

**KARAKTERISTIK *Aeromonas hydrophila*
PADA IKAN LELE (*Clarias sp*)
DI DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA DAN
JAWA TENGAH SELATAN**

**(CHARACTERISTICS OF *Aeromonas hydrophila*
ON CATFISH, *Clarias sp*, IN YOGYAKARTA
SPECIAL TERRITORY AND SOUTH CENTRAL
JAVA PROVINCE)**

Oleh:

Kamiso H.N., Triyanto dan Sri Hartati¹⁾

Intisari

Aeromonas hydrophila adalah bakteri penyebab penyakit ikan air tawar yang terpenting di Indonesia. Bakteri ini sangat ganas dan dapat menyebabkan kematian lebih dari 60% dalam waktu sekitar 7 hari. Penggunaan vaksin memberi harapan cukup baik, tetapi untuk pengembangannya masih mengalami hambatan, karena karakteristik bakteri ini belum banyak diketahui dan adanya heterogenisitas antigenik.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui sifat morfologi, biokimia, serologi dan patogenisitas beberapa isolat *A. hydrophila* dari Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah bagian selatan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *A. hydrophila* ternyata dapat merupakan penyebab infeksi primer pada ikan lele. Bakteri ini bersifat Gram negatif, berbentuk batang, koloni bulat, cembung, berwarna kekuning-kuningan, dan mempunyai variasi biokimia. Dari 23 isolat yang memfermentasi glukosa dan membentuk gas 82,61%, laktosa 73,9%, sukrosa 100%, monitol 4,76%, dulcitol 8,69%, sorbitol 8,69%, arabinosa 60,69%, adonitol 13,04% dan raffinosa 26,09%. Sedang uji serologi menunjukkan bahwa diantara isolat ada yang bersifat reaksi silang dan mempunyai *common antigen*. Dosis letal (LD_{50}) bakteri berkisar antara $(5,78 \times 10^4)$ – $(3,35 \times 10^7)$ sel/ml, dengan rata-rata waktu kematian 7,5 – 9,7 hari. Suntikan eksotoksin ternyata dapat menimbulkan kematian dan gejala yang sama dengan infeksi oleh sel utuh secara alami atau laboratoris.

Abstract

Aeromonas hydrophila is one of the most important bacterial pathogen in fresh-water fishes in Indonesia. The bacteria can cause mortality more than 60% in cultured fish in approximately 7 days. Vaccination has a good prospect to solve the disease problem cause by MAS. However, there are some problems to develop mass production of *A. hydrophila* vaccine. Because the bacteria has antigenic heterogeneity and the characteristics are not well understood.

¹⁾Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian UGM Yogyakarta

The objectives of the study were to know the characteristics of *A. hydrophila* especially the morphology, biochemical, serology, and pathogenicity of some isolates from Yogyakarta Special Territory and South Central Java Provinces.

The results indicated that *A. hydrophila* could become a primary pathogen on catfish. The bacteria were rod, Gram negative, round, convex and yellowish colonies, they had various biochemical characteristics. From 23 isolates, 82.61% was fermentative on glucose and produced gas, lactose 73.9%, sucrose 100%, mannitol 4.76%, dulcitol 8.69%, sorbitol 8.69%, arabinose 60.69%, adonitol 13.04%, and raffinose 26.09%. Some isolates had serological cross reaction and it indicated that the bacteria had common antigens. The LD₅₀ ranging from 5.78×10^4 cell/ml to 3.35×10^7 cell/ml, with mean time to death between 7.5 days and 9.7 days. Exotoxin injection caused death and produced the same signs as natural infection.

I. Pengantar

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat oportunistik patogen terutama pada ikan yang luka maupun yang stres (Wakabayashi dkk., 1981). Penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri tersebut dikenal dengan nama MAS (*Motil Aeromonas Septisemia*). Penyakit ini cukup ganas, khususnya pada benih ikan lele. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyakit ini dapat menyebabkan tingkat kematian lebih dari 60% (Supriyadi dan Rukyani, 1990) dalam waktu sekitar 7 hari (Triyanto, 1990).

Penanggulangan penyakit oleh *A. hydrophila* dapat dilakukan antara lain dengan sanitasi lingkungan, meningkatkan nutrisi yang diberikan, penggunaan obat-obatan dan dengan vaksinasi. Usaha vaksinasi untuk mencegah penyakit yang disebabkan bakteri *A. hydrophila* menurut Plumb (1984) mempunyai prospek yang baik karena efektif dan tidak mempunyai dampak sampingan. Tetapi pengembangan vaksin masih menghadapi beberapa masalah, karena karakteristik bakteri ini belum banyak diketahui dan adanya heterogenitas antigenik. Untuk itu penelitian tentang sifat bakteri *A. hydrophila* sangat diperlukan.

Tujuan umum penelitian adalah meningkatkan pengetahuan tentang *A. hydrophila* yang merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit ikan air tawar terpenting di Indonesia. Sedang tujuan khusus adalah untuk : Mengetahui sifat biokimia dan serologi bakteri *A. hydrophila* yang menyerang ikan lele di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah bagian selatan. Gejala penyakit dan patogenisitas serta berapa lama gejala dan kematian ikan terjadi.

Hasil penelitian ini akan bermanfaat sebagai dasar mencari alternatif penanggulangan penyakit MAS secara tepat dan berdampak sampingan kecil, serta terjangkau oleh petani. Sedang bagi industri akan menjadi bahan pertimbangan dalam memproduksi vaksin.

II. Metode Penelitian

1. Inventarisasi dan identifikasi bakteri patogen

Inventarisasi bakteri penyebab penyakit ikan dilakukan dengan mengambil sampel ikan yang menunjukkan adanya gejala penyakit bakteri, yang diambil dari berbagai tempat di Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) dan Jawa Tengah bagian selatan. Isolasi bakteri dilakukan dari ginjal dan luka pada medium Trypticase Soy Agar (TSA) dan diinkubasikan pada suhu kamar. Identifikasi meliputi : morfologi koloni, morfologi bakteri dan uji biokimia.

Uji serologi dilakukan terhadap beberapa isolat bakteri. Antiserum diperoleh dengan melakukan infeksi pada kelinci secara intramuskular. Pada minggu ke 1, 2, 3, dan 4 setelah infeksi, masing-masing kelinci diambil sampel darahnya untuk dilakukan pengamatan serologi dengan metode titer antibodi. Setelah titer antibodi cukup tinggi baru darah kelinci diambil dalam jumlah besar dari vena, digumpalkan dan dipisahkan serumnya dengan sentrifugasi.

2. Kultur bakteri

Sebanyak 1 isolat bakteri *A. hydrophila* dari DIY dan 3 isolat dari Jawa Tengah bagian selatan serta 1 isolat dari Bogor untuk pembandingan digunakan dalam penelitian ini. Sebelum digunakan bakteri tersebut ditingkatkan virulensinya yaitu dengan reinfeksi dan isolasi kembali pada ikan lele dumbo ukuran 10 – 20 cm sebanyak 3 kali. Selanjutnya isolat bakteri *A. hydrophila* dikultur secara bertingkat pada medium TSB untuk mendapatkan volume yang diperlukan. Kultur murni tersebut digunakan pada pengujian patologi, patogenisitas, dan pengujian toksin.

3. Patologi dan patogenisitas

a. Penentuan dosis letal 50 (LD_{50})

Dalam pengujian ini masing-masing isolat bakteri diinfeksi pada ikan lele dumbo ukuran 5 – 8 cm dengan dosis 10^4 , 10^5 , 10^6 , dan 10^7 sel bakteri/ml, secara rendaman selama 30 menit dengan diberi aerasi secara terus menerus. Kemudian masing-masing ikan uji dari perlakuan tersebut dipindah ke dalam ember berisi air 20 liter, dengan aerasi dan aliran air (debit 1 liter/menit) secara terus menerus. Air yang digunakan adalah air sumur yang telah ditampung dalam tangki air selama 1 – 2 hari. Selama pengujian ikan uji tidak diberi pakan.

Pengamatan terhadap timbulnya gejala penyakit, dan mortalitas dilakukan setiap hari selama 15 hari pengujian. Sedang pengamatan kualitas air dilakukan pada hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-14 pada jam 05.00 – 06.00.

b. Pengujian eksotoksin

Eksotoksin adalah supernatan yang diperoleh dengan mensesentrifugasi kultur murni bakteri dari medium TSB yang telah berumur 18 – 24 jam. Kemudian toksin tersebut diinfeksi pada lele dumbo ukuran 8 – 10 cm secara suntikan intraperitoneal dengan dosis 0,05, 0,10, 0,15 ml/ekor. Kontrol adalah ikan yang disuntik dengan PBS. Selanjutnya lele dumbo yang telah disuntik tersebut dipelihara dalam ember berisi air 20 liter. Gejala penyakit yang timbul dan mortalitas diamati setiap hari selama 15 hari.

III. Hasil dan Pembahasan

1. Inventarisasi dan Identifikasi

Inventarisasi dilakukan di DIY (Kabupaten Sleman dan Kabupaten Bantul) dan Jawa Tengah (Kabupaten Magelang, Kabupaten Purworejo dan Kabupaten Kebumen). Berdasarkan klasifikasi Bullock (1971) dari hasil inventarisasi sebanyak 43 isolat ternyata 23 isolat merupakan *A. hydrophila* dan 20 isolat bakteri lain (tabel 1).

Tabel 1. Hasil inventarisasi bakteri *Aeromonas hydrophila* di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah bagian selatan.

Asal isolat	<i>A. hydrophila</i>	lainnya
1. D.I. Yogyakarta	9	10
2. Kab. Purworejo	8	7
3. Kab. Kebumen	4	3
4. Kab. Magelang	2	—
Total	23	20

Dari 23 isolat *A. hydrophila* tersebut, 22 isolat diisolasi dari benih lele dumbo dengan ukuran 5 – 8 cm. Sedang satu isolat lainnya diisolasi dari ikan karper di daerah Jatijajar (Kab. Kebumen). Untuk 20 isolat selain *A. hydrophila* belum dapat ditentukan jenisnya.

Hasil inventarisasi menunjukkan bahwa isolat *A. hydrophila* jumlahnya lebih banyak daripada jenis lainnya. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Kamiso (1988), yang dilakukan di DIY menyatakan bahwa penyebab utama penyakit bakterial pada benih lele adalah *A. hydrophila*.

Morfologi bakteri *A. hydrophila* hasil inventarisasi, koloni bulat, warna koloni kekuningan, bentuk batang, Gram negatif dan motil. Sedang sifat biokimianya sitokrom oksidasi positif, fermentatif, novobiocin negatif dan membentuk gas pada medium glukosa.

Secara lebih lengkap sifat bakteri *A. hydrophila* hasil inventarisasi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji biokimia terhadap 23 isolat bakteri *Aeromonas hydrophila*

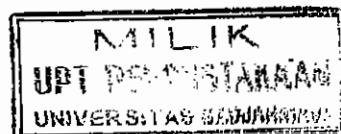
Karakter	Positif (%)
1. Indol	82.60
2. Simmons citrate	60.86
3. MR	21.74
4. VP	34.78
5. Arginine	100.00
6. Ornithine	82.60
7. TSI (K/A,G)	82.86
8. Glukosa-gas	82.86
9. Laktosa	73.91
10. Sukrosa	100.00
11. Manitol	4.76
12. Dulcitol	8.69
13. Sorbitol	8.69
14. Arabinosa	60.86
15. Adonitol	13.04
16. Raffinosa	26.09
17. Malonat	56.52

Tabel 2 menunjukkan, bahwa terdapat variasi sifat biokimia. Uji hidrolisis terhadap senyawa gula menunjukkan bahwa dari 23 isolat *A. hydrophila*, yang positif terhadap glukosa dan membentuk gas 82,61%, laktosa 73,91%, sukrosa 100%, manitol 4,76%, dulcitol 8,69%, sorbitol 8,69%, arabinosa 60,69%, adonitol 12,04%, dan raffinosa 26,09%. Variasi sifat biokimia *A. hydrophila* juga ditemukan oleh Hsu dkk. (1985) yang telah menyelidiki sebanyak 164 strain.

Untuk 20 isolat bakteri lain (non *A. hydrophila*) semuanya diperoleh dari tempat dan ikan yang sama dengan yang diperoleh *A. hydrophila*, yaitu benih lele dumbo. Sepuluh isolat diperoleh di DIY, 7 isolat diperoleh dari Kabupaten Purworejo dan 3 isolat lainnya diperoleh dari kabupaten Kebumen. Hasil serupa juga diperoleh oleh Taufik dan Yong (1990) yang telah mendapatkan 449 isolat dari *C. batrachus* L., dan ternyata 73,6% *Aeromonas*, 12% *Plesiomonas*, 0,6% *Pseudomonas*, dan lainnya berupa *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus* dan lain-lain.

2. Uji serologi

Uji serologi dilakukan dengan cara aglutinasi (*rapid slide agglutination*) dengan antigen komplit (*whole cell Antigen*). Hasilnya menunjukkan bahwa aglutinasi tidak hanya terjadi antara antiserum dan antigen yang sejenis tetapi juga terjadi reaksi silang. Setiap anti-



serum dapat bereaksi paling tidak dengan dua jenis antigen, bahkan untuk antiserum PA 01 (isolat Magelang) dapat bereaksi dengan semua antigen yang dipakai (tabel 3). Hal ini sesuai dengan sifat *A. hydrophila* yang mempunyai variasi antigenik sangat besar (Newman, 1983), sedang reaksi aglutinasi silang karena adanya antigen yang sama atau *common antigens* (Miles dan Miles, 1951; Thune, 1980).

Tabel 3. Uji serologi terhadap *Aeromonas hydrophila* dari berbagai daerah

Antiserum	Antigen				
	Magelang (PA 01)	Purworejo (PA 05)	Kebumen (PA 06)	Bantul (PA 07)	Bogor (BA 02)
Magelang (PA 01)	+	+	+	+	+
Purworejo (PA 05)	-	+	+	-	-
Kebumen (PA 06)	-	-	+	+	-
Bantul (PA 07)	+	+	-	+	-
Bogor (BA 02)	+	-	-	-	+

3. Patologi dan Patogenisitas

Gejala penyakit yang ditimbulkan oleh isolat DIY dan Jawa Tengah selatan ternyata mirip dengan gejala dari penyakit MAS pada umumnya seperti dikemukakan oleh beberapa peneliti terdahulu (Austin dan Austin, 1987; Triyanto, 1990). Gejala yang teramati selama 15 hari dari infeksi rendaman antara lain bercak-bercak merah, hemorragik pada tubuh dan insang, koreng, perut kembung yang berisi cairan berwarna kuning, mata menonjol, kulit mengelupas dan organ dalam kemerah-merahan. Setiap ikan tidak selalu menunjukkan gejala yang sama dari semua gejala tersebut, tetapi hanya beberapa gejala saja. Beberapa ekor mati tanpa menunjukkan gejala yang jelas, terutama yang kematiannya relatif cepat (akut). Gejala penyakit timbul sekitar 5 hari setelah infeksi dan semakin tinggi dosis bakterinya semakin cepat gejala penyakitnya timbul.

Hasil uji patogenisitas dari 5 isolat, yang dilakukan dengan cara rendaman (*waterborne infection*) selama 30 menit menunjukkan bahwa tiap isolat yang diperoleh dari suatu daerah mempunyai LD₅₀ yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat keganasan *A. hydrophila* yang berasal dari berbagai daerah berbeda-beda. Variasi LD₅₀ adalah dari $5,78 \times 10^4$ sel/ml yang merupakan LD₅₀ terendah, dan $3,35 \times 10^7$ sel/ml yang merupakan LD₅₀ tertinggi. Dilihat dari variasi LD₅₀ tersebut menunjukkan bahwa variasi keganasan bakteri ini cukup besar. Tingkat keganasan yang tertinggi (10^4 sel/ml) adalah 1000 kali tingkat keganasan terendah (10^7 sel/ml). Untuk jelasnya dapat dilihat pada tabel 4.

Tingkat keganasan isolat DIY dan Jawa Tengah ini ternyata ada yang sama, ada yang lebih rendah dan ada yang lebih tinggi diban-

ding isolat Cimanggis dan Cisaat (Jawa Barat) yang diuji oleh Triyanto (1990). Hasil penentuan LD₅₀ oleh Triyanto (1990) adalah $5,47 \times 10^5$ sel/ml untuk isolat Cimanggis dan $3,98 \times 10^5$ sel/ml untuk isolat Cisaat. Hal semacam ini tampaknya tidak hanya terjadi pada *A. hydrophila*. Kamiso (1986) juga menemukan hal serupa pada *Vibrio anguillarum* dan *V. ordalii*.

Tabel 4. LD₅₀ dan rata-rata hari kematian (MTD) ikan setelah infeksi rendaman oleh 5 isolat *Aeromonas hydrophila*

Isolat	LD ₅₀ (sel/ml)	MTD (hari)
1. Magelang	$4,99 \times 10^5$	8,9
2. Kebumen	$5,78 \times 10^4$	8,9
3. Purworejo	$4,20 \times 10^5$	7,5
4. Bantul	$3,35 \times 10^7$	9,1
5. Bogor	$8,51 \times 10^6$	9,7

1) Ukuran benih lele 5–7 cm (1,5 gram/ekor)

2) Infeksi secara rendaman 30 menit.

Tingkat keganasan yang bervariasi cukup besar ternyata tidak selalu diikuti oleh variasi rata-rata waktu kematian ikan yang diinfeksi (*Mean Time to Death* atau MTD) rata-rata waktu kematian bervariasi dari 7,5 hari sampai 9,7 hari, bahkan rata-rata waktu kematian ikan oleh isolat yang tingkat keganasannya tertinggi (PA 05) hampir sama dengan rata-rata waktu kematian yang tingkat keganasannya terendah (PA 07) yaitu 9,0 hari dan 9,1 hari (Tabel 4).

4. Pengujian Eksotoksin

Uji eksotoksin dilakukan dengan penyuntikan secara intraperitoneal dari supernatan kultur TSB yang diambil dengan sentrifugasi. Kematian ikan terjadi pada dosis 0,1 ml/ekor sebanyak 10% dari ikan uji dan pada dosis 0,15 ml/ekor sebanyak 20%. Tanda-tanda kematian sama seperti infeksi oleh sel bakteri secara keseluruhan, yaitu perut kembung berisi cairan berwarna kuning, bercak-bercak merah pada kulit dan lama-lama kulit mengelupas, dan sirip rusak. Perbedaan antara dosis hanya terlihat pada tingkah laku ikan yang sakit. Ikan yang sakit pada suntikan 0,10 ml/ekor tingkah lakunya masih normal. Tetapi pada dosis 0,15 ml/ekor tingkah laku ikan yang sakit sudah berubah. Yang sering terlihat adalah tubuh tegak dengan kepala di atas (menggantung di permukaan air) dan bergerak tidak menentu (*whirling* atau linglung). Pada ikan yang disuntik dengan dosis eksotoksin 0,05 ml tidak terjadi kematian, secara eksternal ikan tampak normal seperti pada kontrol yaitu ikan yang disuntik PBS.

Sifat eksotoksin isolat Magelang kemungkinan sama dengan sifat eksotoksin pada *A. hydrophila* yang digunakan Kanai dan Takagi (1986). Kanai dan Takagi (1986) juga melakukan penyuntikan eksotoksin terhadap ikan kaper dan menunjukkan gejala yang sama seperti hasil penelitian ini. Hasil yang serupa juga diperoleh oleh Kawahara (1990), meskipun menggunakan eksotoksin dari *Edwardsiella tarda* yang disuntikan pada sidat (*Anguilla japonica*).

IV. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat ditarik beberapa kesimpulan dan manfaat antara lain:

1. Sebagian besar isolat yang diperoleh dari ikan yang sakit adalah *A. hydrophila*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini tidak saja merupakan penyebab penyakit sekunder tetapi juga penyebab primer. Untuk itu perlu mendapat perhatian serius dalam penanggulangan penyakit bakterial pada ikan terutama di air tawar.
2. Beberapa isolat *A. hydrophila* ternyata sangat ganas, LD₅₀-nya sekitar 10⁴–10⁵ sel/ml dan mampu membunuh ikan dalam waktu yang relatif singkat, rata-rata 7,5 – 9,7 hari. Sedang gejala penyakit dapat timbul hanya sekitar 5 hari setelah infeksi. Hal ini menunjukkan bahwa waktu yang tersedia untuk penanggulangan ikan yang telah terinfeksi sangat singkat. Kegiatan pencegahan adalah lebih bijaksana.
3. Eksotoksin *A. hydrophila* ternyata dapat menyebabkan timbulnya penyakit dan kematian ikan. Gejala penyakit yang ditimbulkan oleh eksotoksin sama dengan gejala penyakit oleh infeksi sel bakteri secara utuh seperti infeksi alami.
4. Sifat biokimia dan serologi *A. hydrophila* sangat bervariasi. Tetapi hasil penelitian menunjukkan bahwa ada isolat yang mempunyai antigen umum (*common antigen*) seperti isolat Magelang (PA 01). Hal ini memberi harapan bahwa disamping polivalen vaksin, monovalen vaksin dari isolat yang mempunyai antigen umum ada kemungkinan dapat digunakan untuk menanggulangi penyakit MAS secara umum di daerah serangan yang luas, sehingga pembuatan vaksin lebih efisien.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan terutama kepada ARM Project, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Dep. Pertanian RI, Jakarta yang telah membiayai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Austin, B. dan D.A. Austin, 1987. Bacterial fish pathogens. Ellis Horwood Ltd, New York. 364 p.
- Bullock, G.L., 1971 Identification of fish pathogenic bacteria. Buku 2B, Dalam: Diseases of fishes, Snieszko, S.F. dan H.R. Axelrod (eds). T.F.H. Publications, Inc., Neptune, England.
- Hsu, T.C., E.B. Shotts dan W.D. Waltman, 1985. Action of *Aeromonas hydrophila* complex on carbohydrate-sub strates. Fish Pathology, 20 (1) : 23 – 35.
- Kamiso, H.N., 1986. Differences in Pathogenicity and Pathology of *Vibrio anguillarum* and *V. ordalii* in chum Salmon (*O. keta*) and English Sole (*P. vetulus*) under Laboratory Conditions. PhD Thesis, OSU, Corvallis, 116 p.
- Kamiso, H.N., 1988. Penyebab penyakit ikan lele (*Clarias batrachus* L.) di Daerah Istimewa Yogyakarta, Jur. Perik., Fak. Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Kanai, K. dan Y. Takagi, 1986. Alpha-hemolytic toxin of *Aeromonas hydrophila* produced in vivo. Fish Pathology 21 (4) : 245 – 250.
- Kawahara, E.; F. Salati; S. Nomura, dan R. Kusuda. 1990. Location of *Edwardsiella tarda* Antigens in Tissues of Eel (*Anguilla japonica*) after Intramuscular Injection. Fish Pathology, 25(4): 213 – 216.
- Miles, E.M. dan A.A. Miles, 1951. The identity of *Proteus hydrophilus* Bergey et. al. and *Proteus melanogenes*. Miles and Halnan, and their relation to the genus *Aeromonas* Kluver and Van Niel. J. Gen. Microbiology., 5 : 298 – 306.
- Newman, S., 1983. *Aeromonas hydrophila*: A review with emphasis on its role in fish disease. In : Antigen of Fish Pathogen, ed. D.P. Anderson, M. Dorson dan Ph. Dubuorget, Collection Fondation Marcel Merieux, pp. 87 – 117.
- Plumb, J.A., 1984. Immunization of warm water fish against five important pathogens. Symposium on fish Vaccination, O.I.E., Paris.
- Supriyadi, H. dan A. Rukyani, 1990. Imunopropilaksis dengan cara vaksinasi pada usaha budidaya ikan. Seminar Nasional ke-II Penyakit Ikan dan Udang, Bogor, 16 – 18 Januari 1990.
- Taufik, P. dan W.S. Yong, 1990. The pathogenic of bacteria of paddyfield catfish (*Clarias batrachus* L.) and (*C. macrocheilus* Gunther) from Kedah and Perak, west Malaysia. Asian Fisheries Science, 3(3) : 361 – 368.

- Thune, R.L., 1980. Immunization of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) against *Aeromonas hydrophila* via hyperosmotic infiltration. M.S. Thesis. Auburn University, 55 pp.
- Triyanto, 1990. Patologi dan patogenesis beberapa isolat bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap ikan lele (*Clarias batrachus* L.). Seminar Nasional ke-II Penyakit Ikan dan Udang, Bogor 16 – 18 Januari 1990.
- Wakabayashi, H.; K. Kanai; T.C. Hsu dan S. Eguso, 1981. Pathogenic activity of *Aeromonas hydrophila* biovar *hydrophila* (Chester) Popoff and Veron, 1976 in Fish. Fish Pathology, 15(3/4) : 319 – 325.