

Full Paper**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI *Vibrio* spp. PATOGEN PENYEBAB VIBRIOSIS PADA KERAPU DI BALAI BUDIDAYA AIR PAYAU SITUBONDO****ISOLATION, IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC *Vibrio* spp., CAUSATIVE AGENTS OF VIBRIOSIS IN GROPER AT BRACKISHWATER AQUACULTURE DEVELOPMENT CENTER, SITUBONDO**

Kamiso Handoyo Nitimulyo^{*)}, Alim Isnansetyo^{*)**}, Triyanto^{*)}, Indah Istiqomah^{*)}, dan Muhammmad Murdjani^{**}

Abstract

This research was conducted to isolate, identify, and characterize pathogenic *Vibrio* spp., causative agents of vibriosis in grouper at Brackishwater Aquaculture Development Center (BADC), Situbondo. Twenty-nine isolates were isolated from wound, gills, eyes, liver, and ren of grouper with vibriosis on Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBSA) medium. Koch Postulate Test was conducted to determine pathogenic *Vibrio* spp., by intraperitoneal injection to humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) (9-10 cm of total length) at 10^6 cells/fish in triplicates. Results indicated that the pathogenic *Vibrio* spp., causative agents of vibriosis in grouper at BADC, Situbondo were identified to be *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. metchnikovii*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. furnisii*, and *V. parahaemolyticus*. Infection of the pathogenic *Vibrio* spp. caused acute mortality within 17-46 hours with specific disease signs like haemorrhagic on fins (*pinnae pectorales*, *pinnae abdominales*, *pinna analis*) and also on the body. These results suggested that vibriosis should be monitored and controlled properly and quickly.

Key words: humpback grouper (*Cromileptes altivelis*), Koch postulate, pathogenic *Vibrio*, vibriosis

Pengantar

Kerapu merupakan komoditas perikanan yang bernilai ekonomi tinggi. Kerapu dipasarkan sebagai ikan konsumsi maupun ikan hias dengan permintaan pasar yang terus meningkat, baik untuk pasaran dalam maupun luar negeri (Murdjani, 2002). Sampai saat ini, kendala utama yang dihadapi oleh panti benih kerapu di Indonesia adalah serangan penyakit yang menimbulkan kerugian besar.

Berdasarkan pemantauan BBAP Situbondo, vibriosis merupakan penyakit bakterial yang paling dominan menyebabkan penyakit pada kerapu terutama pada saat pergantian musim kemarau dan

hujan, selain serangan *Viral Nervous Necrotic* (VNN). Vibriosis disebabkan oleh bakteri-bakteri yang tergolong dalam genus *Vibrio*. Beberapa spesies bersifat patogen dan dapat menimbulkan penyakit *epizootic* yang serius, namun beberapa spesies yang lain hanya bersifat patogen oportunistis yang menimbulkan penyakit apabila ikan mengalami luka fisik, luka akibat parasit dan stres (Zafran *et al.*, 1998).

Keberhasilan dalam pengendalian penyakit sangat ditentukan oleh ketepatan diagnosis maupun penanggulangannya. Sampai saat ini, aplikasi obat-obatan terbukti menyebabkan resistensi bakteri sehingga perlu dicari alternatif lain yang

^{*)} Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian UGM, Jl. Flora Bulaksumur, Yogyakarta Telp/Fax: (0274) 551218

^{**) Balai Besar Pengembangan Budidaya Air payau, Jl. Pemandian Kartini PO BOX 1 Jepara}

^{*)} Penulis untuk korespondensi, E-mail: isnansetyo@yahoo.com.

lebih efektif dan aman. Vaksinasi merupakan solusi yang tepat dimana penanggulangan penyakit dilakukan melalui rangsangan terhadap sistem kekebalan inang untuk melawan beberapa antigen.

Beberapa *Vibrio* patogen antara lain *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. charcariae*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. ordalii*, *V. vulnificus* (Austin & Austin, 1987), *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. hollisae*, *V. fluvialis*, *V. metchnikovii*, dan *V. furnissii* (Rollins & Joseph, 2000). Menurut Lightner (1996) *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, dan *Vibrio* sp. adalah bakteri patogen yang selalu ditemukan pada hatchery maupun pembesaran udang, sementara *V. damsella*, *V. fluvialis* dan *Vibrio* spp. masih jarang dilaporkan.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi, identifikasi, dan karakterisasi *Vibrio* spp. patogen pada kerapu di BBAP Situbondo, yang diharapkan berguna sebagai langkah awal pengendalian vibriosis, terutama melalui vaksinasi.

Bahan dan Metode

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak melalui penyisiran di semua lokasi budidaya di BBAP Situbondo. Sampel diambil berdasarkan gejala vibriosis berupa haemoragik, luka seperti borok pada kulit, luka kemerahan pada mulut, erosi kulit, dan mata menonjol. Untuk sampel larva dipilih larva yang menunjukkan gejala berputar-putar (*whirling*), kulit pucat serta menunjukkan gejala kematian.

Isolasi dan pemurnian

Isolasi bakteri dilakukan dari bagian luka, hati, insang, mata, dan ginjal secara aseptis, kemudian diinokulasi dan dimurnikan pada medium *Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar* (TCBSA, Oxoid, England). Penyimpanan bakteri murni dilakukan menggunakan medium *Nutrient*

Agar (NA) (Oxoid) yang dilarutkan dalam larutan tiga garam (*trisalt*).

Identifikasi dan karakterisasi

Karakterisasi dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni, pengujian sifat fisiologis dan biokimia awal, pengujian Postulat Koch, serta pengujian sifat fisiologis dan biokimia secara lengkap. Pengujian sifat fisiologis dan biokimia bakteri didasarkan pada Jutono et al. (1973), MacFaddin (1980), Gerhardt et al. (1994), dan Lightner (1996).

Untuk menentukan bakteri patogen, uji Postulat Koch dilakukan berdasarkan Sarono et al. (1993) dan Jordan (1941). Bakteri dikultur pada medium *Trypticase Soy Broth* (TSB, Oxoid) yang dilarutkan dalam *trisalt* (KCl [Merck, Darmstadt, Germany], 0,75 g/l; MgSO₄.7H₂O [Wako Pure Chemical Industry, Japan], 14,2 g/l; NaCl [Merck], 18,4 g/l) kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah kepadatannya dihitung dengan metode taburan, bakteri diinjeksi pada kerapu tikus dengan dosis 10⁶ sel/ikan secara intraperitoneal dengan tiga ulangan. Ikan kontrol diinjeksi dengan larutan *trisalt* steril dengan dosis 0,25 ml/ikan.

Ikan dipelihara dalam air steril dengan perlakuan aerasi, penyifonan dan pemberian pakan menggunakan pellet. Pengamatan dilakukan selama 7 hari setelah infeksi meliputi gejala eksternal dan internal. Reisolasi bakteri dilakukan secara aseptis dari ginjal dan hati pada medium TCBSA.

Identifikasi *Vibrio* didasarkan pada Austin & Austin (1987); Schaperclaus (1992); Holt et al. (1994); dan Lightner (1996).

Hasil dan Pembahasan

Pengambilan sampel, isolasi dan pemurnian

Setelah dilakukan penyisiran, diperoleh sampel ikan yang diduga terserang vibriosis yaitu seekor induk kerapu tikus, 10 ekor gelondongan kerapu tikus (8-20

cm), seekor kerapu macan (16 cm), dan 5 benih kerapu macan. *Vibrio* spp. yang berhasil diisolasi dan dimurnikan berjumlah 29 isolat (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat bakteri *Vibrio* yang diisolasi dari kerapu di BBAP Situbondo

Kode isolat	Asal isolat
1S	Luka kerapu tikus umur 10 bulan
1SA	Sirip ekor induk kerapu tikus
1SB	Ginjal induk kerapu tikus
2SA	Ginjal kerapu tikus umur 10 bulan
2SB	Luka kerapu tikus umur 10 bulan
3S	Ginjal kerapu macan
4S	Luka pada sirip induk kerapu
5S	Luka kerapu tikus
6S	Ginjal kerapu macan dari Karamba Jaring Apung (KJA)
7S	Luka kerapu tikus dari KJA
8S	Ginjal benih kerapu macan
9SA	Hati induk kerapu tikus
9SB	Ginjal kerapu macan
10S	Ginjal benih kerapu tikus insang cacat
11S	Ginjal kerapu tikus
12 S	Ginjal kerapu tikus dari KJA
13SA	Luka kerapu tikus
20S	Ginjal kerapu tikus umur 5 bulan
21SB	Mata induk kerapu tikus
22S	Ginjal kerapu tikus dari KJA
23S	Insang induk kerapu
24SK	Ginjal kerapu tikus
25S	Ginjal benih kerapu tikus
26S	Ginjal kerapu tikus dari KJA
28S	Luka kerapu tikus
29S	Ginjal benih kerapu macan
30S	Hati benih kerapu macan
31SA	Luka kerapu tikus dengan nekrosis pada sirip ekor
31SB	Ginjal kerapu tikus dengan nekrosis pada sirip punggung dan sirip dada

Identifikasi dan karakterisasi

Hasil karakterisasi pada tahap awal menunjukkan bahwa seluruh isolat merupakan anggota genus *Vibrio* (Tabel 2).

Hasil pengujian Postulat Koch menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri menyebabkan gejala penyakit pada ikan uji seperti disebutkan pada Tabel 3.

Isolat 24SK, 22S, 29S, 20S, 31SB, 26S, dan 31SA merupakan kelompok patogen yang menyebabkan kematian ikan uji sebanyak 100% dengan rerata waktu kematian (*Mean Time to Death*, MTD) berturut-turut 17, 20, 22, 24, 24, 28, dan 30 jam. Isolat 1S, 4S, 1SA, 3S dan 28S merupakan isolat patogen yang menyebabkan kematian pada ikan uji sebanyak 66,67% dengan rerata waktu kematian 21, 30, 33, 36, dan 46 jam.

Isolat 1SB, 2SA, 2SB, 5S, 6S, 7S, 8S, 9SA, 9SB, 10S, 11S, 12S, 13SA, 21SB, 23S, 25S, dan 30S tidak patogen karena ikan uji yang diinfeksi isolat *Vibrio* spp. tersebut tidak menunjukkan gejala serangan penyakit serta menunjukkan kondisi yang sehat seperti pada kelompok ikan kontrol.

Tabel 2. Karakter isolat bakteri *Vibrio* yang diisolasi dari kerapu di BBAP Situbondo

Karakter	1S	1SA	1SB	2SA	2SB	4S	5S	6S	7S	8S	9SA	9SB	10S	11S	12S	13SA	3S	20S	21SB	22S	23S	24SK	25S	26S	28S	29S	30S	31SA	31SB	<i>Vibrio</i>
Gram	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N			
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Oksidase	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Produksi Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
Sensitifitas O/129	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S/R			
Pertumbuhan pada TCBSA	K	K	H	K	K	K	H	K	K	K	K	H	K	H	H	K	K	H	H	K	K	K	K	K	K	K	K			
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H			

Keterangan: N, gram negatif; S, sensitif; H, hijau; R, resisten; K, kuning; KH, kuning-hijau

Tabel 3. Mortalitas, rerata waktu kematian (RWK), dan gejala penyakit pada uji Postulat Koch

Kode isolat	Mortalitas (%)	RWK (jam)	Gejala
1S	66,67	21	Haemoragik rahang bawah, perut keras, pendarahan organ dalam, hepar bengkak, usus kaku dan haemoragik
1SA	66,67	33	Haemoragik pada abdomen, operculum, tutup insang, pangkal pinnae abdominales, dan pinnae pectorales, usus bengkak, perut keras
3S	66,67	36	Haemoragik pada pangkal pinnae abdominales, perut, rongga perut, hepar pucat, ginjal bengkak, pendarahan pada hepar, cairan kuning di perut
4S	66,67	30	Haemoragik pada pangkal pinnae abdominalis, abdomen, rahang bawah, anus merah, hepar pucat, flek di usus
20S	100	24	Haemoragik pada rahang bawah, usus, dan pangkal pinnae abdominales hepar besar pucat, ginjal bengkak, perut keras bengkak
22S	100	20	Haemoragik pada rahang bawah, organ dalam, pangkal pinnae abdominals, dan pangkal pinnae pectorales, ginjal, usus, dan perut bengkak, cairan kuning pada rongga perut
24SK	100	17	Saat awal bergerombol, sisik gelap, tidak aktif, perut gembung, haemoragik pada rahang bawah, cairan kuning di rongga perut, diam di dasar, warna pucat, pendarahan pada rongga perut
26S	100	28	Sisik kehitaman, haemoragik pada rahang bawah, perut keras, hepar pucat, gelembung renang pecah, usus bengkak dan haemoragik, haemoragik pada pangkal pinnae abdominales, flek hitam pada usus
28S	66,67	46	Haemoragik pangkal pinnae abdominales, pinnae abdominales, rahang bawah, usus, usus ada flek, hepar pucat, operculum menutup
29S	100	22	Perut bengkak, keras, anus coklat, hepar pucat, usus bengkak, ginjal bengkak, haemoragik pada usus
31 SA	100	30	Haemoragik pada daerah suntikan, pangkal pinnae analis, abdominales, ginjal bengkak
31SB	100	24	Haemoragik pada rahang bawah, pangkal pinnae abdominales, anus merah, insang pucat, ginjal bengkak, usus bengkak, dinding perut kecoklatan
1SB	0	-	Bergerombol di dasar, sisik gelap
2SA	0	-	Bergerombol di dasar, sisik terang atau gelap
2SB	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
5S	0	-	Bergerombol di dasar, sisik gelap
6S	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
7S	0	-	Bergerombol di dasar, sisik terang
8S	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
9SA	0	-	Bergerombol di dasar, sisik terang atau gelap
9SB	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
10S	0	-	Bergerombol di dasar, sisik terang atau gelap
11S	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
12S	0	-	Bergerombol di dasar, sisik gelap
13S	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
21SB	0	-	Bergerombol di dasar, sisik terang atau gelap
23S	0	-	Bergerombol di dasar, sisik terang atau gelap
25S	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
30S	0	-	Berenang ke permukaan, sisik terang
Kontrol	0	-	Bergerombol, warna sisik gelap atau terang

Berdasarkan hasil pengamatan, terdapat isolat *Vibrio* spp. patogen dalam jumlah yang hampir sama dengan isolat *Vibrio* spp. non patogen. Isolat-isolat patogen berdasarkan Postulat Koch merupakan anggota genus *Vibrio* yang berbahaya karena menjadi penyebab vibriosis pada

kerapu. Menurut Murdjani (2002) jenis *Vibrio* yang umum berkaitan dengan terjadinya penyakit pada kerapu (*Epinephelus salmonides*), kakap putih (*Lates calcarifer*), dan kakap merah (*Lutjanus johnii*) adalah *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V.*

anguillarum, dan *V. vulnificus*. Hasil karakterisasi dan identifikasi 12 isolat Vibrio patogen adalah sebagai berikut.

Vibrio spp. 20S dan 31SA

Vibrio spp. 20S dan 31SA diidentifikasi sebagai *V. anguillarum* dengan kesesuaian karakter 90 dan 83,87%. (Tabel 4). Kedua *Vibrio* spp. ini memiliki beberapa karakter yang berbeda. Hal ini merupakan sesuatu yang normal karena disamping memiliki variasi spesies, bakteri *Vibrio* juga memiliki variasi strain yang diantaranya berupa variasi sifat

Tabel 4. Karakter *Vibrio* spp. 20S, 31SA, dan *V. anguillarum*

Karakter	<i>V. anguillarum</i>			31SA	20S
	Holt et al. (1994)	Austin (1987)	Schaperclaus (1992) (Lightner 1996)		
Morfologi koloni:					
Bentuk	ND	ND	ND	ND	Circled
Tepi	ND	ND	ND	ND	Undulate
Elevasi	ND	ND	ND	ND	Low convex
Warna	ND	ND	ND	ND	Kuninghijau
Swarming	ND	ND	ND	ND	Swarming
Morfologi sel:					
Bentuk	ND	ND	ND	ND	Short rod
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Sifat fisiologi dan biokimia:					
O/F	ND	F	ND	F	F
Luminescent	-	ND	ND	ND	-
Motility	ND	+	ND	ND	+
Produksi:					
Katalase	ND	+	ND	ND	+
Oksidase	+	+	ND	+	+
Indol	ND	+	+	ND	-
H ₂ S	ND	-	-	ND	+
Lisin dekarboksilase	ND	-	-	-	-
Arginin dehydrolase	+	+	+	+	-
Ornitin dekarboksilase	ND	-	-	-	-
Tumbuh pada 30°C	+	ND	ND	ND	+
Tumbuh dalam:					
NaCl 0%	ND	-	+	-	+
NaCl 1%	ND	ND	ND	ND	+
NaCl 6%	ND	ND	ND	ND	+
NaCl 7%	ND	-	ND	ND	+
NaCl 8%	ND	ND	ND	(+)	+
Methyl red	ND	-	d	ND	+
Sensitifitas O/129	+	+	+	+	+
Pemecahan gelatin	+	+	+	+	+
Penggunaan:					
Citrat (simmon citrat)	+	ND	ND	ND	+
Xilosa	-	ND	ND	ND	-
Lactose	-	ND	ND	ND	-
D-mannitol	+	ND	ND	ND	+
Salicin	-	ND	ND	ND	-
Ornitin	-	ND	ND	ND	+
Etanol	-	ND	ND	ND	-
Glicin	-	ND	ND	ND	+
Produksi gas dari glukosa	-	ND	ND	ND	-
Produksi asam dari:					
Glucose	ND	ND	ND	ND	+
L-arabinose	ND	+	-	ND	+
D-galaktose	ND	ND	ND	ND	-
D-mannitol	ND	+	+	ND	+
D-mannose	ND	ND	+	ND	+
Sukrose	ND	+	+	ND	+

Keterangan: +, 90% atau lebih strain adalah positif; -, 90% atau lebih strain adalah negatif; (+), strain tidak stabil; F, fermentatif; ND, tidak ada data.

biokimia (Hastein & Smith, 1977; Schiewe & Crosa, 1981; Muroga et al., 1984). Holt et al. (1994) juga mengungkapkan terdapat ketidakstabilan sifat biokimia *Vibrio* spp. Strain 20S memiliki kemampuan menghasilkan indol, dan memanfaatkan glisin sebagai sumber energi. Strain 31SA memiliki kemampuan menghasilkan H₂S pada medium TSIA, dan memanfaatkan ornitin sebagai sumber energi.

V. anguillarum merupakan spesies *Vibrio* yang pertama kali diketahui secara klinis sebagai patogen terhadap ikan (Inglis et al., 1993). *Vibrio* spp. 20S dan 31SA menyebabkan kematian 100% ikan uji dengan rerata waktu kematian 24 dan 30 jam. Gejala penyakit yang ditimbulkan berupa haemoragik dan eritema pada beberapa organ tubuh (pangkal sirip, rahang bawah, daerah suntikan, usus), hepar pucat, ginjal bengkak. Sementara itu, hasil pengamatan histopatologi yang dilakukan Sarono et al. (1993) menunjukkan bahwa infeksi *V. anguillarum* menyebabkan bakteremia pada seluruh jaringan terutama darah, jaringan konektif, ginjal, empedu, insang, dan saluran pencernaan bagian belakang.

Vibrio sp. 29S

Vibrio sp. 29S diperoleh dari ginjal benih kerapu macan. Isolat ini diidentifikasi sebagai *V. parahaemolyticus* dengan kesesuaian karakter 91,43%. Karakter yang berbeda hanya terletak pada kandungan enzim lisin dekarboksilase dan kemampuan bakteri dalam memanfaatkan etanol dan ornitin (Tabel 5).

Vibrio sp. 29S bersifat patogen terhadap kerapu tikus. Berdasarkan Postulat Koch, bakteri ini mampu menyebabkan kematian pada ikan uji sebanyak 100% dengan rata-rata waktu kematian 22 jam. Menurut Sudheesh & Xu (2001) *V. parahaemolyticus* merupakan patogen yang sering ditemukan menyerang kelompok udang *Penaeus* dengan LD₅₀ sebesar 10⁵ sel/udang.

Vibrio sp. 31SB

Vibrio sp. 31SB diperoleh dari bagian ginjal kerapu tikus yang mengalami nekrosis pada pinnae pectorales dan pinna dorsalis. *Vibrio* sp. 31SB diiden-

tifikasi sebagai *V. vulnificus* dengan kesesuaian karakter 80,56% (Tabel 6). Perbedaan sifat fisiologis dan biokimia meliputi kandungan lisin dekarboksilase, kemampuan menfermentasi D-sorbitol dan L-arabinosa, memanfaatkan ornitin sebagai sumber energi, serta kemampuan bakteri untuk hidup pada media yang mengandung NaCl 0,7, dan 8%.

V. vulnificus merupakan bakteri patogen oportunistik pada manusia yang umumnya menyerang melalui olahan seafood. Serangan *V. vulnificus* menyebabkan angka kematian yang tinggi pada udang windu (*P. monodon*) maupun udang kuruma (*P. japonicus*) di Taiwan (Sung et al., 1993). Serangan *Vibrio* sp. 31SB menyebabkan kematian 100% kerapu tikus uji dengan rerata waktu kematian 24 jam. Gejala penyakit yang ditimbulkan berupa haemoragik pada pangkal sirip, daerah suntikan dan daerah abdomen, serta pembengkakan ginjal.

Vibrio sp. 4S

Vibrio sp. 4S diperoleh dari luka pada bagian sirip induk kerapu tikus. *Vibrio* sp. 4S menunjukkan kesesuaian karakter yang paling tinggi terhadap *V. metchnikovii*, yaitu sebesar 90,91%. Beberapa sifat fisiologis dan biokimia yang berbeda terletak pada kemampuan bakteri dalam pemanfaatan etanol dan ornitin, serta fermentasi L-arabinosa (Tabel 7).

Holt et al. (1994) menyebutkan bahwa bakteri ini memiliki karakter yang khas yaitu tidak mampu menghasilkan enzim oksidase. Bakteri ini bersifat patogen (Rollins & Joseph, 2000), dan banyak ditemukan menyerang ikan maupun organisme lain yang hidup di lingkungan laut (Inglis et al., 1993).

Tabel 5. Karakter *Vibrio* sp. 29S dan *V. parahaemolyticus*

Karakter	<i>V. parahaemolyticus</i>				29S
	Holt et al. (1994)	MacFaddin (1980)	Schaperclaus (1992)	Lightner (1996)	
Morfologi koloni:					
Bentuk	ND	ND	ND	ND	<i>Circulair</i>
Tepi	ND	ND	ND	ND	<i>Undulate</i>
Elevasi	ND	ND	ND	ND	<i>Low convex</i>
Warna	ND	Hijau	ND	ND	Kuninghijau
Swarming	ND	ND	ND	ND	<i>Swarming</i>
Morfologi sel:					
Bentuk	ND	ND	ND	ND	<i>Short rod</i>
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Sifat fisiologis dan biokimia:					
O/F	ND	F	ND	F	F
Luminescent	-	ND	ND	ND	-
Motility	+	+	ND	ND	+
Produksi:					
Katalase	+	+	ND	ND	+
Oksidase	+	ND	ND	+	+
Indol	+	+	+	ND	+
H ₂ S	-	-	-	ND	-
Lisin dekarboksilase	+	+	+	+	-
Arginin dehydrolase	-	-	-	-	-
Ornitin dekarboksilase	+	+	+	+	+
Tumbuh pada 30°C	+	ND	ND	ND	+
Tumbuh dalam:					
NaCl 0%	ND	ND	-	-	-
NaCl 1%	+	ND	ND	ND	+
NaCl 6%	+	ND	ND	ND	+
NaCl 7%	ND	ND	ND	ND	+
NaCl 8%	(+)	+	ND	ND	+
Methyl red	(+)	+	d	ND	+
Sensitifitas O/129	(-)	+	(+)	+	+
Sensitifitas novobiocin	ND	ND	ND	ND	+
Pemecahan gelatin	+	ND	+	ND	+
Penggunaan:					
Citrat (simmon citrat)	-	+	ND	ND	+
Xilosa	-	ND	ND	ND	-
Lactose	-	ND	ND	ND	-
D-mannitol	+	ND	ND	ND	+
Salicin	-	ND	ND	ND	-
Ornitin	-	ND	ND	ND	+
Etanol	+	ND	ND	ND	-
Glinin	d	ND	ND	ND	-
Produksi gas dari glukosa	-	-	ND	ND	-
Produksi asam dari:					
Glucose	+	ND	ND	ND	+
L-arabinose	(+)	ND	d	ND	+
D-galaktose	+	ND	ND	ND	+
D-mannitol	+	ND	+	ND	+
D-mannose	+	ND	+	ND	+
D-sorbitol	-	ND	ND	ND	-
Sukrose	-	ND	d	ND	+

Keterangan: +, 90% atau lebih strain adalah positif; -, 90% atau lebih strain adalah negatif ; d, 11- 89% strain adalah positif; (-), strain tidak stabil; (+), strain tidak stabil; F, fermentatif; ND, tidak ada data.

Tabel 6. Karakter *Vibrio* sp. 31SB dan *V. vulnificus*

Karakter	<i>V. vulnificus</i>			31SB
	Holt <i>et al.</i> (1994)	Austin (1987)	Lightner (1996)	
Morfologi koloni:				
Bentuk	ND	ND	ND	<i>Circled</i>
Tepi	ND	ND	ND	<i>Undulate</i>
Elevasi	ND	ND	ND	<i>Low convex</i>
Warna	ND	Hijau	ND	Kuning hijau
Swarming	ND	ND	ND	<i>Swarming</i>
Morfologi sel:				
Bentuk	ND	ND	ND	<i>Short rod lurus</i>
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Sifat fisiologis dan biokimia:				
O/F	ND	F	F	F
Luminescent	-	ND	ND	-
Motility	+	+	ND	+
Produksi:				
Katalase	ND	+	ND	+
Oksidase	+	+	+	+
Indol	+	-	ND	-
H ₂ S	-	-	ND	-
Lisin dekarboksilase	+	+	+	-
Arginin dehydrolase	-	-	-	-
Ornitin dekarboksilase	d	-	+	+
Tumbuh pada 30°C	+	ND	ND	+
Tumbuh dalam:				
NaCl 0%	ND	-	-	+
NaCl 1%	+	ND	ND	+
NaCl 6%	d	ND	ND	+
NaCl 7%		-		+
NaCl 8%	-	ND	ND	+
Methyl red	(+)	+	ND	+
Sensitifitas O/129	+	+	+	+
Sensitifitas novobiocin	ND	ND	ND	+
Pemecahan gelatin	+	+	ND	+
Penggunaan:				
Citrat (simmon citrat)	d	ND	ND	-
Xilosa	-	ND	ND	-
Lactose	d	ND	ND	+
D-mannitol	d	ND	ND	+
Salicin	-	ND	ND	-
Ornitin	-	ND	ND	+
Etanol	-	ND	ND	-
Glicin	-	ND	ND	-
Produksi gas dari glukosa	-	ND	ND	-
Produksi asam dari:				
Glucose	+	ND	ND	+
L-arabinose	-	-	ND	+
D-galaktose	+	ND	ND	+
D-mannitol	d	ND	ND	+
D-mannose	+	+	ND	+
D-sorbitol	-	ND	ND	+
Sukrose	(-)	ND	ND	+

Keterangan: +, 90% atau lebih strain adalah positif; -, 90% atau lebih strain adalah negatif;
d, 11- 89% strain adalah positif; (-), strain tidak stabil; (+), strain tidak stabil;
F, fermentatif; ND, tidak ada data.

Tabel 7. Karakter *Vibrio* sp. 4S dan *V. metchnikovii*

Karakter	<i>V. metchnikovii</i>		4S
	Holt et al., (1994)	Lightner (1996)	
Morfologi koloni:			
Bentuk	ND	ND	<i>Irreguler</i>
Tepi	ND	ND	<i>Entire</i>
Elevasi	ND	ND	<i>Low convex</i>
Warna	ND	ND	Kuning
<i>Swarming</i>	ND	ND	<i>Swarming</i>
Morfologi sel:			
Bentuk	ND	ND	<i>Short rod</i>
Gram	ND	ND	Negatif
Sifat fisiologis dan biokimia:			
O/F	ND	F	F
Luminescent	-	ND	-
Motility	D	ND	+
Produksi:			
Katalase	ND	ND	+
Oksidase	-	-	-
Indol	(-)	ND	-
H ₂ S	-	ND	-
Lisin dekarboksilase	D	(+)	-
Arginin dehydrolase	D	+	-
Ornitin dekarboksilase	-	-	-
Tumbuh pada 30°C	+	ND	+
Tumbuh dalam:			
NaCl 0%	ND	+	+
NaCl 1%	+	ND	+
NaCl 6%	(+)	ND	+
NaCl 7%	ND	ND	+
NaCl 8%	D	ND	+
Methyl red	+	ND	+
Sensititas O/129	+	+	+
Sensititas novobiocin	ND	ND	+
Pemecahan gelatin	+	ND	+
Penggunaan:			
Citrat (simmon citrat)	D	ND	+
Xilosa	-	ND	-
Lactose	D	ND	-
D-mannitol	+	ND	+
Salicin	-	ND	-
Ornitin	+	ND	-
Etanol	-	ND	+
Glicin	-	ND	-
Produksi gas dari glukosa	-	ND	-
Produksi asam dari:			
Glucose	+	ND	+
L-arabinose	-	ND	+
D-galaktose	D	ND	+
D-mannitol	+	ND	+
D-mannose	+	ND	+
D-sorbitol	D	ND	-
Sukrose	+	ND	+

Keterangan: +, 90% atau lebih strain adalah positif; -, 90% atau lebih strain adalah negatif; d, 11- 89% strain adalah positif; (-), strain tidak stabil; (+), strain tidak stabil; F, fermentatif; ND, tidak ada data.

Vibrio sp. 3S

Vibrio sp. 3S diperoleh dari ginjal kerapu macan yang dipelihara di bak pendederen. *Vibrio* sp. 3S diidentifikasi sebagai *V. furnisii* dengan kesesuaian karakter 84,37%. Perbedaan sifat fisiologis dan biokimia terletak pada kandungan enzim arginin dehydrolase dan ornitin dekarboksilase, kemampuan

menghasilkan gas dari glukosa, kemampuan bakteri untuk memfermentasi sorbitol, serta kemampuan bakteri untuk tumbuh pada media yang mengandung NaCl 0% (Tabel 8).

Menurut Lee et al. (1981) cit. Esteve et al. (1995), *V. furnisii* merupakan *V. fluvialis* yang menghasilkan gas. Meskipun belum

dipaparkan secara tuntas, bakteri ini memiliki eksoenzim aktif dalam selnya sehingga sering menyebabkan serangan diare di daerah tropis. Esteve et al. (1995) menyebutkan bahwa infeksi *V. furnisii* pada sidat menyebabkan gejala eksternal berupa produksi mukus berlebih, serta

adanya haemoragik pada saluran pencernaan. Ahsan (1992) cit. Esteve et al. (1995) menyebutkan bahwa strain yang diisolasi dari sekitar *ulcer* pada sidat liar memiliki toksin sebagai faktor keganasan.

Tabel 8. Karakter *Vibrio* sp.3S dan *V. furnisii*

Karakter	<i>V. furnisii</i>		3S
	(Holt et al. 1994)	(Lightner 1996)	
Morfologi koloni:			
Bentuk	ND	ND	<i>Circulair entire</i>
Tepi	ND	ND	<i>convex</i>
Elevasi	ND	ND	kuninghijau
Warna	ND	ND	
Ukuran	ND	ND	besar
Swarming	ND	ND	<i>swarming</i>
Morfologi sel:			
Bentuk	ND	ND	<i>Shortrod lurus</i>
Gram	Negatif	Negatif	Negatif
Sifat fisiologis dan biokimia:			
O/F	ND	F	F
Luminescent	-	ND	-
Motility	(+)	ND	+
Produksi:			
Katalase	ND	ND	+
Oksidase	+	+	+
Indol	(-)	ND	-
H ₂ S	-	ND	-
Lisin dekarboksilase	ND	-	-
Arginin dehydrolase	+	+	-
Ornitin dekarboksilase	ND	-	+
Tumbuh pada 30°C	+	ND	+
Tumbuh dalam:			
NaCl 0%	ND	-	+
NaCl 1%	+	ND	+
NaCl 6%	+	ND	+
NaCl 7%	ND	ND	+
NaCl 8%	(+)	ND	+
Methyl red	+	ND	+
Sensitifitas O/129	-	+	-
Sensitifitas novobiocin	ND	ND	+
Pemecahan gelatin	+	ND	+
Penggunaan:			
Citrat (simmon citrat)	+	ND	+
Xilosa	-	ND	-
Lactose	+	ND	-
D-mannitol	-	ND	+
Salicin	-	ND	-
Ornitin	ND	ND	+
Etanol	D	ND	-
Glicin	ND	ND	-
Produksi gas dari glukosa	+	ND	-
Produksi asam dari:			
Glucose	+	ND	+
L-arabinose	+	ND	+
D-galaktose	+	ND	+
D-mannitol	+	ND	+
D-mannose	+	ND	+
D-sorbitol	-	ND	+
Sukrose	+	ND	+

Keterangan: +, 90% atau lebih strain adalah positif; -, 90% atau lebih strain adalah negatif; d, 11- 89% strain adalah positif; (-), strain tidak stabil; (+), strain tidak stabil; F, fermentatif; ND, tidak ada data.

Vibrio spp. 1S, 1SA, 22S, 26S, dan 28S
Vibrio spp. 1S, 1SA, 22S, 26S, dan 28S
diidentifikasi sebagai *V. alginolyticus*
dengan kesesuaian karakter berturut-turut

91,66; 86,11; 94,44; 86,11; dan 88,89%
(Tabel 9).

Tabel 9. Karakter *Vibrio* spp. 1S, 1SA, 22S, 26 S, 28 S, dan *V. alginolyticus*

Karakter	<i>V. alginolyticus</i>				<i>Vibrio</i> spp.				
	Holt et al. (1994)	Austin (1987)	McFaddin (1980)	Lightner ('1996)	28S	26S	22S	1S	1SA
Morfologi koloni:									
Bentuk	ND	ND	ND	ND	Circulair	Circulair	Circulair	Circulair	Circulair
Tepi	ND	ND	ND	ND	Undulate	Entire	Entire	Entire	Entire
Elevasi	ND	ND	ND	ND	Convex	Convex	Convex	Convex	Convex
Warna	ND	H	ND	ND	KH	KH	KH	KH	KH
Swarming	ND	ND	ND	ND	Swarming	Swarming	Swarming	Swarming	Swarming
Morfologi sel:									
Bentuk	ND	ND	ND	ND	Short rod	Short rod	Rod kecil	Short rod	Short rod
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Sifat fisiologis dan biokimia:									
O/F	+	F	F	F	F	F	F	F	F
Luminescent	-	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Motility	ND	+	+		+	+	+	+	+
Produksi:									
Katalase	ND	+	+	ND	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	ND	+	+	+	+	+	+
Indol	(+)	+	+	ND	+	-	+	-	-
H ₂ S	-	+	-	ND	-	-	+	-	-
Lisin dekarboksilase	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Arginin dehidrolase	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Omitin dekarboksilase	d	+	(+)	+	-	+	-	-	+
Tumbuh pada 30°C	+	ND	ND	ND	+	+	+	+	+
Tumbuh dalam:									
NaCl 0%	ND	-	ND	-	-	-	-	-	-
NaCl 1%	+	ND	ND	ND	+	+	+	+	+
NaCl 6%	+	ND	ND	ND	+	+	+	+	+
NaCl 7%	ND	+	ND	ND	+	+	+	+	+
NaCl 8%	+	ND	+	ND	+	+	+	+	+
Methyl red	d	+	-	ND	+	+	+	+	+
sensititas O/129	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+
Sensititas novobiocin	ND	ND	ND	ND	+	+	+	+	+
Pemecahan gelatin	+	+	ND	ND	+	+	+	+	+
Penggunaan:									
Citrat (simmon citrat)	-	ND	(+)	ND	+	-	+	+	-
Xilosa	-	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Lactose	-	ND	ND	ND	+	-	-	-	-
D-mannitol	+	ND	ND	ND	+	+	+	+	+
Salicin	-	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Omitin	-	ND	ND	ND	+	+	-	+	+
Etanol	d	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Glicin	+	ND	ND	ND	+	-	+	+	-
Produksi gas dari glukosa	-	ND	-	ND	-	-	-	-	-
Produksi asam dari:									
Glucose	+	ND	ND	ND	+	+	+	+	+
L-arabinose	-	-	ND	ND	+	+	+	+	+
D-galaktose	(-)	ND	ND	ND	-	+	+	-	+
D-mannitol	+	+	ND	ND	+	+	+	+	+
D-mannoze	+	+	ND	ND	+	+	+	+	+
D-sorbitol	-	ND	ND	ND	-	+	-	-	+
Sukrose	+	+	ND	ND	+	+	+	+	+

Keterangan: +, 90% atau lebih strain adalah positif; -, 90% atau lebih strain adalah negatif;
d, 11- 89% strain adalah positif; (-), strain tidak stabil; (+), strain tidak stabil; H,
hijau; K, kuning; F, fermentatif; ND, tidak ada data.

V. alginolyticus 1S, 1SA, 22S, 26S, dan 28S menyebabkan kematian ikan uji sebanyak 66,67-100% dengan rerata waktu kematian berkisar 21-48 jam. Taslihan et al. (2000) menyebutkan bahwa serangan *V. alginolyticus* pada kerapu tikus menyebabkan gejala penyakit berupa mulut merah, tubuh berbercak merah, *ulcer* pada mulut, pembengkakan rongga perut (akibat pembengkakan organ dalam dan akumulasi cairan sisa metabolisme), serta putus sirip.

V. alginolyticus bersifat patogen (Austin & Austin, 1987; Rollins & Joseph, 2000), dan selalu ditemukan menyebabkan vibriosis pada ikan laut. *V. alginolyticus* merupakan jenis yang paling patogen terhadap kerapu tikus yang menyebabkan kematian sampai 100% dengan nilai LD₅₀ 10^{6,65} sel/ikan (Murdjani, 2002). Pemanfaatan yang dilakukan BBPBAP Jepara menunjukkan bahwa *V. alginolyticus* sangat dominan menyebabkan serangan vibriosis terutama pada pergantian musim kemarau ke hujan (Taslihan et al., 2000).

Vibrio sp. 24SK

Vibrio sp. 24SK diisolasi dari ginjal kerapu tikus yang dipelihara pada karamba jaring apung. *Vibrio* sp. 24SK diidentifikasi sebagai *V. fluvialis* dengan kesesuaian karakter 88,23%. Perbedaan sifat fisiologis dan biokimia berupa kemampuan memanfaatkan salicin sebagai sumber energi, kemampuan bakteri untuk memfermentasi galaktosa dan mannose, serta kemampuan bakteri untuk tumbuh pada media yang mengandung NaCl 6% (Tabel 10).

V. fluvialis 24SK bersifat patogen karena mampu menyebabkan kematian 100%

pada ikan uji dengan rerata waktu kematian 17 jam dengan injeksi *intraperitoneal*. Menurut Rollins & Joseph (2000), *V. fluvialis* merupakan bakteri patogen, walaupun masih jarang dilaporkan menyerang ikan di pemberian maupun pembesaran (Lightner, 1996). Infeksi *V. fluvialis* 24SK pada awalnya menyebabkan ikan uji bergerak hiperaktif turun naik ke permukaan, sisik tampak gelap, kemudian terlihat adanya haemorragik pada pangkal pinnae abdominales, serta pendarahan pada rongga perut.

Secara keseluruhan, 12 *Vibrio* spp. Patogen diidentifikasi sebagai *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus*, *V. metchnikovii*, *V. furnissii*, dan *V. fluvialis*. Pada lokasi yang sama, Murdjani (2002) berhasil mengisolasi *V. fuscus*, *V. algosus*, *V. alginolyticus*, dan *V. anguillarum*. Sementara itu, penelitian serupa pernah dilakukan Wijayanti & Hamid (1997) dimana spesies *Vibrio* patogen yang berhasil diisolasi dari kerapu tikus yaitu *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. marinus*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya kecenderungan pertambahan jenis *Vibrio* patogen yang menyerang ikan kerapu. *V. alginolyticus* dan *V. anguillarum* merupakan spesies yang banyak ditemukan sebagai penyebab vibriosis di BBAP Situbondo. Dalam penelitian ini, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. metchnikovii*, *V. furnissii*, dan *V. fluvialis* merupakan bakteri patogen yang ditemukan mulai menyerang ikan kerapu di BBAP Situbondo.

Tabel 10. Karakter *Vibrio* sp. 24SK dan *V. fluvialis*

Karakter	<i>V. fluvialis</i>		<i>Vibrio</i> sp. 24SK
	Holt et al., (1994)	Lightner (1996)	
Morfologi koloni:			
Bentuk	ND	ND	<i>Circulair</i>
Tepi	ND	ND	<i>Entire</i>
Elevasi	ND	ND	<i>Low convex</i>
Warna	ND	ND	Kuning
<i>Swarming</i>	ND	ND	<i>Non-swarming</i>
Morfologi sel:			
Bentuk	ND	ND	<i>Short rod lurus</i>
Gram	Negatif	Negatif	Negatif
Sifat fisiologi dan biokimia:			
O/F	-	F	F
Luminescent	-	ND	-
Motility	d	ND	+
Produksi:			
Katalase	ND	ND	+
Oksidase	+	+	+
Indol	(-)	ND	-
H ₂ S	-	ND	-
Lisin dekarboksilase	-	-	-
Arginin dehydrolase	+	+	+
Ornitin dekarboksilase	-	-	-
Tumbuh pada 30°C	+	ND	+
Tumbuh dalam:			
NaCl 0%	ND	-	-
NaCl 1%	+	ND	+
NaCl 6%	+	ND	-
NaCl 7%			-
NaCl 8%	d	ND	-
Methyl red	+	ND	+
Sensitifitas O/129	d	+	+
Sensitifitas novobiocin	ND	ND	+
Pemecahan gelatin	(+)	ND	+
Penggunaan:			
Citrat (simmon citrat)	+	ND	+
Xirosa	-	ND	-
Lactose	-	ND	-
D-mannitol	+	ND	+
Salicin	+	ND	-
Ornitin	+	ND	+
Etanol	+	ND	+
Glicin	d	ND	-
Produksi gas dari glukosa	-	ND	-
Produksi asam dari:			
Glucose	+	ND	+
L-arabinose	+	ND	+
D-galaktose	+	ND	-
D-mannitol	+	ND	+
D-mannose	+	ND	-
D-sorbitol	-	ND	-
Sukrose	+	ND	+

Keterangan: +, 90% atau lebih strain adalah positif; -, 90% atau lebih strain adalah negatif; d, 11- 89% strain adalah positif; (-), strain tidak stabil; (+), strain tidak stabil; F, fermentatif; ND, tidak ada data.

Kesimpulan

1. Dari 29 isolat *Vibrio* spp., 12 isolat (41,38%) bersifat patogen dan 17 isolat (58,62%) bersifat non patogen.
2. *Vibrio* spp. patogen yang diisolasi dari BBAP Situbondo diidentifikasi sebagai: *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus*, *V.*

- metchnikovii*, *V. Furnisii*, dan *V. fluvialis*.
3. Kelompok *Vibrio* patogen menyebabkan kematian 66,67-100% dengan rerata waktu kematian 17-46 jam dengan dosis infeksi 10^6 sel/ikan.

Saran

Banyaknya *Vibrio* spp. patogen penyebab vibriosis pada kerapu di BBAP Situbondo mengindikasikan perlu segera dilakukan upaya pencegahan dan penanggulangan melalui cara yang efektif dan aman, seperti vaksinasi dengan menggunakan vaksin polivalen.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan rangkaian Riset Unggulan Nasional (RUSNAS) kerapu yang dibiayai oleh Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Kementerian Negara Riset dan Teknologi.

Daftar Pustaka

- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. *Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish*. John Wiley and Sons. Chichester. 364 p.
- Esteve, C., C. Amaro, E.G. Biosca, and E. Garay. 1995. Biochemical and toxicogenic properties of *Vibrio furnisii* isolated from an european eel farm. *Aquaculture*. 132: 81-90.
- Gerhardt, P., R.G.E. Murray, W.A. Wood, and N.R. Krieg. 1994. *Methods for general and molecular bacteriology*. American Society for Microbiology. Washington. 651 p.
- Hastein, T. and J.E. Smith. 1977. A Study of *Vibrio anguillarum* from farmed and wild fish using principal components analysis. *J. Fish. Biol.* 11: 69-75.
- Holt, J.G., P.H.A. Sneath, J.T. Stanley, and S.T. Williams. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th Ed. Williams and Wilkins. Baltimore. 787 p.
- Inglis, V., R.J. Robert, and N.R. Bromage. 1993. *Bacterial disease of fishes*. Blackwell Scientific Pub. London. 283 p.
- Jordan, E.O. and W. Borrows. 1941. *Text book of bacteriology*. 40 Ed. Saunders Company. Philadelphia. 456 p.
- Jutono, J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, S. Suhadi, dan D. Soesanto. 1973. *Pedoman praktikum mikrobiologi umum untuk perguruan tinggi*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. 153 p.
- Lightner, D.V. 1996. *A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of culture penaeid shrimp*. Sec. 4: *Bacteria, vibriosis-culture and identification*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana. 26 p.
- MacFaddin, J.F. 1980. *Biochemical test for identification of medical bacteria*. Second Ed. Williams and Wilkins. Baltimore. 528 p.
- Murdjani, M. 2002. Identifikasi dan patologi bakteri *Vibrio alginolyticus* pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). Ringkasan Disertasi. Universitas Brawijaya. Malang. 48p.
- Muroga, K., K. Satoh, and T. Wakal. 1984. Growth temperature of five bacterial pathogen for eel. *Fish Pathol.* 19(3): 193-196.
- Rollins, D.M. and S.W. Joseph. 2000. List of bacterial pathogen. BSCL 424 Pathogenic Microbiology. University of Maryland. <http://www.life.umd.edu/classroom/bci/434/index.html>. Diakses tanggal 17 Agustus 2004.

- Sarono, A. Widodo, dan E.B. Sri Haryani. 1993. Deskripsi hama dan penyakit ikan karantina golongan bakteri. Edisi kedua. Pusat karantina Pertanian dan Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM. Yogyakarta. 90 p.
- Schiewe, M.H., T.J. Trust, and J.H. Crossa. 1982. *Vibrio ordalii* sp. Nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 32: 384-384.
- Schaperclause, W. 1991. Fish disease 1. A.A. Balkema/Rotterdam. 588 p.
- Sudheesh, P.S. and H-S Xu. 2001. Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius: possible role of extracellular proteases. Aquaculture. 196: 37-46.
- Sung, H.H., G.H. Kou, and Y.L. Song. 1993. Characterization of mono-clonal antibodies and corresponding epitopes of *Vibrio vulnificus*. Fish Pathol. 28(4): 181-188.
- Taslihan, A., M. Murdjani, C. Purbomartono, dan E. Kusnendar. 2000. Bakteri patogen penyebab penyakit mulut merah pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). J. Perikanan. II(2): 57-62.
- Wijayanti, A. dan N. Hamid. 1997. Identifikasi bakteri pada pembe-nihan ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). Ditjen. Perikanan. Deptan. 9 p.
- Zafran, D. Roza, I. Koesharyani, and F. Johnny. 1998. Panduan untuk diag-nosis penyakit ikan dan krustase laut di Indonesia. JICA dan Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol. 44 p.