

# PATOGENITAS *Edwardsiella tarda* PADA IKAN SIDAT (*Anguilla marmorata*) SELAMA PENYIMPANAN BEKU -25°C

Arsal<sup>1</sup>, Asriani Hasanuddin dan Ahmad Rizal<sup>2</sup>

arsal35@ymail.com

<sup>1</sup>(Mahasiswa Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Tadulako)

<sup>2</sup>(Dosen Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Tadulako)

## Abstract

The purpose of this study is to determine the pathogenicity (ability to cause death) of the *Edwardsiella tarda* in fish eel (*Anguilla marmorata*) which have frozen and stored at a temperature of -25°C for 15, 25 and 35 days. Pathogenicity was tested with method by isolating *E. tarda* from the meat of frozen Eel that what stored for 15, 25 and 35 days ago carried infected to eels the size of 120-122 grams with injecting isolate bacteria *Edwardsiella tarda* is intraperitoneally as much as 0,1 ml/ind at a dose of 10<sup>8</sup> CFU/ml (standard 1 Mac Farland), then maintained and observed for 15 days. Pathogenicity test results based on mortality / death of the fish indicates that the bacteria *Edwardsiella tarda* taken from frozen eel fish stored for 15, 25 and 35 days at temperatures -25°C were still survive and still are pathogenic to fish eel with a tendency the longer the storage time, it will decrease the mortality rate / patogennitasnya. Results of analysis of variance showed mortality observed eel (*Anguilla marmorata*) with a storage time of 15 days and 25 days resulted in a significantly different effect than the storage time of 35 days with a storage temperature -25°C.

**Keywords:** Pathogenicity, *Edwardsiella tarda*, Eel, Temperature -25°C

Ikan sidat (*Anguilla marmorata*) salah satu komoditi perikanan unggulan di daerah Sulawesi Tengah yang mulai dikembangkan dan merupakan jenis sidat kosmopolitan dengan daerah sebaran diseluruh perairan tropis.

Pengembangan usaha budidaya ikan sidat memiliki peluang dan prospek yang cukup baik karena memiliki sumber benih, lahan budidaya yang luas dan iklim yang mendukung. Sehubungan dengan hal tersebut menunjukkan potensi pengembangan ikan sidat (*A.marmorata*) di Sulawesi Tengah masih sangat menjanjikan, namun masalah memburuknya kualitas lingkungan, cara penanganan dan serangan penyakit ikan harus diwaspadai karena seringkali menjadi penyebab utama menurunnya produksi perikanan baik dari segi kualitas maupun kuantitas.

Meningkatnya arus lalu lintas komoditas perikanan melalui kegiatan ekspor, impor serta perdagangan antar wilayah (domestik), mengandung resiko

terbawanya penyakit ikan dari luar negeri dan dari suatu area ke area lain di dalam negeri atau keluarnya dari dalam wilayah Negara Republik Indonesia. Salah satu penyakit pada ikan yang sangat perlu diwaspadai untuk komoditas ikan sidat adalah bakteri *Edwardsiella tarda*

Bakteri *E. tarda* telah dikenal sebagai patogen utama penyebab *septicemia* (infeksi bakteri dalam darah) pada budidaya *Channel catfish* (*Ictalurus spp.*) di Amerika Serikat bagian Selatan. Bakteri ini juga menyerang beberapa areal budidaya ikan sidat (*Anguilla sp.*) di Jepang serta beberapa jenis ikan yang biasa hidup di perairan agak hangat. Mortalitas tinggi hingga mencapai 80%, dapat terjadi pada ikan sidat di alam yang terinfeksi *Edwardsiellosis* (Kodama *et al.*, 1987). Pada kolam budidaya air tawar *A. japonica*, *E. tarda* pada umumnya diketahui dapat menyebabkan kerugian yang sangat besar (Tesch, 2003).

Brady dan Vinitnantharant (1990), berhasil mengisolasi dan mengkultur bakteri

patogen dari ikan *Channel catfish (Ictalurus punctatus)* pada ikan yang dibekukan yang disimpan lebih dari 20 hari pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  dan penelitian yang dilakukan oleh Stasiun Karantina Ikan Tanjung Perak Surabaya (2008), bakteri *Aeromonas salmonicida* menginfeksi ikan nila yang disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  dan  $-40^{\circ}\text{C}$  selama 32 hari masih hidup dan masih bersifat patogen.

Belum diketahui dengan pasti apakah *E. tarda* pada ikan sidat dengan penyimpanan beku suhu  $-25^{\circ}\text{C}$  masih dapat bertahan hidup dan memiliki kemampuan untuk menginfeksi kembali ikan sidat hidup.

Berdasarkan permasalahan di atas, maka perlunya penelitian patogenitas *E. tarda* pada ikan sidat (*A. marmorata*) selama penyimpanan beku  $-25^{\circ}\text{C}$ .

## METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium bakteri dan instalasi Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan K kelas I Palu

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan melalui dua tahapan penelitian yaitu uji pendahuluan terdiri dari: pemeriksaan ikan uji (sidat jenis *A. marmorata*) dan identifikasi bakteri *E. tarda*. Kemudian dilanjutkan dengan uji utama yang terdiri dari: penginfeksian bakteri *E. tarda* ke ikan uji, penyimpanan ikan uji pada suhu  $-25^{\circ}\text{C}$ , uji viabilitas dan uji patogenitas.

Perlakuan dalam penelitian ini lama masa penyimpanan pada suhu  $-25^{\circ}\text{C}$ , yaitu:

P15: Lama penyimpanan selama 15 hari

P25: Lama Penyimpanan selama 25 hari

P35: Lama Penyimpanan selama 35 hari

Setiap ikan yang diuji masing-masing perlakuan diamati patogenitas sesuai dengan mortalitas/kematian ikan. Data kematian ikan (uji patogenitas) yang didapatkan dimasukkan kedalam penghitungan mortalitas lalu dianalisis dengan menggunakan analisis ragam ANOVA dan apabila terdapat perbedaan yang nyata, akan

dilakukan uji lanjut jarak DUNCAN (Steel dan Torrie, 1995). Parameter yang diukur secara kuantitatif adalah mortalitas yang menunjukkan patogenitas bakteri sedangkan parameter kualitatif sebagai data pendukung adalah karakteristik bakteri, uji reaksi biokimia dan gram staining (morfologi) bakteri dan uji kualitas air.

Data yang diperoleh dari pengamatan setiap perlakuan dilakukan analisis sesuai perhitungan mortalitas sebagai berikut :

$$\text{Mortalitas \%} = \frac{\text{Jumlah ikan yang mati (ekor)}}{\text{Jumlah populasi (ekor)}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Pendahuluan

#### *Pemeriksaan ikan sidat (A. marmorata)*

Ikan sidat yang digunakan adalah ikan sidat jenis *A. marmorata* yang diambil dari penampungan ikan sidat di Kota Palu sebanyak 50 ekor dengan panjang dan berat rata-rata 41,29 cm dan 121,61 gram. Hasil dari uji biokimia berdasarkan morfologi dan karakteristik bakteri menunjukkan bebas/tidak terinfeksi bakteri *E. tarda* dan dapat dipergunakan untuk penelitian.

#### *Identifikasi bakteri E. tarda*

Isolat bakteri yang digunakan adalah bakteri *E. tarda* ATCC 15947 dalam bentuk *culti-loops*. Sebelum digunakan isolat terlebih dahulu dilakukan pengujian untuk memastikan bakteri sesuai dengan karakteristik morfologi dan biokimia *E. tarda*. Hasil ujiisolat menunjukkan bakteri berbentuk batang pendek dan berwarna merah / gram negatif menunjukkan bentuk koloni circular dengan diameter 0,5-1 mm, tepi entire, elevasi cembung, transparan dan warna agak krem. Pada media MacConkey koloni bakteri tumbuh sangat baik dan dominan dengan bentuk circular/bulat, entire, transparan dan tidak berwarna. Berdasarkan hasil pengujian secara morfologi

koloni, pewarnaan gram dan uji karakteristik biokimia menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan dalam pengujian adalah *E. tarda*.

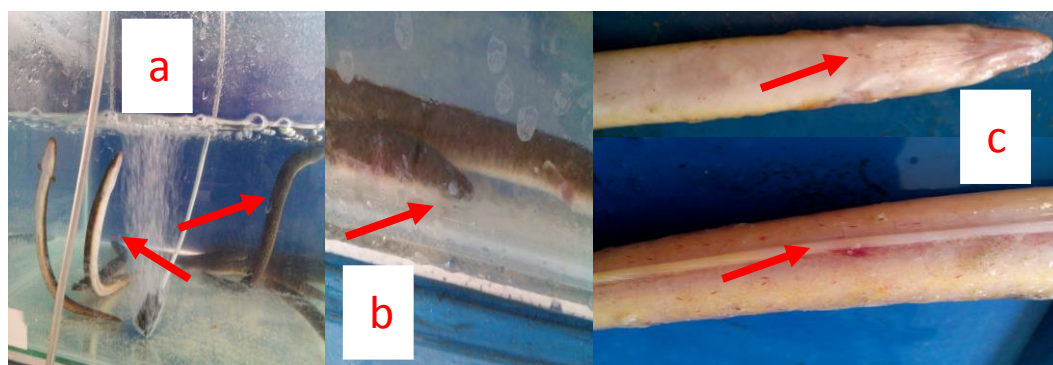
## Uji Utama

### *Menginfeksi E. tarda pada ikan sidat*

Penginfeksian bakteri *E. Tarda* pada ikan sidat (*A. marmorata*) secara intra peritoneal sebanyak 0,1 ml dengan dosis  $10^8$  CFU/ml (standard McFarland).

Ikan sidat (*A. marmorata*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda* dipelihara dalam akuarium selama 7 (tujuh) hari. ikan sidat

yang dibekukan menunjukkan gejala klinis rata-rata ikan sidat yang dipelihara berdasarkan pengamatan pada hari ketigasetelah injeksi yaitu: ikan tampak diam menggantung pada bagian atas akuarium, berenang tidak beraturan, dan padahari keempat menunjukkan warna tubuh pucat, mata menjadi buram dan terdapat lesi pada tubuh dan sirip bagian bawah. Timbulnya gejala klinis diakibatkan karena tingkat patogenitas atau virulensi yang diakibatkan oleh *E. tarda* yang diinfeksi ke ikan sidat. Gejala klinis ikan sidat (*A. marmorata*) dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Gejala klinis : (a) ikan tampak menggantung, (b) mata buram, (c) lesi pada tubuh.**

Gejala klinis yang menunjukkan pada ikan sidat hampir sama yang diungkapkan oleh Bullock dan Herman (1985) dalam Meyer dan Bullock (1973), menyatakan bahwa ikan yang terinfeksi dengan *E.tarda* terkadang menjadi lesu, menggantung di permukaan, berenang tidak menentu dan terdapat lesieksternal yang bervariasi pada beberapa spesies. Sedangkan pada penelitian Narwiyani dan Kurniasih (2011), menyatakan gejala klinis ikan mas koki dan ikan *Celebes rainbow* yang diinfeksi dengan isolat *E. tarda* yang berbeda menunjukkan gejala klinis yang mirip pada hari keenam, yaitu menurunnya nafsu makan, reaksi terhadap rangsangan yang berkurang, cara berenang yang lamban, dan adanya lesi kemerahan pada ekor dan sirip. Timbulnya lesi pada tubuh ikan sidat (*A. marmorata*) seperti dikemukakan oleh English *et al.*, (1993), yang menyatakan bahwa bakteri

*E.tarda* tidak menghasilkan endotoksin seperti bakteri gram negatif lainnya melainkan menghasilkan dua eksotoksin yang menyebabkan terjadinya lesi pada ikan yang terinfeksi.

### *Penyimpanan ikan yang diinfeksi E. tarda*

Ikan sidat (*A. marmorata*) yang menunjukkan gejala klinis disolasi dan dilakukan uji karakteristik biokimia untuk memastikan bahwa ikan tersebut terinfeksi *E. tarda*. Berdasarkan hasil uji biokimia terhadap sampel organ daging pada luka ikan sidat menunjukkan bahwa ikan terinfeksi *E. tarda* sesuai dengan morfologi dan karakteristik bakteri *E. tarda*

### Uji viabilitas

Ikan uji yang disimpan dalam freezer suhu  $-25^{\circ}\text{C}$  dilakukan uji viabilitas untuk melihat kemampuan bakteri untuk hidup

selama penyimpanan 15, 25 dan 35 hari. Organ target yang diamati untuk uji viabilitas adalah organ daging. Hasil uji viabilitas berdasarkan uji karakteristik biokimia pada ikan sidat yang dibekukan suhu  $-25^{\circ}\text{C}$  selama penyimpanan 15, 25 dan 35 hari menunjukkan hasil positif terinfeksi *E. tarda* atau masih dapat bertahan hidup pada ikan sidat yang dibekukan. Menurut Hine dan MacDiarmid (1997), beberapa bakteri patogen: *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Edwardsiella ictalury* dan *E. tarda* masih dapat bertahan hidup selama pembekuan antara  $-10^{\circ}\text{C}$  hingga  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 20 sampai 60 hari. Hal ini juga ditunjukkan Brady dan Vinitnantharat (1990), *E. tarda* masih dapat bertahan hidup sampai 50 hari di dalam ikan utuh yang dibekukan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Ujipatogenitas

Ikan sidat (*A. marmorata*) yang digunakan pada uji patogenitas didapatkan dari penampungan ikan sidat di Kota Palu

sebanyak 150 ekor dengan panjang rata-rata 40-41 cm dan berat rata-rata 120-122 gram.

Hasil pengamatan menunjukkan ikan sidat (*A. marmorata*) sangat rentan terhadap penyakit *Edwardseillois* yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda* yang ditunjukkan dengan gejala klinis yang ditimbulkan dan kematian pada ikan sidat. Menurut Ewing *et al*, (1965), serangan *E. tarda* bersifat sistemik dalam berbagai kelompok umur dan populasi ikan. Terutama pada ikan lele dan sidat (Frerichs dan Millar, 1993).

Berdasarkan gejala klinis pada ikan sidat (*A. marmorata*) yang diinfeksi *E. tarda* dari ikan yang sidat beku menunjukkan gejala klinis yang hampir mirip pada gejala klinis yang ditemukan pada saat penginfeksi awal sebelum ikan uji dibekukan. Hal ini sesuai dengan Mangunwardoyo *et al*, (2010), bahwa ikan uji harus menunjukkan gejala klinis yang sama dengan ikan yang sakit. Gejala klinis uji patogenitas untuk ikan perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.



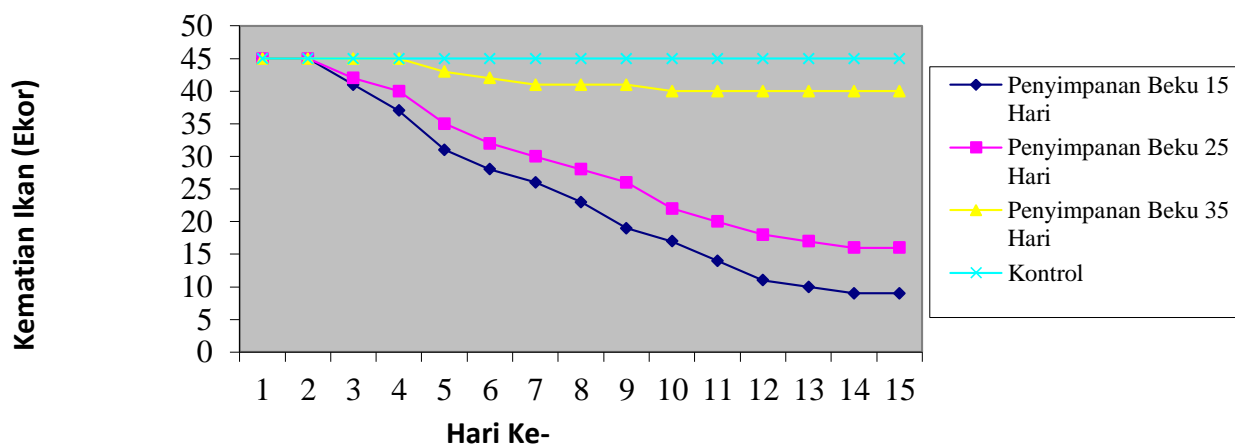
**Gambar 2.** Gejala klinis uji patogenitas: (a) ikan tampak menggantung, (b) pendarahan pada sirip, (c) mata buram, (d) luka pada bagian tubuh, (e) pendarahan pada anus.

Mortalitas pada ikan sidat (*A. marmorata*) mulai terjadi di hari ketiga setelah diinfeksi *E. tarda* pada perlakuan 1 (15 hari) dan perlakuan 2 (25 hari) sedangkan pada perlakuan ketiga (35 hari) terjadi kematian pada hari kelima. Mortalitas/kematian ikan terjadi secara signifikan dari hari ketiga sampai hari keduabelas pada perlakuan kesatu dan kedua dan setelah hari keduabelas mengalami penurunan kematian hingga hari keempat belas. Sedangkan pada perlakuan ketiga menunjukkan kematian ikan mulai dari hari kelima hingga kesembilan dan pada ikan kontrol yang tidak diinfeksi bakteri *E. tarda* tidak menunjukkan adanya mortalitas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu pembekuan ikan, maka tingkat patogenitas ikan semakin menurun. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Balai Karantina Ikan Syamsuddin Noor Banjarmasin juga menyatakan bahwa semakin lama penyimpanan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  total *E. tarda* pada organ ikan patin semakin menurun. Hasil penelitian Stasiun Karantina

Ikan Kelas II Sorong (2008), menunjukkan hasil reinfeksi bakteri *E. tarda* yang telah disimpan pada suhu beku ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) selama 30 hari menunjukkan bahwa bakteri tersebut masih mampu menginfeksi ikan mas.

Adanya perbedaan patogenitas berdasarkan kematian ikan/mortalitas tiap perlakuan sesuai lama penyimpanan beku mempengaruhi tingkat virulensi *E. tarda* dan menurut Moat *et al*, (2002) dalam Mangunwardoyo *et al*, (2010), mengatakan bahwa suhu rendah di dalam lemari pendingin dapat menyebabkan efektifitas enzim pada bakteri menurun bahkan hilang, sehingga mempengaruhi metabolisme dan patogenisitas bakteri tersebut. Kondisi suhu diluar batas optimum menyebabkan terjadinya lubang pada membran sel diikuti dengan dikeluarkannya senyawa yang bersifat toksin, seperti superoksida yang toksik bagi bakteri itu sendiri. Grafik jumlah kematian ikan selama pengamatan harian mortalitas/ kematian ikan dapat dilihat pada gambar 3.

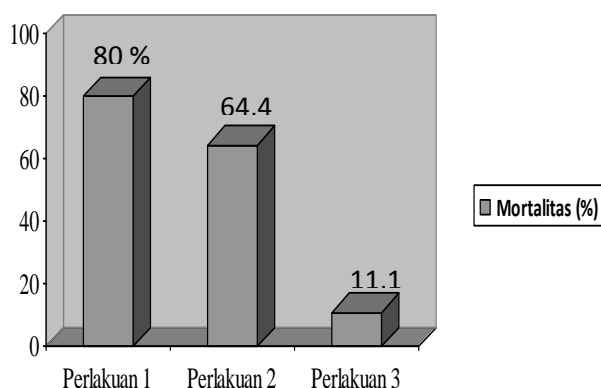


Gambar 3. Grafik jumlah kematian ikan selama pengamatan

Hasil uji patogenitas berdasarkan mortalitas/kematian ikan menunjukkan bahwa *E. tarda* yang diambil dari ikan sidat beku yang disimpan selama 15, 25 dan 35 hari pada suhu  $-25^{\circ}\text{C}$  masih bersifat patogen terhadap ikan sidat ukuran 120-122 gram dengan tingkat serangan atau jumlah

kematian yang berbeda-beda sesuai lama penyimpanan dengan kecenderungan semakin lama penyimpanan, maka akan semakin menurun tingkat mortalitasnya. Hal ini ditunjukkan dengan persentase mortalitas tiap-tiap perlakuan mengalami perbedaan yaitu pada perlakuan 1 (15 hari) dengan

persentase mortalitas 80%, perlakuan 2 (25 hari) sebesar 64,4% dan perlakuan 3 (35 hari) 11,1% dari keseluruhan ikan yang diuji. Pada ikan kontrol yang dipelihara sebanyak 45 ekor ikan sidat (masing-masing 15 ekor setiap kontrol) yang ukurannya sama dengan ikan perlakuan tidak menunjukkan adanya kematian/ mortalitas. Hasil pengamatan mortalitas (%) lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4. Grafik mortalitas (%) ikan sidat selama pengamatan**

Menurut Kodama *et al.*, (1987) infeksi *E. tarda* pada ikan sidat, penyakit *edwardsilliosis* dapat menyebabkan mortalitas sampai 80%. Hasil penelitian Balai Karantina Ikan Syamsuddin Noor Banjarmasin (2008), uji infeksi terhadap ikan patin dengan menggunakan bakteri *E. tarda* hasil isolasi dari ikan patin beku yang disimpan selama 32 hari menunjukkan masih bersifat patogen dengan mortalitas 100% dibanding kontrol nol persen. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Supriyadi (2012), menunjukkan bahwa bakteri *E. tarda* yang disimpan dalam suhu -20°C masih bertahan hidup dan masih bersifat patogen terhadap ikan lele dumbo hidup dengan masa penyimpanan 10 hari menimbulkan mortalitas sebesar 95%, masapenyimpanan 20 hari sebesar 80,83% dan masapenyimpanan 30 hari sebesar 61,67% dari total ikan uji tiap perlakuan.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan tingkat mortalitas yang berbeda antar tiap perlakuan sesuai dengan lama waktu penyimpanan. Hasil analisis mortalitas ikan sidat (*A. marmorata*) dengan lama penyimpanan 15 hari (P15) dan 25 hari (P25) menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dibandingkan dengan lama penyimpanan 35 hari (P35). Sedangkan ikan kontrol tidak menunjukkan adanya mortalitas selama 15 hari pengamatan.

#### Pengamatan kualitas air

Kualitas air pada budidaya dapat mempengaruhi pertumbuhan ikan dan bahkan seringkali menimbulkan kematian pada ikan yang dibudidayakan. Persyaratan kualitas air yang baik untuk budidaya ikan meliputi: suhu, oksigen terlarut, karbondioksida bebas dan derajat keasaman (pH) harus dalam kisaran optimum untuk pertumbuhan ikan. Data pengamatan kualitas air harian dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Data pengamatan kualitas air**

Parameter Kualitas Air	Hasil Pengamatan	Kisaran Normal *
Suhu (°C)	26 – 29	20 - 29 °C
DO (mg/L)	6,5 – 9,8	> 4 mg/L
pH	7	7 – 8

\* Suryono dan Badjoeri, (2013)

Berdasarkan pengamatan kualitas air harian pada media pemeliharaan ikan sidat (*A. marmorata*) yang telah diinfeksi bakteri *E. tarda* selama penelitian pada akuarium menunjukkan sesuai dengan kondisi kisaran normal pada semua parameter kualitas air untuk pertumbuhan ikan dan kelangsungan hidup ikan. Terjadinya mortalitas kemungkinan diakibatkan oleh tingkat patogenitas agen penyakit yang diinfeksi ke ikan uji, sehingga meskipun kisaran air dalam batas normal namun masih mematikan bagi ikan yang diuji. Menurut Sugianti (2005), timbulnya serangan wabah penyakit tersebut pada dasarnya sebagai akibat

terjadinya gangguan keseimbangan dan interaksi antara ikan, lingkungan yang tidak menguntungkan ikan dan berkembangnya patogen penyebab penyakit. Kemungkinan lainnya adalah adanya atau masuknya agen penyakit ikan obligat yang ganas (virulen) meskipun kondisi lingkungannya relatif baik.

## KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

### Kesimpulan

Bakteri *E. tarda* pada ikan sidat yang dibekukan pada suhu penyimpanan  $-25^{\circ}\text{C}$  dengan lama penyimpanan 15, 25 dan 35 hari, masih bersifat patogen terhadap ikan sidat (*A. marmorata*) dengan berat rata-rata 120-122 gram dengan jumlah kematian/mortalitas yang menunjukkan semakin lama masa penyimpanan, maka jumlah dan persentase mortalitas semakin menurun.

### Rekomendasi

1. Perlunya pengambilan kebijakan dalam hal lalulintas ikan beku, khususnya ikan sidat untuk dilakukan pengujian terlebih dahulu sebelum pengiriman ikan antar area atau keluar negeri untuk mencegah penyebaran penyakit *E. tarda*;
2. Hasil penelitian menunjukkan patogenitas *E. tarda* pada ikan sidat yang dibekukan  $-25^{\circ}\text{C}$ , sehingga perlunya dilakukan penelitian yang lebih lanjut dan lebih mendalam terhadap suhu penyimpanan dan lama waktu penyimpanan;
3. Perlunya menggunakan media selektif, khususnya pada pengujian bakteri *E. tarda* untuk mengurangi terjadinya kontaminasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih dan rasa hormat yang setinggi - tingginya kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Asriani Hasanuddin, M.S dan Bapak Ir. Achmad Rizal, M.App.Sc., Ph.D yang selalu memberi bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan artikel ini.

## DAFTAR RUJUKAN

- Balai Karantina Ikan Syamsoddin Noor Banjarmasin. 2008. *Daya Tahan Edwardsiella tarda pada Komoditi Ikan Patin (Pangasius hypophthalmus) Konsumsi Dengan Proses Pembekuan*. Laporan Uji Coba. Pusat Karantina Ikan. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Brady, Y. J. and Vinitnantharant, S. 1990. *Viability of Bacterial Pathogens in Frozen Fish*. Journal of Aquatics Animal Health. 149-150.
- Bullock, G.L., Herman, R. L. 1985. *Edwardsiella Infections of Fishes*. US Fish & Wildlife Publications Paper 132.
- Ewing, W.H., McWhorter, A.C., Escobar, M.R., Lubin, A.H., 1965. *Edwardsiella, a New Genus of Enterobacteriaceae Based on a New Species, E. tarda*. International Bulletin Bacteriological Nomenclature and Taxonomy 15. pp 33-38.
- Frerichs, G.N, and Millar, S.D. 1993. *Characteristic of Gram Negative Pathogens. Manual for the Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens*. Pisces Press Stirling. pp 28-29.
- Hine, P.M., Macdiarmid, S.C. 1997. *Contaminant of Fish Products: Risks and Prevention*. Rev. sci. tech. off. int. Epiz., 16 (1). pp 135-145.
- Inglis, V., Ronald J. R. and Niall R. B. 1993. *Bacterial Disease of Fish*. Oxford Blackwell Scientific Publications.
- Kodama, H., Murai, T., Nakanishi, Y., Yamamoto, F., Mikami, T., Izawa, H., 1987. *Bacterial Infection Which Produces High Mortality in Clutured Japanese Flounder (Paralichthys olivaceus) in Hokkaido*. Japanese Journal of Veterinary Research 35, pp 227-234.

- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari, dan E. Riani. 2010. Uji Patogenitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *Jurnal Riset Akuakultur* Volume 5 Nomor 2 Tahun 2010. 245-255 Hal..
- Meyer, F. P. and Bullock, G. L. 1973. *E. tarda, a New Pathogens of Channel Catfish Ictalurus punctatus*. *Applied Microbiology* V (25) 1. pp 155-156.
- Moat, A.G, Foster, J. W., and Spector, M.P. 2002. *Microbial Physiology*. 4 th Ed. Willey dan Liss, Inc. USA. pp 14-15
- Narwiyani, S. dan Kurniasih. 2011. Perbandingan Patogenitas *E. tarda* pada Ikan Mas Koki (*Charrasius auratus*) dan Ikan Celebes Rainbow (*Telmatherina celebensis*). *Jurnal Riset Akuakultur* Volume 6 No. 2 Tahun 2011. Halaman 291-301.
- Stasiun Karantina Ikan Kelas II Jeffman Sorong. 2008. *Daya Tahan Bakteri Edwarsiella tarda pada Ikan Mas (Cyprinus carpio) Yang di Lalulintaskan Pada Stasiun Karantina Ikan Kelas II Jefman Sorong*. Laporan Uji Coba. Pusat Karantina Ikan. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Steel, R. G .D and J. H Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Suatu Pendekatan Biometrika*. Gramedia, Jakarta.
- Sugianti, B. 2005. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional Dalam Pengendalian Penyakit Ikan*. Makalah Pribadi Falsafah Sains. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. 37 Halaman.
- Supriyadi. I. 2012. *Viabilitas dan Patogenitas Edwarsiella tarda Pada Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus) Yang Dibekukan Pada Suhu -20 °C*. Laporan Penelitian. Universitas Terbuka. Jakarta.
- Suryono, T dan Badjoeri, M. 2013. *Kualitas Air Pada Uji Pembesaran Larva Ikan Sidat (Anguilla sp.) Dengan Sistem Pemeliharaan Yang Berbeda*. Pusat Penelitian Limnologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor. 9 halaman.
- Tesch F.W. 2003. *The Eel*, 3rd ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing Company.