* (SN66) adalah menyebabkan ikan uji sakit (100%) dan mati (80%). Kematian ini lebih tinggi dibandingkan oleh penelitian terdahulu. *P. aeruginosa* mengakibatkan kematian 30 % dari ikan tawar (Ashraf *et al.*, 2016) dan 75% (Thomas *et al.*, 2014; Verma *et al.*, 2018; Giri *et al.*, 2020) dengan gejala mirip dengan ikan nila dari Magelang. Oleh karena itu, berdasarkan gejala klinis, hasil uji postulat diperoleh bahwa kematian ikan nila di kabupaten Magelang pada bulan Juni – September 2019 disebabkan oleh penyakit bakteri. Konsorsium bakteri yang berasosiasi dengan penyakit bakteri yang terseleksi pada penelitian ini adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteri bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*.

KESIMPULAN

Berdasarkan kemiripan gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji yaitu sirip geripis, mata menonjol, produksi lendir berlebih, insang pucat, diskolorisasi/warna tubuh pudar, produksi lendir berlebih dan pendarahan di tubuh dan organ dalam rusak, maka kematian ikan di kabupaten Magelang disebabkan oleh penyakit bakteri. Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam selfif bakteri assosiasi mengakibatkan ikan saki dan mati ikan uji pada kisaran 40,6 – 99,6 %, sehingga bersifat True pathogen. Berdasarkan hasil karakterisasi disimpulkan bahwa selektif Bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila adalah *A. hydrophila* (SN03), *S. agalactiae* (SN26), *A. sobria* (SN48), *P. putida* (SN51), *P. aeruginosa* (S 66) dan *caviae* (SN 77)

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada kepala Laboratorium BPTP Cangkringan, Daerah Istimewa Yogyakarta, Ketua Laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro dan Dinas Peternakan dan Perikanan yang telah memberikan bantuan dan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Abolghai, S. K., M. F. M. Salah., M. A. Aboubakar., M. Garbajb dan A. A. Moawad. 2016. Attenuated virulence of pigment-producing mutant of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* in HeLa cells and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Veterinary Science and Medicine, 1(1): 43-47. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.004>

- Agustina, S. S., Y. Mutalib dan A. A. Bakri. 2018. Uji Daya Antiparasit Konsentrasi Ekstrak *Piper betle* L. Terhadap Parasit *Trichodina* sp. Yang Menginfeksi Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Seminar Nasional Kelautan XIII FPIK Universitas Hang Tuah. Tahun 2018.
- Aksoy, M. Y., R. Eljack., C. Schrimsher dan B. H. Beck. 2020. Use of Dietary Frass from Black Soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens*, in Hybrid Tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. mozambique*) Diets Improves Growth and Resistance to Bacterial Disease. Aquaculture Reports, 17: 100373. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373>
- Altinok, I., E. Capkin dan S. Kayis. 2008. Development of Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detections of Five Bacterial Fish Patogens. Journal of Veterinary Microbiology. 131: 332-338. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.04.014>
- Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkifli, R., Misri, S., Ramley, B., Zamri-Saad, M., 2018. The effect of water temperature on the incidence of *Streptococcus agalactiae* infection in cage-cultured tilapia. In: Supranianondo, K. (Ed.), Abstracts of the International Seminar on Management Strategies on Animal Health and Production in Anticipation of Global Warming. Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia, pp. 48. Doi: <https://doi.org/10.1111/are.12180>
- Amanu, S., T. Untari., M. H. Wibowo dan S. Artanto. 2015. Pengembangan Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metoda Agar Presipitasi di Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner, 33(2): 216-222. Doi: <https://doi.org/10.22146/jsv.17921>
- Anandan, S., R. Gopi., N. K. D. Ragupathi., D. P. M. Sethuvel., P. Gunasekaran dan K. Walia. 2017. First Report of blaxa-181-Mediated Carbapenem Resistnce in *Aeromonas caviae* in Association with *pKP3-A*: Threat for Rapid Dissemination. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 10: 310-314. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.006>
- Anupama, M. K. A. Kumar and J. N. L. Latha. 2015. Isolation and Characterization of Strontium Resistant Mutant of *Neurospora crassa*. Asian Journal of Biochemistry, 10(4): 156-164. Doi: <https://doi.org/10.3923/ajb.2015.156.164>
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa Penyakit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dibudidaya pada Jaring Tancap di Danau Tondano. Budidaya Perairan, (3): 24-30. Doi: <https://doi.org/10.35800/bdp.2.3.2014.5700>
- Ashraf, A. A. E. T., A. A. A. Maarouf, Nesma, and M. G. Ahmed. 2016. Detection of Virulence factors of *Pseudomonas* Species Isolatd From Fresh Water fish by PCR. Benha Veterinary Medical Journal, 30(1): 199-207. Doi: <https://doi.org/10.21608/BVMJ.2016.31364>
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang, 2021. Kabupaten Magelang Dalam Angka. Tahun 2021.
- Badan Pusat Statistik Kabpaten Magelang. Baldissera, M. D., C. F. Souza., C. M. Verdi., P. H. Doleski., K. L.S.

- Moreira., M. I. U. M. DaRocha., M. L. daVeiga., B. S. Vizzotto., R. C. V. Santos dan B. Baldissertto. 2018. Cholinergic and Adenosinergic Systems Exert a Pro-Inflammatory Profile in Peripheral and Splenic Lymphocytes of *Rhamdia quelen* Experimentally Infected by *Aeromonas caviae*. *Aquaculture*. 418: 100-108. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.049>
- Brock, T. D. and Madigan, M.T. 1991. Biology of Microorganisms. 6th ed. Prentice hall, New Jersey.
- Dar, G. H., S. A. Dard., A. N. Kamili dan M. Z. Chisthi. 2016. Detection and Characterization of Potentially Pathogenic *Aeromonas Sobria* Isolated from Fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Cypriniformes: Cyprinidae). *Microbial Pathogenesis*, 91: 136-140. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.10.017>
- Doan, H. V. S. H. Hoseinifar., K. Sringarm., S. Jaturasitha., B. Yuangsoi., M. A. O. Dawood., M. A. Esteban., E. Ring dan C. Faggio. 2019. Effects of Assam Tea Extract on Growth, Skin Mucus, Serum Immunity and Disease Resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Against *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture*, 448: 427-435. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.077>
- Dong. H. T., V. V. Nguyen, H. D. Le, P. Sangsuriya, S. Jitrakorn, V. Saksmerprome, S. Senapin and C. Rodkhum. 2015. Naturally Concurrent Infections of Bacterial and Viral Pathogens in Disease Outbreaks in Cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. *Aquaculture*, 448: 427-435. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.027>
- Eissa, M. N E., E. N. A. El-Ghiet, A. A. Shaheen and A. Abbass. 2010. Characterization of *Pseudomonas* Species Isolated from Tilapia "*Oreochromis niloticus*" in Qaroun and Wadi-El-Rayan Lakes, Egypt. *Global Veterinaria*, 5(2): 116-121. Doi: <https://doi.org/10.13140/2.1.5002.4961>
- Elbahnaswya, S. and E. E. Gehad. 2020. Differential Gene Expression And Immune Response Of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Challenged Intraperitoneally with *Photobacterium damsela* and *Aeromonas hydrophila* Demonstrating Immunosuppression. *Aquaculture* 526, 735364. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735364>
- Eugenin. F. L., R. Beaz-Hidalgo, M.J. Figueras. 2016. Evaluation of Different Conditions and Culture Media for the Recovery of *Aeromonas* spp. from Water and Shellfish samples. *Journal Application Microbiology*, 121:883-891. Doi: <https://doi.org/10.1111/jam.13210>
- Fa, W. Q. S dan L.L. Yaoma. 2015. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), Blue Tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia×male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. *Aquaculture*. 229(4): 79-87. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00357-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00357-0)
- Giri, S. S., J. W. Jun., S. Yun., H. J. Kim., S. G. Kim., s. W. Kim., K. J. Woo., S. J. Han., W. T. Oh., J. Kwon., V. Sukumaran dan S. C. Park. 2020. Effects of Dietary Heat-Killed *Pseudomonas aeruginosa* Strain VSG2 on Immune Functions, Antioxidant Efficacy and Disease Resistance in *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 514: 734489. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734489>
- Han, Z., Zhou, Y., Zhang, X., Yan, J., Xiao, J., Luo, Y. & Zhong, H. 2020. Ghrelin Modulates the Immune Response and Increases Resistance to *Aeromonas hydrophila* Infection in Hybrid Tilapia. *Fish & shellfish immunology*. 98: 100-108. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.006>
- Hardi, E.H., I.W. Kusuma, W. Sueinarti, G. Saptiani, Sumoharjo dan A.M. Lusiastuti. 2017. Utilization of Several Herbal Plant Extracts on Nile Tilapia in Preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. Bacterial Infection. *Nusantara Bioscience*. 9(2): 220-228. Doi <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n090219>
- Hardi, E.H., R. A. Nugroho, I. W. Kusuma, W. Suwinarti, A. Sudaryono, dan R. Rostika. 2019. Borneo herbal plant extracts as a natural medication for prophylaxis and treatment of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [version 2; peer review: 2 approved, 1 approved with reservations]. *F1000 Research*. 7:1847. 1-18. Doi: <https://doi.org/10.12688/f1000research.16902.2>
- Hardi, E.H., R.A. Nugroho, G. Saptiani, R. Sabrinah, M. Agriandini and M. Mawardi., 2018. Identification of Potentially Pathogenic Bacteria from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Channel Catfish (*Clarias batracus*) Culture in Samarinda, East Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*. 19(2): 480-488. Doi: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190215>
- Kayansamruaj, P. P., N. Hirono dan I. Rodkhum. 2014. Increasing of Temperature Induces Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* and the Up-Regulation on Inflammatory Related Gens in Infected Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vet Microbio*, 172: 586-594. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.04.013>
- Kimura, S. I., A. Gomyo., J. Hayakawa, Y. Akahoshi., N. Harada., T. Ugai., Y. Komiy., K. Kameda. H. Wada. Y. Ishihara., K. Kawamura. K. Sakamoto. M. Sato K. Terasako. 2017. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. *Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients*. 143-153. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.11.007>
- Kuebutornye, F. K. A., Z. Wang., Y. Lu., E. D. Abarike., M. E. Sakyi., Y. Li., C. X. Xie dan V. Hlordzi. 2020. Effects of Three Host Associated Bacillus Species on Mucosal Immunity and Gut Health of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* and Its Resistance Against *Aeromonas hydrophila* Infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 97: 83-95. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.046>
- Lee, P. T., C. M. Wen., F. H. Nan., H. Y. Yeh dan M. C. Lee. 2020. Immunostimulatory Effects of *Sarcodia suiae* Water Extracts on Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, and Its Resistance Against *Streptococcus agalactiae*. *Fish and Shellfish Immunology*, 103: 159-168. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.017>
- López J. R, J.I. Navas, N. Thanantong, R. de la Herran, O.A.F. Sparagano. 2012. Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera

- Tenacibaculum, Vibrio, Photobacterium and Pseudomonas by Reverse Line Blot Hybridization, *Aquaculture* 324–325: 33–38. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.043>
- Manrique, W. G., M. A. P. Figueiredo, I. Charlie-Silva, M. A. A. Belo and C. C. Dib. 2019. Spleen Melanomacrophage Centers Response of Nile tilapia during *Aeromonas hydrophila* and *Mycobacterium marinum* infections. *Journal Pre-proof*, 95: 514-518. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.071>
- Martins, G. B., F. Tarouco., C. E. Rosa dan R. B. Robaldo. 2017. The Utilization of Sodium Bicarbonate, Calcium Carbonate or Hydroxide in Biofloc System: Water Quality, Growth Performance and Oxidative Stress of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 468: 10-17. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.046>
- Monir, W., M. A. A. Rahman., S. El-Din. Hassan., E. Mansour dan S. M. M. Awad. 2020. Pomegraate Peel and Moringa-based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia Against Bacterial Infecton by *Aromonas hydrophila*. *Microbial Pathogenesis*, 145: 104202. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104202>
- Muslikha, S. Pujiyanto, S.N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, Karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan Deteksi Gen Penyebab Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan 16S rRNA dan *Aerolysin* pada Ikan Lele (*Clarias* sp.). *Jurnal Biologi*. 5(4): 1-7.
- Mzula, A., P. N. Wambura., R. H.Mdgel., G. M. Shirima. 2019. Phenotypic and Molecular Deection of *Aeromonas* Infection in Farmed Nile Tilapia in Southern Highland and Northern Tanzania. *Heliyon*, 5: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02220>
- Naby, A. S. A. E., A. El. R. A. Khattaby., F. Samir., S. M. M. Awad., M. A. Tawwab. 2019. Stimulatory Effect of Dietary Butyrate on Growth, Immune Response and Resistance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Against *Aeromonas hydrophila* Infection. *Animal Feed Science and Technology*, 254: 114212. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114212>
- Peepim, T., H. T. Dong., S. Senapin., P. Khunrae dan T. Rattanarajpong. 2016. Epr3 is a Conserved Immunogenic Protein Among *Aeromonas* Spesies and Able to Induce Antibody Response in Nile Tilapia. *Aquaculture*, 464: 399-409. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.022>
- Piasamboon, P., K. Thanasaksiri., A. Muakami., K. Fukuda., R. Takano., S. Jantrakajorn dan J. Wongtavatchai. 2020. Streptococcus in Freshwater Farmed Seabass Lates calcarifer and its Virulence in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 523: 735189. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735189>
- Pincus, S. H. 1978. Production of Eosinophil-rich Guinea Pig Peritoneal Exudates. *Blood*. 52(1): 127-134. Doi: [10.1182/BLOOD.V52.I.127.BLOODJOURNAL521127](https://doi.org/10.1182/BLOOD.V52.I.127.BLOODJOURNAL521127)
- Sarjito. 2010. Aplikasi Biomolekuler untuk Deteksi Agensia Penyebab Vibriosis pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti Vibriosis. [Disertasi]. Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sarjito, O. K. Radjasa, S. Hutabarat, and S. B. Prayitno. 2007. Causitive Agent Vibriosis dari Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptis altivelis*) Bermulut Merah: 1. Patogenitas pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Indonesian Journal of Marine Sciences*, 12(3): 173-180. Doi: <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.12.3.173-180>
- Sarjito, Radjasa, O.K., Haditomo, A.H.C., Prayitno , S.B., 2014. Insidensi Bakteri Genus Vibrio Pada Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Dari Sentral Produksi Provinsi Jawa Tengah. *Proseding Semnaskan FPIK Tahun 2013*.
- Sarjito., A. H. C. Haditomo., R. W. Ariyati., A. Sabdaningsih., Desrina and S. B. Prayitno. 2019. Screening of potential isolate candidates probiotic against *Aeromonas hydrophila* from Boyolali, Indonesia. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series* 1217: 1-7. Doi: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1217/1/012147>
- Sirimanapong, W., K. D. Thompson., A. P. Shinn., A. Adams dan B. Withyachumnamkul. 2018. *Streptococcus agalactiae* Infection Kills Red Tilapia With Chronic Francisella Noatunensis Infection More Rapidly than the Fish Without The Infection. *Fish and Shellfish Immunology*. 81:221-232. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.022>
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Induk ikan Nila Hitam. *Badan Standardisasi Nasional*. Jakarta. SNI 6139 – 2009.
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Bleeker) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. *Badan Standardisasi Nasional*. Jakarta. SNI 7550 – 2009.
- Souza, C. F., M. D. Baldissera., S. N. Descovi., C. C. Zeppenfeld., C. M. Verdi., R. C. V. Santos., A. S. da Silva dan B. Baldisserotto. 2019. Grape Pomace Flour Alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-Induced Hepatic Oxidative Stress in Grass carp by Improving Antioxidant Defense. *Microbial Pathogenesis*, 129: 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>
- Thomas, J., S. Thanigaivel., S. Vijayakumar., K. Acharya., D. Shinge., T. S. J. seelan., A. Mukherjee an N. Chandrasekaran. 2014. Pathogenecity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and Treatment Using Lime Oil Nanoemulsion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 116: 372-377. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.019>
- Thomas. J., N. Madan, K.S.N. Nambi, S. Abdul Majeed, A. Nazeer Basha, A.S. Sahul Hameed, 2013. Studies on ulcerative disease caused by *Aeromonas caviae*-like bacterium in Indian catfish, *Clarias batrachus* (Linn). 2013. 146–150. *Aquaculture* 376-379. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.015>
- Verma, V. K., K. V. Rani., S. R. Kumar dan O. Prakash. 2018. Leucaena Leucocephala Pod Seed Protein as an Alternate to Animal Protein in Fish Feed and Evaluation of its Role to Fight Against Infection

- Caused by *Vibrio harveyi* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Fish and Shellfish Immunology*, 1-29. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.03.01>
- Wang, Y., H. Y. He., H. H. Li., W. W. Lu., T. T. Guo dan J. Kong. 2017. The Global Regulator CodY Responds to Oxidative Stress by The Regulation of Glutathione Biosynthesis in *Streptococcus thermophiles*. *Journal of Dairy Science*. 100(11): 8768-8775. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13007>
- Wang, F., X. R. Xian., W. L. Guo., Z. H. Zhong., S. F. Wang., Y. Cai., Y. Sun., X. F. Chen., Y. Q. Wang and Y. C. Zhou. 2019. Baicalin Attenuates *Streptococcus agalactiae* Virulence and Protects Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 516, 734645. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734645>
- Zahran, E., E. Risha., S. Elbahnaswy., S. Mahgoub., AA. H. A. El-Moaty. 2019. Tilapia Piscidin (TP4) Enhances Immune Response, Antioxidant Activity, Intestinal Health and Protection Against *Streptococcus iniae* Infection in Nile Tilapia. *Aquaculture* 513, 734451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734451>
- Zamri-Saad, M., Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkaffli, A.R., 2014. Control and prevention of streptococcosis in cultured tilapia in Malaysia: a review. *Pertanika J. Trop. Agri. Sci.* 37, 389–410.
- Zhang, D., Gao, Y., Li, Q., Ke, X., Liu, Z., Lu, M., and Shi, C. 2020. An Effective Live Attenuated Vaccine Against *Streptococcus Agalactiae* Infection in Farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & shellfish immunology*. 98: 853-859. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.044>