

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI *Aeromonas* sp. PENYEBAB PENYAKIT *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) PADA GURAMI

ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND IDENTIFICATION OF BACTERIUM *Aeromonas* sp. CAUSATIVE AGENTS OF *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) IN GOURAMY

Dini Siswani Mulia

P. Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jalan Raya Dukuh Waluh PO BOX 202 Purwokerto 53182 Tel. 0281-636751, Fax. 0281-637239, E-mail: dsiswanimulia@yahoo.com

Abstract

These research were conducted to isolate, characterize, and identify bacterium *Aeromonas* sp. causative agents of *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) in gouramy. Samples of sick gouramy with MAS attack symptoms were taken random from three regencies, i.e. Banyumas regency (Pliken and Lemberang), Purbalingga regency (Padamara and Jompo), and Banjarnegara regency (Kaliwinas and Blimbings). Ten isolates were isolated from ren of gouramy on *Glutamat Starch Phenile* (GSP). Koch Postulat Test was conducted to determine pathogenic bacteria by intramuscular injection to gouramy (10-12 cm of total length) suspension bacteria 0,1 ml at 10^9 cell/fish, and control with 0,1 ml sterile PBS pH 7,0. Then, the pathogenic bacteria were identified with morphological and biochemical test. Results indicated that 10 isolates were pathogenic bacteria and morphological and biochemical tests suggested that the pathogenic bacteria could be identified to be *Aeromonas hydrophila*.

Keywords : *Aeromonas* sp., gouramy, isolation, identification, characterization, *motile aeromonas septicemia* (mas)

Pendahuluan

Budidaya gurami sering mendapat kendala karena timbulnya penyakit. Selain karena penurunan kualitas air, organisme patogen seperti parasit, jamur, penyakit juga disebabkan oleh bakteri dan seringkali merupakan penyebab infeksi sekunder. Penyakit bakterial yang sering menyerang ikan air tawar termasuk gurami adalah penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Dinas Peternakan dan Perikanan Wilayah Banyumas (2005) melaporkan setidaknya ada sekitar 52.100 ekor gurami atau 42,36% dari jumlah total 72.000 ekor ikan air tawar yang terserang penyakit dengan gejala

terserang penyakit MAS pada tahun 2003, dan 29.900 ekor gurami atau 69,33% dari jumlah total 43.000 pada tahun 2004.

Di Indonesia, penyakit MAS menyerang tawes, lele, karper (Sarono *et al.*, 1993), lele dumbo (Mulia, *et al.*, 2004) dan nila (Suryantinah *et al.*, 2005), jambal siam (Olga *et al.*, 2007). Jenis ikan di daerah subtropik yang banyak terserang penyakit ini antara lain *Rainbow Trout* dan *Chinook Salmon* (Sarono *et al.*, 1993).

Bakteri patogen yang menyebabkan penyakit MAS pada lele dumbo di wilayah Yogyakarta (Dayu dan Moyudan) teridentifikasi merupakan

Aeromonas hydrophila (Olga, 2003). Kamiso *et al.* (1997) berhasil mengisolasi beberapa strain *A. hydrophila* dengan perbedaan sifat antigenik yang diperoleh dari beberapa daerah, yaitu isolat PA 01, PA 05, PA 06, PA 07, dan BA 02.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi, identifikasi, dan karakterisasi *Aeromonas* sp. penyebab penyakit pada gurami. Penelitian ini juga bisa dijadikan langkah awal untuk pencegahan terhadap penyakit MAS, yaitu melalui vaksinasi.

Bahan dan Metode

Pengambilan sampel gurami sakit dilakukan secara acak di wilayah Kabupaten Banyumas (Pliken dan Lemberang), Purbalingga (Padamara dan Jompo), dan Banjarnegara (Kaliwinasu dan Blimming). Gurami sakit yang diperoleh memiliki gejala eksternal yang tidak selalu sama, tergantung dari fase perkembangan penyakit, tetapi secara keseluruhan menunjukkan adanya haemoragik pada beberapa bagian tubuh, sirip, mulut dan tutup insang. Pada sebagian sampel, gejala penyakit terlihat lebih ringan, hanya bercak merah atau luka kecil pada salah satu bagian tubuh, sirip, disertai pengelupasan sisik, dan sirip geripis (patah-patah). Selain itu ditemui juga tubuh gurami dengan bercak merah pada beberapa bagian tubuh. Sebagian sampel yang lain ditemukan bercak-bercak merah yang sudah menjadi satu sehingga menjadi lebih lebar bahkan ada yang sudah menjadi nekrotik atau koreng dan kulit mengelupas. Pada beberapa sampel ditemukan mata menonjol (*exophthalmia*) di salah satu atau kedua matanya. Tanda-tanda lain adalah perut kembung berisi cairan kuning, selain itu ada juga yang memiliki anus kemerah-merahan dan mengeluarkan feses.

Gejala internal gurami sakit di antaranya haemoragik pada ginjal,

empedu, alat pencernaan, dan terlihat adanya cairan kuning pada rongga perut.

Bakteri diisolasi dari organ ginjal kemudian diinokulasi dan dimurnikan pada medium *Glutamat Starch Phenile* (GSP, Merck), Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 18-24 jam. Setelah diperoleh kultur murni, isolat-isolat yang diperoleh dikultur pada medium *Tryptone Soya Broth* (TSB, Oxoid) yang ditambah 20 % gliserol, disimpan dalam *cryotube* dan dibekukan pada suhu -40°C, selanjutnya disimpan dalam freezer pada suhu -20 °C.

Karakterisasi dilakukan melalui pengujian Postulat Koch (Sarono *et al.*, 1993), pengamatan morfologi koloni, pengujian sifat fisiologis dan biokimia. Postulat Koch dilakukan dengan menginfeksi bakteri secara suntik intramuskular sebanyak 0,1 ml pada masing-masing 8 ekor gurami berukuran 10-12 cm dengan dosis 10^9 sel/ikan, sedangkan kontrol disuntik dengan 0,1 ml PBS. Gurami yang telah diinfeksi dipelihara dalam ember bervolume 20 L dan diamati gejala penyakitnya setiap hari sampai muncul gejala penyakit seperti pada pengambilan sampel awal. Pengamatan dilakukan selama 7 hari setelah infeksi meliputi gejala eksternal dan internal. Reisolasi dilakukan setelah ada gurami yang menunjukkan gejala penyakit yang parah atau mati. Isolasi bakteri dari ginjal dilakukan dengan medium GSP dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18-24 jam. Selanjutnya dipilih isolat yang paling ganas untuk uji patogenisitas yaitu menentukan LD₅₀ isolat pada gurami. Pengujian sifat fisiologis dan biokimia bakteri didasarkan pada Jutono *et al.* (1980), Mac Faddin (1980), dan Anonim (1994). Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan Mac Faddin (1980), Austin (1987), dan Holt *et al.* (1994).

Hasil dan Pembahasan

Pengambilan sampel gurami sakit dilakukan di wilayah Kabupaten

Banyumas (Plikan dan Lemberang), Purbalingga (Padamara dan Jompo), dan Banjarnegara (Kaliwinasu dan Blimbings). Setelah dilakukan penyisiran, diperoleh sampel gurami yang diduga terserang penyakit MAS sebanyak 9 ekor, yaitu 4 ekor berasal dari Plikan, Banyumas (8-12 cm), 1 ekor berasal dari Lemberang, Banyumas (18,4 cm), 1 ekor berasal dari Padamara, Purbalingga (14 cm), 1 ekor berasal dari Jompo, Purbalingga (24,1 cm), 1 ekor berasal dari Kaliwinasu, Banjarnegara (7,5 cm), dan 1 ekor berasal dari Blimbings, Banjarnegara (8,9 cm).

Gurami sakit yang diperoleh memiliki gejala eksternal yang tidak selalu sama, tergantung dari fase perkembangan penyakit, tetapi secara keseluruhan menunjukkan adanya haemorragik pada beberapa bagian tubuh, sirip, mulut dan tutup insang. Pada sebagian sampel, gejala penyakit terlihat lebih ringan, hanya bercak merah atau luka kecil pada salah satu bagian tubuh, sirip, disertai pengelupasan sisik, dan sirip geripis (patah-patah). Selain itu ditemui juga tubuh gurami dengan bercak merah pada beberapa bagian tubuh. Sebagian sampel yang lain ditemukan bercak-bercak merah yang sudah menjadi satu sehingga menjadi lebih lebar bahkan ada yang sudah menjadi nekrotik atau koreng dan kulit mengelupas. Pada beberapa sampel ditemukan mata menonjol (*exophthalmia*) di salah satu atau kedua matanya. Tanda-tanda lain adalah perut kembung berisi cairan kuning, selain itu ada juga yang memiliki anus kemerah-merahan dan mengeluarkan feses. Gejala internal gurami sakit di antaranya haemorragik pada ginjal, empedu, dan alat pencernaan. Selain itu, terlihat adanya cairan kuning pada rongga perut. Isolasi dilakukan dari organ ginjal sampel gurami sakit pada medium GSP dan dari 9 ekor sampel diperoleh 10 isolat yang telah berhasil dimurnikan.

Hasil karakterisasi pada tahap awal menunjukkan bahwa 10 isolat merupakan bakteri *Aeromonas* spp. dengan karakter tumbuh pada media GSP, bentuk koloni batang pendek, bersifat gram (-), tidak membentuk spora, oksidase (+), katalase (+), fermentatif, dan resisten terhadap 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine (O/129). Setelah dikarakterisasi dan diidentifikasi ternyata semua isolat diduga merupakan *A. hydrophila* (Tabel 1 dan 2).

Berdasarkan morfologi dan sifat biokimia, 10 isolat tersebut, yaitu GPI(02), GPI(03), GPI(04), GPI(05), GL(01), GL(02), GPd(02), GJ(01), GK(01), dan GB(01) secara keseluruhan diduga menyerupai bakteri *A. hydrophila* dengan karakterisasi Gram (-), motilitas (+), oksidase (+), katalase (+), fermentatif (+), produksi indol (+), ornithine decarboxylase (-), methyl red dan hidrolisis gelatin (+), sensitif terhadap novobiocin, resisten terhadap 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine (O/129), mempunyai kemampuan memproduksi gas dan H₂S (pada medium TSIA), reaksi terhadap manosa, manitol, glukosa, dan dextrosa (+), dan reaksi terhadap laktosa dan inositol (-). Meskipun terdapat variasi sifat biokimiawi di antara isolat-isolat tersebut, yaitu pada uji simmons citrat dan sukrosa. Hal ini sesuai dengan yang ditemukan Hsu *et al.* (1985) *cit* Triyanto *et al.* (1997) yang menemukan variasi sifat biokimianya yang sangat besar dari 164 isolat yang diteliti yang kemudian disebut dengan strain. Kamiso *et al.* (1996) menemukan variasi yang besar terutama pada produksi gas, glukosa, laktosa, manitol, dulkitol, sorbitol, arabinosa, adonitol, dan raffinosa. Sedangkan Triyanto *et al.* (1997) menemukan variasi terutama pada uji TSIA, produksi gelatin, methyl red, inositol, laktosa, dan sakarosa.

Tabel 1. Karakterisasi isolat bakteri GPI(02), GPI(03), GPI(04), GPI(05), dan GL(01)

Karakterisasi	GPI(02)	GPI(03)	GPI(04)	GPI(05)	GL(01)	<i>Aeromonas hydrophila</i>		
	Holt et al. (1994)	Austin (1987)	Mac.Faddin (1980)					
Morfologi Koloni								
Bentuk	sirkular	sirkular	sirkular	sirkular	sirkular	sirkular	ND	sirkular
Tepi	rata	rata	rata	rata	rata	rata	ND	rata
Elevasi	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung	ND	cembung
Ukuran (mm)	2,00	1,60	2,40	2,00	1,40	ND	ND	ND
Warna (TSA)	krem	krem	krem	krem	krem	krem	ND	ND
Warna (GSP)	kuning	kuning	kuning	kuning	kuning	ND	ND	ND
Morfologi Sel								
Bentuk	batang pendek	ND	batang pendek					
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-
Spora	-	-	-	-	-	-	ND	-
Flagela (motilitas)	+	+	+	+	+	+	+	+
Sifat Biokimia								
Oksidase	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Motilitas	+	+	+	+	+	+	+	+
Produksi Indol	+	+	+	+	+	+	+	+
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	F	F	F	F	F	F	F	F
TSIA/produksi H ₂ S	K/A,G H ₂ S	H ₂ S	K/A,G H ₂ S					
Novobiocin	S	S	S	S	S	ND	ND	ND
O/129	R	R	R	R	R	R	ND	R
Simmons citrate	+	+	+	+	+	d	V	V ⁺
Methyl red	+	+	+	+	+	+	-	V ⁺
Hidrolisis gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktosa,asam	-	-	-	-	-	d	V	ND
D-Manosa, asam	+	+	+	+	+	+	ND	ND
D-Manosa, gas	+	+	+	+	+	ND	ND	ND
D-Mannitol,asam	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannitol, gas	+	+	+	+	+	ND	ND	ND
D-Glukosa, asam	+	+	+	+	+	+	+	ND
D-Glukosa, gas	+	+	+	+	+	+	+	V ⁻
Dextrosa,asam	+	+	+	+	+	ND	ND	ND
Dextrosa,gas	+	+	+	+	+	ND	ND	ND
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukrosa,asam	+	+	+	+	+	+	+	ND
Sukrosa,gas	+	+	+	+	-	ND	ND	V
Tumbuh pd 30°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Tumbuh pd 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan : + : 90% atau lebih strain adalah positif, - : 90% atau lebih strain adalah negatif,
d : 11-89% strain adalah positif, V : strain tidak stabil, F : fermentatif, S : sensitif, R : resistan, ND : tidak ada data

Tabel 2. Karakterisasi isolat bakteri GL(02), GPd(02), GJ(01), GK(01), dan GB(01)

Karakterisasi	GL(02)	GPd(02)	GJ(01)	GK(01)	GB(01)	<i>Aeromonas hydrophila</i>		
						Holt et al. (1994)	Austin (1987)	Mac.Faddin (1980)
Morfologi Koloni								
Bentuk	sirkular	sirkular	sirkular	sirkular	sirkular	sirkular	ND	sirkular
Tepi	rata	rata	rata	rata	rata	rata	ND	rata
Elevasi	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung	ND	cembung
Ukuran (mm)	2,00	2,40	1,80	2,00	1,30	ND	ND	ND
Warna (TSA)	krem	krem	krem	krem	krem	krem	ND	ND
Warna (GSP)	kuning	kuning	kuning	kuning	kuning	ND	ND	ND
Morfologi Sel								
Bentuk	batang pendek	ND	batang pendek					
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-
Spora	-	-	-	-	-	-	ND	-
Flagela (motilitas)	+	+	+	+	+	+	+	+
Sifat Biokimia	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Motilitas	+	+	+	+	+	+	+	+
Produksi Indol	+	+	+	+	+	+	+	+
Ornithine	+	+	+	+	+	-	-	-
decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	F	F	F	F	F	F	F	F
TSIA/produksi H ₂ S	K/A,G H ₂ S	H ₂ S	K/A,G H ₂ S					
Novobiocin	S	S	S	S	S	ND	ND	ND
O/129	R	R	R	R	R	R	ND	R
Simmons citrate	+	-	-	+	-	d	V	V ⁺
Methyl red	+	+	+	+	+	+	-	V ⁺
Hidrolisis gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktosa, asam	-	-	-	-	-	d	V	ND
D-Manosa, asam	+	+	+	+	+	+	ND	ND
D-Manosa, gas	+	+	+	+	+	+	ND	ND
D-Mannitol, asam	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannitol, gas	+	+	+	+	+	+	ND	ND
D-Glukosa, asam	+	+	+	+	+	+	+	ND
D-Glukosa, gas	+	+	+	+	+	+	ND	V ⁻
Dextrosa, asam	+	+	+	+	+	+	ND	ND
Dextrosa, gas	+	+	+	+	+	+	ND	ND
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukrosa, asam	+	+	+	+	+	+	+	ND
Sukrosa, gas	+	+	+	+	+	+	ND	V
Tumbuh pd 30°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Tumbuh pd 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan : + : 90% atau lebih strain adalah positif, - : 90% atau lebih strain adalah negatif,
d : 11-89% strain adalah positif, V : strain tidak stabil, F : fermentatif, S : sensitif, R : resisten, ND : tidak ada data

Hasil pengujian Postulat Koch diketahui bahwa semua isolat *A. hydrophila* patogen karena menyebabkan

kematian 87,50-100 % dan menyebabkan gejala penyakit pada ikan uji (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengujian Postulat Koch dan gejala penyakit pada gurami

Jenis Isolat	Sampel (ekor)	Mortalitas (ekor)	Mortalitas (%)	Gejala eksternal	Gejala internal
GPI-02	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, lendir banyak, sirip geripis	jantung merah pucat bahkan ada yang bengkak, hati merah pucat, kecoklatan dan bengkak, ginjal merah pucat, Usus pucat, kosong, ada yang menggelembung, lambung kemerahan dan pecah, rongga perut sedikit cairan kuning
GPI-03	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, lendir banyak, sirip geripis	Jantung dan ginjal merah pucat, hati merah pucat dan bengkak, Usus pucat dan ada yang kehitaman, lambung pucat, rongga perut sedikit cairan kuning
GPI-04	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, lendir banyak, sirip geripis	jantung dan ginjal merah pucat, hati merah pucat bahkan ada yang bengkak, Usus pecah dan ada yang hemoragik, menggelembung, lambung pucat, rongga perut sedikit cairan kuning
GPI-05	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, lendir banyak, sirip geripis, ada yang perutnya kembung/bengkak	jantung dan ginjal merah pucat, hati merah pucat bahkan ada yang bengkak, Usus kosong dan ada yang hemoragik, lambung kosong, pucat dan hemoragik, rongga perut sedikit cairan kuning
GL-01	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, lendir banyak, sirip geripis, ada yang perutnya kembung/bengkak	jantung merah pucat, hati coklat pucat, ginjal merah hitam, Usus kosong, lambung pucat kekuningan, rongga perut sedikit cairan kuning
GL-02	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, lendir banyak, sirip geripis, ada yang perutnya kembung/bengkak	hati dan ginjal merah hitam, Usus kosong, lambung pucat, beberapa ikan rongga perutnya banyak cairan kuning
GPd-02	8	7	87,50 ^a	Warna kulit dan insang pucat, kornea mata tenggelam, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, ada yang luka di bawah sirip perut dan di atas sirip dubur, ada ikan lendirnya sangat banyak,	jantung merah pucat, hati merah pucat sampai coklat pucat, ginjal merah hitam sampai coklat tua,satu ekor memiliki bintil-bintil putih pada ginjal, rongga perut sedikit cairan kuning
GJ-01	8	8	100,00 ^a	Warna kulit pucat, insang dan banyak lendir, haemoragik di bawah mulut, punggung, di belakang operculum, dan pangkal sirip,ada yang luka di atas sirip dubur, beberapa sirip geripis,ada yang perutnya bengkak	hati dan ginjal merah pucat sampai coklat, lambung ada yang kecoklatan, rongga perut sedikit cairan kuning

GK-01	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, sirip geripis, ada yang perutnya kembung/bengkak	hati coklat pucat dan ada yang bengkak, ginjal merah hitam, usus ada yang kosong, lambung kosong, agak pucat, coklat keputihan, dan ada yang bengkak/mengelembung
GB-01	8	8	100,00 ^a	Warna kulit dan insang pucat, haemoragik pada punggung, pangkal sirip, sirip geripis, ada yang perutnya kembung/bengkak	hati merah tua, ginjal merah hitam, usus kosong, rongga perut ada yang sedikit mengandung cairan kuning dan ada banyak

Gejala eksternal gurami pada uji postulat koch menunjukkan gejala yang sama seperti pada gurami yang terinfeksi secara alami. Gejala eksternal yang timbul yaitu insang dan tubuh pucat, disertai bercak-bercak merah (haemoragik) pada punggung, di belakang operculum, sirip, dan bagian tubuh lain, terdapat luka pada bekas suntikan, bahkan sudah ada yang membentuk borok dan ditumbuhi jamur, terkadang disertai pengelupasan kulit dan daging di sekitarnya, lendir banyak, sirip geripis, perut kembung/bengkak.

Gejala internal yang timbul yaitu ginjal merah pucat, merah kehitaman sampai coklat tua, bahkan ada yang timbul bintil-bintil putih berukuran diameter 0,5-3 mm. Hati berwarna merah pucat, merah kehitaman, sampai coklat, bahkan ada yang bengkak. Lambung pucat, kecoklatan, bahkan ada yang haemoragik, ada yang bengkak/mengelembung, kosong, bahkan ada yang pecah. Usus pucat, kosong, dan mengelembung, rongga perut banyak cairan kuning. Hasil isolasi bakteri dari ginjal ikan uji ke medium GSP semuanya menunjukkan hasil yang positif yang diduga disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Sarono *et al.* (1993) menyatakan bahwa infeksi *A. hydrophila* menyebabkan haemoragik pada sirip, sekitar mulut, bahkan eksophthalmia (popeye), dengan pembengkakan ginjal, petikiae, usus tidak berisi makanan tetapi berisi lendir yang berwarna kuning dan terkumpulnya sejumlah besar cairan pada rongga perut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat-isolat *A. hydrophila* yang diuji memenuhi uji Postulat Koch. Dari 10 isolat hanya GPd-02 yang menyebabkan kematian 87,50%, sedangkan 9 isolat lainnya menyebabkan kematian 100,00 %. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam diketahui bahwa antar isolat tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat memiliki tingkat ke ganasan yang sama.

Ucapan Terima Kasih

Hasil penelitian ini merupakan bagian dari hasil penelitian Hibah Pekerti yang dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional. Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Alim Isnansetyo, M.Sc., Bapak Dr. Murwantoko, M.Si., dan Bapak drh. Cahyono Purbomartono, M.Sc. atas kerjasamanya dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Anonim. 1994. *Determinasi Bakteri Patogenik Penyebab Penyakit Ikan*. Jurusan Perikanan. Fakultas Perikanan UGM. Yogyakarta.
 Austin, B & D.A. Austin. 1987. *Bacterial Fish Pathogens : Disease in Farmed and Wild Fish*. John Wiley and Sons. Chichester. 364 p.

- Dinas Peternakan dan Perikanan Wilayah Banyumas. 2005. *Kegiatan Penyidikan Penyakit Ikan*. Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan. Dinas Peternakan dan Perikanan Wilayah Banyumas. Banyumas.
- Holt, J. G., N. R. Krieg., P. H. A. Sneath., J. T. Staley & S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. A. Waverly Company Williams and Wilkins. Baltimore. 787 hal.
- Jutono., S. Hartadi., S. Kabirun., Santoso & J. Sudarsono. 1975. *Mikrobiologi Umum Untuk Perguruan Tinggi*. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Kamiso, K.H., Triyanto & Hartati, S. 1996. "Uji Konsentrasi Penghambatan Minimal, Resistensi dan Penggunaan Antibiotik Untuk Menanggulangi Penyakit Motil Aeromonas Septisemia (MAS) Pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)". *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)* . I(1) : 49-53.
- Kamiso, K.H., Triyanto, dan Hartati, S. 1997. Uji antigenisitas dan efikasi *Aeromonas hydrophila* pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)* . I(2) : 9-16.
- Mac Faddin, J.F. 1980. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. Second Edition. Williams dan Wilkins, Baltimore.
- Mulia, D.S., R. Pratiwi, dan Triyanto. 2004. "Efikasi vaksin *debris* sel *Aeromonas hydrophila* secara suntik dengan variasi cara booster pada lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell)." *Berkala Ilmiah Biologi*. 3 (3): 145-156.
- Olga. 2003. Pengendalian penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) melalui vaksinasi. Tesis. PPs. UGM. Yogyakarta. 118 hal.
- Olga, R.K. Rini, J. Akbar, A. Isnansetyo dan L. Sembiring. 2007. "Protein Sebagai Vaksin untuk Pengendalian MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*)."*Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)* . IX(1) : 17-24.
- Sarono, A., K.H. Nitimulyo, I.W.Y.B. Lelono, Widodo, N. Thaib, E.B.S. Haryani, S. Hariyanto, Triyanto, Ustadi, A.N. Kusumahati, W. Novianti, Wardani, S., Setaningsih. 1993. *Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri*, buku 2. Kerjasama Pusat Karantina Pertanian dan Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM. Yogyakarta. 90 hal.
- Suryantinah, R.K. Rini dan Olga. 2005. Optimasi Dosis Vaksin *Debris* Sel *Aeromonas hydrophila* Terhadap Pengendalian Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Prosiding Seminar Nasional Tahunan Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*. Yogyakarta. 108-114 hal.
- Triyanto, Kamiso H.N., Isnansetyo A., dan Murwantoko. 1997. Pembuatan antigen murni untuk memproduksi polivalen antibodi dan vaksin *Aeromonas hydrophila*. Laporan Penelitian Hibah Bersaing V/1 Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 1996/1997. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta. 37 hal.