



**SENSITIVITAS BAKTERI *Aeromonas* sp. DAN *Pseudomonas* sp. YANG DIISOLASI PADA IKAN MAS
(*Cyprinus carpio*) SAKIT TERHADAP BERBAGAI MACAM OBAT BEREDAR**

*Bacteria Susceptibility of Aeromonas sp. and Pseudomonas sp. Isolated from Common Carp (*Cyprinus carpio*) to Various Marketed Drugs*

Siti Nurjanah, Slamet Budi Prayitno*, Sarjito

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax.+6224 7474698

ABSTRAK

Permintaan akan ikan budidaya terutama ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang semakin tinggi, masyarakat menerapkan sistem budidaya intensif bahkan super intensif. Kondisi ini tentunya akan menimbulkan kendala, salah satunya meningkatnya peluang terserangnya penyakit pada beberapa ikan. Upaya pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan, sampai saat ini masih menggunakan bahan kimia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas isolat bakteri terhadap obat beredar serta bakteri yang menginfeksi ikan mas (*C. carpio*). Isolasi bakteri dilakukan pada 20 ekor ikan mas yang berasal dari Kedung Ombo dan Magelang dengan organ target hati, ginjal, dan luka pada media GSP. Uji sensitivitas dilakukan dengan mengkultur bakteri dengan kepadatan 10^8 CFU/mL ditebarkan di media TSA dengan jumlah 100 μL pada petridish dan diratakan menggunakan *L glass* kemudian didiamkan agar bakteri uji meresap ke dalam media. *Paper disk* steril diletakkan di atas media TSA yang sebelumnya telah direndam di dalam obat uji. Dosis obat yang digunakan sesuai yang dianjurkan dalam kemasan. Hasil isolasi diperoleh 29 isolat, kemudian dilakukan uji sensitivitas terhadap obat uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat bakteri terhadap obat beredar A, B, C, dan D bersifat *resistance*, kecuali SN3, SN5, SN6, SN8, SN9, SN11, SN14, SN16, dan SN23 *intermediate* terhadap obat D. Karakterisasi bakteri dilakukan terhadap isolat bakteri terpilih (SN6, SN11, SN19, SN24, dan SN26) secara morfologi yang selanjutnya di uji biokimia dengan hasil *Pseudomonas putida* (SN6), *P. anguilliseptica* (SN11), *Aeromonas sobria* (SN19), *A. caviae* (SN24), dan *P. pseudoalcaligenes* (SN26).

Kata Kunci : Ikan mas; Sensitivitas; Obat beredar

ABSTRACT

*Common carp (*Cyprinus carpio*) is one of aquaculture product that have economic value. Intensive and super intensive system have improved carp production. However, this condition caused disease problems in fishes. The Efforts to control bacterial diseases in fish culture, at the moment still rely on chemical treatments. The aims of this research were to determine the susceptibility of the bacterial isolation to the different marketed drugs. Bacteria were isolated from 20 common carp sample from Kedung Ombo and Magelang and obtained from liver, kidney, and fish wound growth in the GSP media. In vitro study using diffusion susceptibility test was applied at bacterial density 10^8 CFU/mL in 100 μL TSA. The bacteria was spread by *L glass* evenly prior to the disk placement that previously being soaked in the various drugs test. The bacterial isolation gained 29 isolates. Further test demonstrated that various marketed drugs (A, B, C, and D) were resistance to isolated bacteria except isolates SN3, SN5, SN6, SN8, SN9, SN11, SN14, SN16, and SN23 were intermediates to drug D. Identification of isolates (SN6, SN11, SN19, SN24, and SN26) revealed 5 species namely *Pseudomonas putida* (SN6), *P. anguilliseptica* (SN11), *Aeromonas sobria* (SN19), *A. caviae* (SN24), and *P. pseudoalcaligenes* (SN26).*

Keyword : Common carp, susceptibility, marketed drugs

**) Corresponding author (Email : sbudiprayitno@gmail.com)*



PENDAHULUAN

Budidaya perairan di era industrialisasi semakin meningkat pesat, karena untuk memenuhi kebutuhan pangan manusia dengan nilai gizi yang tinggi. Permintaan hasil perikanan terutama ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang semakin tinggi mengakibatkan masyarakat menerapkan sistem budidaya intensif bahkan super intensif. Produksi ikan mas (*C. carpio*) di Jawa Tengah sejumlah 3.438,5 ton (Dinas Kelautan dan Perikanan Prov. Jawa Tengah, 2013).

Intensifikasi budidaya ikan mas (*C. carpio*) di Waduk Kedung Ombo ditandai dengan peningkatan padat penebaran. Kondisi ini tentunya akan menimbulkan kendala, salah satunya meningkatnya peluang terserangnya penyakit pada beberapa ikan. Penyakit pada ikan dapat disebabkan oleh parasit, jamur, bakteri, dan virus. Penyakit bakteri menjadi salah satu kendala budidaya ikan mas (*C. carpio*), karena dapat menyebabkan kematian pada ikan serta kerugian ekonomi yang tidak sedikit. Penyakit 'Ulcerative disease' atau penyakit borok/penyakit merah yang mengakibatkan kematian sekitar kurang lebih 173 ton jenis ikan mas termasuk didalamnya 30 % ikan-ikan kecil/benih mati disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. mengakibatkan kerugian sekitar Rp. 126 juta (Lukistiyowati dan Kurniasih, 2011).

Obat yang digunakan pembudidaya untuk mengobati ikan sakit yaitu obat yang beredar dipasaran. Obat tersebut mengandung berbagai macam antibiotik dengan indikasi tertentu. Obat ikan menurut Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan (2012) yaitu sediaan yang dapat digunakan untuk mengobati ikan, membebaskan gejala, atau memodifikasi proses kimia dalam tubuh kutuhan budidaya.

Pemakaian bahan kimia dalam jangka panjang dapat menimbulkan dampak negatif antara lain dikhawatirkan munculnya strain-strain bakteri resisten terhadap obat tersebut. Akumulasi bahan obat ikan di dalam tubuh kulturan budidaya akan menimbulkan resisten bakteri pada obat tersebut. Krisnaningsih *et al.* (2005) menyebabkan utama resistensi antibiotik adalah penggunaannya yang meluas dan irasional. Dosis antibiotik yang tidak sesuai, kesalahan dalam menetapkan etiologi penyakit sehingga menyebabkan penggunaan antibiotik menjadi tidak efektif. Kasus resistensi bakteri pada bahan kimia tersebut pernah dilaporkan Urriza *et al.* (2000); Gordon *et al.* (2008); dan Singh *et al.* (2009) bahwa *A. caviae*, *A. sobria*, *A. bestiarum*, dan *A. hydrophila* resisten terhadap tetracycline. Resistensi yang terjadi akan menyebabkan bakteri tahan terhadap obat yang diberikan, sehingga kematian ikan yang terserang penyakit akan meningkat. Oleh karena itu, cukup menarik dilakukan uji sensitivitas bakteri untuk menunjukkan tingkat penghambatan pertumbuhan bakteri terhadap obat ikan yang diberikan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui sensitivitas isolat bakteri terhadap obat beredar A, B, C, dan D serta bakteri yang menginfeksi ikan mas (*C. carpio*) yang berasal dari Kedung Ombo dan Magelang.

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Desember 2013 – Maret 2014. Pengambilan sampel ikan mas (*C. carpio*) dilakukan di Kedung Ombo dan Magelang. Kegiatan isolasi bakteri dan uji sensitivitas obat dilakukan di Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, serta karakterisasi bakteri dilakukan di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Tanjung Emas Semarang.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksploratif konfirmatori, yaitu penelitian formulatif yang bertujuan untuk menguji suatu teori atau hipotesis (Paul dan Jeanne, 2005). Metode pengambilan sampel menggunakan *purposive random sampling* yaitu pengambilan sampel yang dilakukan secara acak dengan melihat ciri-ciri gejala klinis ikan terserang penyakit yang sudah diketahui sebelumnya (Hadi, 2000). Ikan sampel berjumlah 20 ekor yang berasal dari Kedung Ombo dan Magelang.

Isolasi bakteri ikan mas (*C. carpio*) menggunakan media GSP (*Glutamate Starch Phenol*) sedangkan media miring menggunakan TSA (*Tryptic Soy Agar*) dengan metode *streak*. Organ target isolasi tersebut yaitu hati, ginjal, dan luka. Langkah selanjutnya dilakukan pemurnian untuk mendapatkan bakteri yang murni. Metode yang digunakan untuk uji sensitivitas adalah difusi dengan metode Huys (2002), Coyle (2005), OIE (2012), dan CLSI (2012) yaitu dilakukan dengan cara mengkultur bakteri dengan kepadatan 10^8 CFU/mL ditebarkan di media TSA dengan jumlah 100 μ l pada *petridish* dan diratakan menggunakan *L glass* kemudian didiamkan agar bakteri uji meresap ke dalam media. *Paper disk* steril diletakkan di atas media TSA yang sebelumnya telah direndam di dalam obat yang di uji. Dosis obat beredar yang diberikan untuk uji sensitivitas sesuai dengan yang dianjurkan pada kemasan masing-masing obat beredar. Dosis pada obat A yang diberikan yaitu 8 μ l untuk 1 l air, sedangkan pada obat B yaitu 0,01 g untuk 1 l air. Dosis obat C yang diberikan yaitu 0,01 g untuk 1 l air dan dosis obat D yaitu 2 μ l untuk 1 l air. Komposisi masing-masing obat uji yaitu obat A (methylen blue BPC, malachite green oxalate, doxycycline hyelate, enrofloxacin, PK, dan cupri sulfat), obat B (ciprofloxacin, norfloxacin, vit A, D3, E, B12, B2, C, B1, B6, dan niacyne, panthothenic acid, folic acid, biotin, lysine, menthone), obat C (oxytetracycline, ciprofloxacin, dan flumequine), dan obat D (enrofloxacin dan vit C, vit B kompleks).

Identifikasi bakteri dianalisa dengan membandingkan buku *Bacterial Fish Pathogens, Disease in Farmed and Wild Fish* (Austin and Austin, 2007). Sedangkan uji sensitivitas mengacu pada ketentuan *Clinical and*



Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012), dimana nilai ≤ 12 mm (Resisten), 13-16 mm (*Intermediet*), dan ≥ 17 mm (*Sensitive*)

HASIL

Gejala klinis ikan mas (*C. carpio*) sakit yang berasal dari Kedung Ombo dan Magelang yaitu hati merah (terdapat bintik putih), ginjal merah kehitaman, lendir berlebih, moncong luka, hati dan ginjal pucat, sirip geripis, luka dan bercak pada permukaan tubuh, insang luka dan pucat, *exophthalmia*, luka di kepala, dan sisik mudah lepas.

Hasil isolasi dari ikan mas (*C. carpio*) yang sakit diperoleh 29 isolat bakteri pada Tabel 1.

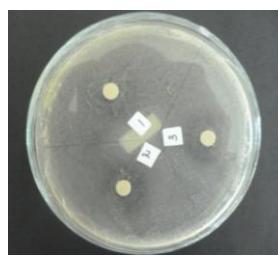
Tabel 1. Karakter Isolat Berdasarkan Warna, Bentuk, serta Karakteristik Koloni

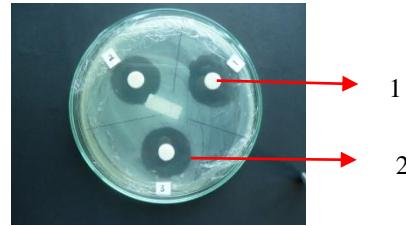
| No. | Kode Isolat | Media | Asal Isolasi | Warna Koloni | Bentuk Koloni | Karakteristik Koloni | Kota Lokasi |
|-----|-------------|-------|--------------|--------------|---------------|----------------------|-------------|
| 1. | SN1 | GSP | Ginjal | Kuning | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 2. | SN2 | GSP | Luka | Merah | Bulat | Datar | Kedung ombo |
| 3. | SN3 | GSP | Luka | Kuning | Oval | Cembung | Kedung ombo |
| 4. | SN4 | GSP | Luka | Merah | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 5. | SN5 | GSP | Luka | Kuning | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 6. | SN6 | GSP | Ginjal | Merah | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 7. | SN7 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 8. | SN8 | GSP | Luka | Kuning | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 9. | SN9 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 10. | SN10 | GSP | Luka | Merah | Bergerigi | Datar | Kedung ombo |
| 11. | SN11 | GSP | Ginjal | Merah | Bergerigi | Datar | Kedung ombo |
| 12. | SN12 | GSP | Hati | Merah | Bergerigi | Datar | Kedung ombo |
| 13. | SN13 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Kedung ombo |
| 14. | SN14 | GSP | Luka | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 15. | SN15 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 16. | SN16 | GSP | Ginjal | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 17. | SN17 | GSP | Luka | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 18. | SN18 | GSP | Luka | Merah | Bergerigi | Datar | Magelang |
| 19. | SN19 | GSP | Luka | Kuning | Oval | Cembung | Magelang |
| 20. | SN20 | GSP | Luka | Merah | Bulat | Cembung | Magelang |
| 21. | SN21 | GSP | Luka | Kuning | Oval | Datar | Magelang |
| 22. | SN22 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 23. | SN23 | GSP | Ginjal | Merah | Bulat | Cembung | Magelang |
| 24. | SN24 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 25. | SN25 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 26. | SN26 | GSP | Ginjal | Merah | Oval | Datar | Magelang |
| 27. | SN27 | GSP | Luka | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 28. | SN28 | GSP | Luka | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |
| 29. | SN29 | GSP | Hati | Kuning | Bulat | Cembung | Magelang |

Hasil pengukuran (mm) zona hambat dari uji sensitivitas dari 29 isolat bakteri terhadap obat A, B, C, dan D tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran (mm) Zona Hambat Uji Sensitivitas Isolat Bakteri Terhadap Obat A, B, C, dan D.

| No | Kode isolat | A | | | B | | | C | | | D | | | | | | | | |
|-----|-------------|-----|-----|-----|-----|---|---|----|---|---|----|---|---|-----|------|------|------|-----|-----|
| | | | | | Jam | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 24 | | | 48 | | | 24 | | | 48 | | | 24 | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | | | |
| 1. | SN1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8,4 | 8 | 7,6 | 4 | 4,2 | 5,6 |
| 2. | SN2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,6 | 1,6 | 0 | 1 | 1 |
| 3. | SN3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 13 | 11 | 0 | 0 |
| 4. | SN4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8,2 | 8,2 | 10 | 0 | 0 |
| 5. | SN5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14,6 | 12,6 | 13,4 | 0 | 0 |
| 6. | SN6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12,8 | 9,6 | 8 | 10 | 6 |
| 7. | SN7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7,6 | 6,4 | 3,6 | 4,2 | 4,8 |
| 8. | SN8 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 11,6 | 11 | 0 | 0 |
| 9. | SN9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12,8 | 13,2 | 8,8 | 8 | 6 |
| 10. | SN10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 9,8 | 11 | 7,2 | 7,4 |
| 11. | SN11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 11,6 | 12 | 6 | 7 |
| 12. | SN12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8,6 | 9,6 | 9 | 8 | 9,4 |
| 13. | SN13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9,2 | 8 | 9,8 | 6 | 6,2 |
| 14. | SN14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13,2 | 14 | 12,8 | 0 | 0 |
| 15. | SN15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10,6 | 11,6 | 10,8 | 9,4 | 9,6 |
| 16. | SN16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12,8 | 11,2 | 12 | 7 | 8 |
| 17. | SN17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9,6 | 7,6 | 7 | 7,4 | 7,4 |
| 18. | SN18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| 19. | SN19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6,2 | 6,4 | 8,2 | 0 | 0 |
| 20. | SN20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3,2 | 2,6 | 2,4 | 0 | 0 |
| 21. | SN21 | 2,4 | 2,2 | 2,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8,2 | 10 | 10 | 0 | 0 |
| 22. | SN22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 11,6 | 8 | 6,2 | 2,8 |
| 23. | SN23 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12,4 | 11,6 | 13,4 | 0 | 0 |
| 24. | SN24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11,6 | 10,8 | 10 | 7,4 | 6 |
| 25. | SN25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10,4 | 10,4 | 12,4 | 0 | 3,6 |
| 26. | SN26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 7,2 | 7 | 6 | 6 |
| 27. | SN27 | 1,2 | 2,4 | 2,8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,4 | 2,2 | 2,2 | 0 | 0 |
| 28. | SN28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,4 | 1,4 | 1,6 | 0 | 0 |
| 29. | SN29 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 | 9,4 | 5 | 4,5 |


Gambar 1. Hasil Uji Sensitivitas Obat A

Gambar 2. Hasil Uji Sensitivitas Obat B dan C

Gambar 3. Hasil Uji Sensitivitas Obat D

Keterangan : 1. *paper disk*
 2. zona hambat

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat uji sensitivitas (Tabel 2) dibandingkan dengan acuan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012), dimana diameter ≤ 12 mm (*Resistance*), 13-16 mm (*Intermediate*), dan ≥ 17 mm (*Sensitive*). Hasil kriteria zona hambat bakteri terhadap obat A, B, C, dan D tersaji pada tabel 3.



Tabel 3. Kriteria Zona Hambat Bakteri Terhadap Obat A, B, C, dan D

| No | Kode isolat | A | | | B | | | C | | | D | | | | | | |
|-----|-------------|----|---|---|-----|---|---|----|---|---|----|---|---|----|---|---|---|
| | | | | | Jam | | | | | | | | | | | | |
| | | 24 | | | 48 | | | 24 | | | 48 | | | 24 | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | |
| 1. | SN1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 2. | SN2 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 3. | SN3 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R |
| 4. | SN4 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 5. | SN5 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | I | I | R |
| 6. | SN6 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R |
| 7. | SN7 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 8. | SN8 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R |
| 9. | SN9 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | I | R | R |
| 10. | SN10 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 11. | SN11 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R |
| 12. | SN12 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 13. | SN13 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 14. | SN14 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | I | R |
| 15. | SN15 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 16. | SN16 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R |
| 17. | SN17 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 18. | SN18 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 19. | SN19 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 20. | SN20 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 21. | SN21 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 22. | SN22 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 23. | SN23 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R |
| 24. | SN24 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 25. | SN25 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 26. | SN26 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 27. | SN27 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 28. | SN28 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 29. | SN29 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |

Berdasarkan pengukuran zona hambat isolat bakteri yang dibandingkan dengan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012) dihasilkan bahwa semua isolat bakteri resisten terhadap obat A, B, C, dan D (Gambar 1 dan 2), kecuali SN3, SN5, SN6, SN8, SN9, SN11, SN14, SN16, dan SN23 yang masuk dalam kategori *intermediate* (I) terhadap obat D (Gambar 3).

Isolat bakteri yang berjumlah 29 isolat yang berasal dari magelang dan Kedung Ombo dilakukan pengamatan secara morfologi, sehingga terpilih 5 isolat bakteri yang kemudian dilakukan uji biokimia untuk mengetahui jenis bakteri. Berikut pengamatan secara morfologi isolate bakteri dan uji biokimia dari isolat SN6, SN11, SN19, SN24, dan SN26 pada Tabel 4.



Tabel 4. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dan Uji Biokimia Isolat Bakteri

| Uji Biokimia | SN6 | SN11 | SN19 | SN24 | SN26 |
|--------------------------------------|------------------|---------------------------|------------------|------------------|-----------------------------|
| Morfologi bentuk | | | | | |
| Bentuk koloni | bulat | bergerigi | oval | bulat | datar |
| Bentuk elevasi | cembung | datar | cembung | cembung | oval |
| Bentuk tepi | entire | entire | entire | entire | entire |
| Warna | merah | merah | kuning | kuning | merah |
| Media/warna | GSP | GSP | GSP | GSP | GSP |
| Morfologi sel | | | | | |
| Gram | - | - | - | - | - |
| Sifat fisiologis dan biokimia | | | | | |
| O/F | - | - | F | + | - |
| Motility | + | - | + | + | + |
| Produksi : | | | | | |
| Katalase | + | + | + | + | + |
| Oksidase | + | + | - | + | + |
| H ₂ S | - | - | - | - | - |
| Lisin dekarboksilase | + | + | - | - | - |
| Ornithin dekarboksilase | - | + | - | - | - |
| TSIA | K/K | K/K | A/A | A/A | A/A |
| Indole | - | - | - | + | - |
| Metyl-red | - | - | + | + | + |
| Voges-proskauer | - | - | - | - | - |
| Simon citrat | + | - | - | - | + |
| Gelatin | - | - | - | - | - |
| Urea | - | - | - | - | + |
| Hidrolisis dari : | | | | | |
| Aesculin | - | - | - | - | + |
| Produksi asam dari : | | | | | |
| Glukosa | - | - | + | + | + |
| Sukrosa | - | - | - | + | + |
| Laktosa | - | - | - | - | - |
| Maltosa | - | - | + | - | + |
| | <i>P. putida</i> | <i>P. anguilliseptica</i> | <i>A. sobria</i> | <i>A. caviae</i> | <i>P. pseudoalcaligenes</i> |

Keterangan: + : positif - : negatif F : fermentatif A : acid K : alkali

Hasil karakterisasi secara pengamatan morfologi dan uji biokimia bahwa kelima isolat bakteri isolat teridentifikasi bakteri *Pseudomonas putida* (SN6), *P. anguilliseptica* (SN11), *Aeromonas sobria* (SN19), *A. caviae* (SN24), dan *P. pseudoalcaligenes* (SN26).

PEMBAHASAN

Gejala klinis ikan mas (*Cyprinus carpio*) terserang penyakit yang berasal dari Kedung Ombo dan Magelang yaitu sirip geripis, organ hati dan ginjal pucat serta merah kehitaman, *exophthalmia*, produksi lendir berlebih, luka di permukaan tubuh sirip geripis, insang luka, kepala terdapat bintik putih, dan sisik mudah lepas. Gejala klinis pada ikan tersebut mengindikasikan terserang genus *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan bahwa *Aeromonas* sp. yang menyerang ikan mas (*C. carpio*) menunjukkan gejala klinis sirip geripis, *hemoragik*, dan pembengkakan pada organ dalam (Tantu *et al.*, 2013; Camus *et al.*, 1998; Austin dan Austin, 2007; Resty *et al.*, 2013; dan Buller, 2004). Gejala klinis tersebut juga diindikasikan terserang bakteri *Pseudomonas* sp. yaitu borok/luka pada tubuh ikan, kembung, mata menonjol (*exophthalmia*), warna tubuh menjadi gelap, timbul pendarahan, gerak lamban, sirip geripis, warna tubuh pucat, insang dan permukaan tubuh luka, *hemoragik*, produksi lendir berlebih, dan sisik lepas dan kasar serta diikuti *hemoragik* yang membentuk spot putih dikelilingi zona merah, dan pendarahan pada organ dalam (Kabata, 1985; Dosim *et al.*, 2013; Badjoeri, 2008; Afzirman *et al.*, 2003; Mastan, 2013; Hartati *et al.*, 2012; dan Aydin *et al.*, 1998).

Uji sensitivitas dari semua isolat bakteri terhadap obat A, B, C, dan D menunjukkan hasil yang resisten, tetapi isolat bakteri SN3, SN5, SN6, SN8, SN9, SN11, SN14, SN16, dan SN23 *intermediet* terhadap obat D. Hal tersebut ditunjukkan dengan hasil pengukuran zona bening yang rendah (0-12 mm) di sekitar *paper disk* pada obat A, B, C, dan D. Obat yang digunakan untuk uji sensitivitas merupakan obat beredar yang terdapat dipasaran. Komposisi masing-masing obat beredar yang digunakan untuk uji sensitivitas merupakan gabungan dari beberapa bahan antibiotik. Penggabungan beberapa antibiotik dalam satu obat akan menyebabkan interaksi farmasetika, dimana akan terjadi interaksi secara langsung apabila antibiotik tersebut dicampur baik secara kimiawi maupun fisika. Umumnya interaksi ini menjadikan obat tidak aktif lagi atau inaktivasi obat (Ganiswara, 1995).

Mekanisme bakteri yang resisten terhadap keempat obat tersebut diduga adanya mutasi target antibiotik yang terdapat pada obat atau bakteri masih memiliki plasmid yang memiliki gen pembawa resisten terhadap antibiotik. Resistensi bakteri didasarkan pada terjadinya mutasi dan seleksi muatan secara acak dan antibiotik berperan sebagai agen seleksi yang memungkinkan terjadinya multiplikasi kelompok bakteri resisten dan



menekan pertumbuhan bakteri yang memiliki sifat sensitif terhadap antibiotik (Atlas, 1995). Perubahan sisi pengenalan target antibiotik menyebabkan bakteri memiliki afinitas yang rendah maupun adanya perubahan *uptake* antibiotik tersebut karena kurangnya permeabilitas membran bakteri yang kemudian dikenal sebagai mekanisme efluks. Proses efluks ini merupakan suatu proses dimana sebuah transporter tunggal berupa suatu protein membran yang mampu memindahkan sejumlah antibiotik dari dalam sel ke substrat hingga menyebabkan resistensi bakteri tersebut terhadap antibiotik (Nonong, 2013). Mekanisme resistensi juga dapat disebabkan oleh inaktivasi obat oleh enzim bakteri (Howard *et al.*, 1987). Sebagai contoh enzim yang berperan sebagai inaktivator aminoglikosida antara lain adenilase, asetilase, fosforilase gugus hidroksil spesifik atau gugus amino. Informasi genetik untuk sintesis enzim terutama didapat melalui konjugasi, transfer DNA sebagai plasmid pembawa faktor resistensi (Krisnaningsih *et al.*, 2005). Resistensi yang ditunjukkan oleh isolat bakteri terhadap lebih dari satu antibiotik dapat disebabkan adanya *multiple-drug resistance* yang menurut Pratt (1973) merupakan suatu keadaan resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik sekaligus yang diperantara oleh plasmid R (DNA ekstrakromosomal). Faktor R sebagai faktor resistensi dapat ditransfer dan dipindahsebar dengan cara konjugasi antara sesama bakteri. Beberapa penelitian yang menunjukkan *multiple-drug resistance* yaitu *A. salmonicida* resistan terhadap *ampicillin*, *gentamicin*, *oxytetracycline*, *enrofloxacin*, dan *oxolinic acid* oleh Kim *et al.* (2010), bakteri *Aeromonas*, *Pseudomonas*, dan *Enterobacteriace* resistan pada *oxytetracycline* oleh Singh *et al.* (2009); bakteri *A. caviae*, *A. sobria*, dan *A. hydrophila* resistan terhadap *nalidixic acid*, *tetracycline*, dan *cotrimoxazole* oleh Urriza *et al.* (2000).

Beberapa isolat bakteri (SN3, SN5, SN6, SN8, SN9, SN11, SN14, SN16, dan SN23) pada uji sensitivitas obat D menunjukkan hasil intermediet. Hal ini menunjukkan bahwa obat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Komposisi obat D terdiri dari antibiotik tunggal yaitu *enrofloxacin*. Sumadio dan Harahap (1994), *enrofloxacin* merupakan golongan *flouroquinolon* dimana antibiotik tersebut berfungsi sebagai penghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Yielding and Prescott (1990), *enrofloxacin* lebih aktif daripada *norfloxacin*. Mekanisme kerja dari antibiotik tersebut yaitu menghambat tahap replikasi DNA pada sintesis asam nukleat. Pada proses tersebut *double helix* DNA harus dipisahkan menjadi dua rantai DNA pada saat berlangsungnya replikasi dan transkripsi. Pemisahan ini akan menyebabkan terjadinya puntiran berlebihan (*overwinding*) pada *double helix* DNA sebelum titik pisah. Hambatan mekanik ini dapat diatasi bakteri dengan bantuan enzim DNA gyrase. *Enrofloxacin* menghambat enzim DNA gyrase pada bakteri tersebut, sehingga bakteri *sensitive* terhadap obat yang diberikan (Mims, 2004). *A. sobria* dan *A. hydrophila sensitive* pada *enrofloxacin* (Kozinska and Guz, 2004), demikian juga pada *P. putida* (Aydin *et al.*, 1998).

Karakteristik dari hasil uji morfologi dan biokimia 5 isolat bakteri yang berasal dari Kedung Ombo dan Magelang yaitu *Pseudomonas putida* (SN6), *P. anguilliseptica* (SN11), *Aeromonas sobria* (SN19), *A. caviae* (SN24), *P. pseudoalcaligenes* (SN26). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri genus *Aeromonas* dan *Pseudomonas* menyerang ikan air tawar diantaranya bakteri *P. putida* menyerang ikan mas dengan gejala klinis hati pucat dengan titik merah dan hemoragik oleh Badjoeri (2008) dan Aydin *et al.* (1998). *P. anguilliseptica* ditemukan pada ikan lele dumbo oleh Hartati *et al.* (2012) dan juga ditemukan pada ikan mas oleh Mastan (2013). *A. sobria* pernah ditemukan di ikan mas oleh Kozinska and Guz (2004); Kozinska *et al.* (2002); Daood (2011); dan Sugita *et al.* (1994), serta bakteri tersebut juga ditemukan di lele sangkuriang pada kegiatan pemantauan Stasiun Karantina Ikan kelas II Semarang (2013). *A. caviae* pernah ditemukan pada ikan mas oleh Sugita *et al.* (1995; 1994) dan Daood (2011) serta pada ikan lele dumbo oleh Simanjuntak (2013). *P. pseudoalcaligenes* menyerang ikan grass carp oleh Huang *et al.* (2009).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, maka kesimpulan yang dapat diambil diantaranya adalah uji sensitivitas 29 isolat bakteri terhadap obat beredar yaitu A, B, C, dan D bersifat resistan, tetapi SN3, SN5, SN6, SN8, SN9, SN11, SN14, SN16, dan SN23 *intermediate* terhadap obat D. Agensia penyebab penyakit bakteri pada ikan mas (*C. carpio*) yaitu *Pseudomonas putida*, *P. anguilliseptica*, *Aeromonas sobria*, *A. caviae*, dan *P. pseudoalcaligenes*.

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah sebaiknya dilakukan uji lebih lanjut dengan *in vivo* untuk mengetahui efektivitas obat terhadap kultivan dan dilakukan uji biomolekuler pada isolat bakteri.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan sebagian dari penelitian payung yang dilakukan oleh Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc., dkk. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Ocky Karna Radjasa, M. Sc., Ph.D., Handung Nuryadi, S.Kel, Bapak Marsudi, Bapak Anto, Team Disease (Dani, Yelliana, Dina, Istikhanah, Aprilia, Chyntia, Pungki, Rahmi, Aminah, Endah, Dian, Setyo, dan Adi) yang telah membantu dalam penelitian ini.



DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R. M. 1995. *Principles of Microbiology*. Mosby-Year Book, Inc., Missouri. 374 p.
- Austin, B. and Austin, D. A. 2007. *Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish*. Fourth edition. Ellis Horword Limited. Chichester: England. 552 p.
- Aydin, S., Ciltas, A., and Erman, Z. 1998. *Pseudomonas putida Infections in Scattered Mirror Carp (Cyprinus carpio L.) and Gold Fish (Carassius auratus L.)*. Symposium Proceeding. <http://www.akuademi.net/fe/FE1998/aq/aq17.pdf>. Diakses 7 Mei 2014. 8 p.
- Azfirman, Sosiawan, H., Oktavia, V., dan Zulkifli. 2003. Patogenitas Kuman *Pseudomonas* sp. dan *Aeromonas* sp. terhadap Ikan Air Tawar di Propinsi Sumatera Barat. Buletin vol 5. 6 hlm.
- Badioeri, M. 2008. Identifikasi Bakteri Patogen pada Sistem Karamba Jaring Apung (KJA) di Danau Maninjau, Sumatra Barat. 34 (2) 169-184. ISSN 0125-9830. http://www.limnologi.lipi.go.id/limnologi/doc/public/M._BADJOERI_Identifikasi_bakteri_patogen_di_KJA_MAninjau-arb_Hartoto _081008.pdf. Diakses 19 April 2014.
- Buller, N. B. 2004. *Bacteria from Fish and other Aquatic Animal*. CABi Publishing. Cambridge (USA): 167-217 p.
- Camus A, Durborow R, Hemstreet W, Thune R, Hawke J. 1998. *Aeromonas Bacterial Infections-Motil Aeromonad Septicemia*. <https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/126/>. SRAC Pub No. 478. Diakses 19 April 2014.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement*. 188 p.
- Coyle, M. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Amerika. 241p.
- Daood, N. 2011. *Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants Against Fish Pathogenic Aeromonas spp. Isolated from Farmed Common Carp (Cyprinus carpio)*. Journal 33(3). http://www.tishreen.edu.sy/sites/default/files/Tishreen_Magazine/12_38.pdf Diakses 7 Mei 2014. 13p.
- Dinas Kelautan dan Perikanan Jawa Tengah. 2013. Profil Bidang Perikanan 2013. http://diskanlutt-jateng.go.id/2013/index.php/read/budidaya_ikan/profil_detail/47. Diakses 9 Mei 2013.
- Dosim, Hardi, E., dan Agustina. 2013. Efek Penginjeksian Produk Intraseluler (ICP) dan Ekstraseluler (ECP) Bakteri *Pseudomonas* sp. terhadap Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Jurnal 19(1). Diakses 6 Mei 2014. 7 hlm.
- Ganiswara. 1995. Farmakologi dan Terapan. Edisi IV. Bagian Farmakologi. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 571-573, 577-583, 669-670.
- Gordon, L., Cloeckaert, A., Doublet, B., Schwarz, S., Albert, A., Ganiere, J., Bris, H., Mateos, A., and Giraud, E. 2008. *Complete Sequence of the floR-Carrying Multiresistance Plasmid pAB5S9 from Freshwater Aeromonas bestiarum*. Journal. <http://jac.oxfordjournals.org/content/62/1/65.full.pdf+html?sid=9ee222f2-2e37-4248-b6f7-eb0c0f604c63>. Diakses 27 Maret 2014. 7 p.
- Hadi, S. 2000. Metodologi Penelitian. Yogyakarta: Andi Yogyakarta.
- Hartati, W., Helmizuryani, dan Suwardi. 2012. Pathogenisitas Bakteri *Pseudomonas anguilliseptica* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Abstrak. 1-1. ISSN 2301-4172. <http://umpalembang.net/jurnal.fp.ump/fiseries/File/FISERIES%20Vol%20I/OKE.1.pdf>. Diakses 19 April 2014.
- Huys, G. 2002. *SOP Antibiotic Susceptibility Testing of Aquaculture-Associated Bacteria with the Disc Diffusion Method*. Universiteit Gent. 10p.
- Howard, B. J., Klaas, J., Weissfeld, A. S., Tilton, R. C., and Rubin, S. J. 1987. *Clinical and Pathogenic Microbiology*. The C. V. Mosby Company, St Louis, Washington, D. C., Toronto. 142 p.
- Huang, H., Shi, P., Wang, Y., Luo, H., Shao, N., Wang, G., Yang, P., and Yao, B. 2009. *Diversity of Beta-Propoller Phytase Genes in the Intestinal Contents Grass Carp Provides Insight into the Release of Major Phosphorus from Phytate in Nature*. Journal 75(6). <http://aem.asm.org/content/75/6/1508.full.pdf>. Diakses 7 Mei 2014. 10p.
- Kabata, Z. 1985. *Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics*. Taylor and Francis. London and Philadelphia.
- Kim, J., Hwang, S., Son, J., Han, J., Jun, J., Shin, S., Choresca, C., Choi, Y., Park, Y., and Park, S. 2010. *Molecular Characterization of Tetracycline- and Quinolone-Resistant Aeromonas salmonicida Isolated in Korea*. Journal Vet. 12 (1). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3053466/pdf/jvs-12-41.pdf>. Diakses 21 Maret 2014. 8 p.
- Kozinska and Guz, L. 2004. *Antibiotic Susceptibility of Aeromonas hydrophila and A. sobria Isolated from Farmed Carp (Cyprinus carpio L.)*. Bulletin. <http://www.piwet.pulawy.pl/bulletin/images/stories/pdf/20044/20044391396.pdf>. Diakses 7 Mei 2014. 6 p.



- Kozinska, A., Figueras, M., Chacon, M., and Soler, L. 2002. *Phenotypic Characteristics and Pathogenicity of Aeromonas Genomospecies Isolated from Common Carp (Cyprinus carpio L.)*. Journal 93. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.2002.01784.x/pdf>. Diakses 7 Mei 2014. 8 p.
- Krisnaningsih, M., Asmara W., dan Wibowo M. 2005. Uji Sensitivitas Isolat *Escherichia coli* Patogen pada Ayam terhadap Beberapa Jenis Antibiotik. Jurnal Sain Vet. 1. Diakses 21 Maret 2014. 6 hlm.
- Lukistyowati, I. dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Jurnal. Diakses 20 Mei 2014. 17 hlm.
- Mastan, S. 2013. *Pseudomonas Septicemia in Labeo rohita (Ham) and Cyprinus carpio (Linn.) in Andhra Pradesh-Natural Occurrence and Artificial Challenge*. Journal 5. <http://www.ijppsjournal.com/Vol5Suppl2/6943.pdf>. Diakses 7 Mei 2014. 5p.
- Mims. 2004. *Medical Microbiology*. Edisi 3. London Mosby.
- Nonong, Y. dan Satari, M. 2013. Tetrasiklin sebagai Salah Satu Antibiotik yang dapat Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Resisten-Metisilin (MRSA). http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2013/06/tetrasiklin_sebagai_salah_satu_antibiotik2.pdf. Diakses 21 Maret 2014. 7 hlm.
- OIE Terrestrial Manual. 2012. *Laboratory Methodologies for Bacterial Antimicrobial Susceptibility Testing*. 11p.
- Paul, D.L. and Jeanne, E.O. 2005. *Practical Research: Planning and Design Research*. Edition 8 Ohio : Pearson Merrill Prentice Hall.
- Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. 2012. Obat Ikan. http://infohukum.kkp.go.id/files_permen/PER%2004%20MEN%202012.pdf. Diakses 5 Mei 2014. 35 hlm.
- Pratt, W. B. 1973. *Fundamentals of Chemotherapy*. Oxford University Press, New York, Toronto.
- Resty, A., Sarjito, dan Prayitno, S. 2013. Identifikasi dan Uji Postulat Koch Agensi Penyebab Penyakit Bakteri pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) yang Berasal dari Demak. Jurnal 2(2). Diakses 7 April 2014. 10 hlm.
- Simanjuntak, A. 2013. Sensitivitas Agensi Penyebab Penyakit Bakteri pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Berasal dari Kampung Lele, Boyolali Terhadap Berbagai Antibiotik. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Singh, A., Rathore, G., Singh, V., Mani, I., Singh, R., Mishra, S., Mishra, B., and Verma, O. 2009. *Bacterial Resistance to Oxytetracycline in Different Life Stages of Indian Freshwater Carp Aquaculture System*. Journal 1. Diakses 22 Maret 2014. 10 hlm.
- Sugita, H., Tanaka, K., Yoshinami, M., and Deguchi, Y. 1995. *Distribution of Aeromonas Species in the Intestinal Tracts of River Fish*. Journal 61(11). <http://aem.asm.org/content/61/11/4128.full.pdf>. Diakses 7 Mei 2014. 4p.
- Sugita, H., Nakamura, T., Tanaka, K., and Deguchi, Y. 1994. *Identification of Aeromonas Species Isolated from Freshwater with the Microplate Hybridization Method*. Journal 60(8). <http://aem.asm.org/content/60/8/3036.full.pdf>. Diakses 7 Mei 2014. 4 p.
- Sumadio, H., dan Harahap, U. 1994. Biokimia dan Farmakologi Antibiotika. Medan. USU Press.
- Tantu, W., Tumbol, R., dan Longdong S. 2013. Deteksi Keberadaan Bakteri *Aeromonas* sp. pada Ikan Nila yang Dibudidayakan di Karamba Jaring Apung Danau Tondano. Jurnal 1(3). 7 hlm.
- Urriza, M., Pineau, L., Roques, C., Caumette, P., and Quentin, C. 2000. *Antimicrobial Resistance of Mesophilic Aeromonas spp. Isolated from Two European Rivers*. Journal. <http://jac.oxfordjournals.org/content/46/2/297.full.pdf+html?sid=9ee222f2-2e37-4248-b6f7-eb0c0f604c63>. Diakses 27 Maret 2014. 5 p.
- Yielding K. And Prescott, J. 1990. *In Vitro Susceptibility of Selected Veterinary Bacterial Pathogens to Ciprofloxacin, Enrofloxacin, and Norfloxacin*. Journal. University of Guelph. 54: 195-19