

STUDI PENYAKIT BAKTERIAL PADA BUDIDAYA IKAN KERAPU DAN BAKTERI PENGHAMBATNYA DI PERAIRAN TELUK LAMPUNG

Preliminary Study on Bacterial Pathogenic in Grouper Culture and Its Inhibitor Bacteria in Lampung Bay

A. Hatmanti, R. Nuchsin, dan Y. Darmayati

Puslit Oseanografi – LIPI, Jl. Pasir Putih I No.1 Jakarta 14430

ABSTRACT

Investigation of pathogenic bacteria and its inhibitor on grouper culture in some places of Lampung Bay had been carried out. Six strains of pathogenic bacteria and 28 strains of inhibitor bacteria were found in grouper and its habitat. By inhibition test, 4 strains inhibited pathogenic bacteria were obtained. Inhibition test for *Vibrio harveyi* had also been performed using a bacterial collection of Marine Microbiology Laboratory of Research Center of Oceanography-LIPI. The result showed that 3 strains could be used against bacterial infection. This study offers a positive prospect to prevent outbreak of bacterial diseases in grouper culture.

Keywords: grouper culture, Lampung, inhibitor bacteria, pathogenic bacteria, inhibition test

ABSTRAK

Penelitian penyakit bakterial dan bakteri penghambatnya pada budidaya ikan kerapu di beberapa tempat di perairan Teluk Lampung telah dilakukan. Enam strain bakteri patogen dan 28 strain bakteri penghambat telah berhasil diisolasi dari ikan kerapu dan habitat tempat hidupnya. Dari hasil uji tangang (*inhibition test*) yang dilakukan, diperoleh 4 strain bakteri penghambat yang mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen. Selain itu, uji tangang terhadap bakteri patogen *Vibrio harveyi*, menggunakan bakteri penghambat koleksi Laboratorium Mikrobiologi Laut Puslit Oseanografi LIPI juga telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 3 strain bakteri mampu memberikan hambatan terhadap pertumbuhan *Vibrio harveyi*. Studi ini memberikan prospek positif terhadap penanggulangan penyakit bakterial pada budidaya ikan kerapu.

Kata kunci: budidaya kerapu, Lampung, bakteri penghambat, bakteri patogen, uji tangang

PENDAHULUAN

Ikan kerapu merupakan komoditi laut yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Permintaan pengadaan ikan kerapu sebagai bahan konsumsi akhir-akhir ini semakin meningkat. Komoditi tersebut dipasarkan dalam bentuk segar maupun dalam kemasan dengan penjualan hingga mencapai skala internasional. Seiring dengan makin meningkatnya kebutuhan akan protein hewani asal laut, minat pembudidaya untuk memelihara ikan kerapu pun semakin meningkat.

Kendala terbesar yang selalu dihadapi pada kegiatan budidaya ikan kerapu adalah terjadinya serangan bakteri patogen terutama

pada stadia larva. Serangan bakteri patogen ini menimbulkan penurunan kualitas dan tingkat produksi pada usaha pembenihan ikan kerapu, bahkan kematian dan kegagalan panen dapat terjadi. Rukyani (1993) melaporkan bahwa akibat adanya serangan penyakit, hanya sekitar 40% dari seluruh areal pertambakan di Indonesia yang masih beroperasi sehingga menimbulkan kerugian yang cukup besar. Sekurang-kurangnya 300 milyar rupiah telah hilang pertahunnya dari seluruh areal pertambakan di Indonesia.

Mikroorganisme virus, bakteri atau parasit merupakan penyebab penyakit yang sering ditemukan dalam pembenihan atau budidaya ikan (Leong, 1994; Bessie, 1988; Chua *et al.*, 1994; Saeed, 1995). Menurut

Shickney (2000) penyakit bakterial pada golongan groupers dan snappers adalah *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp, *Pasteurella* spp., *Streptococcus* dan *Mycobacterium*. Bakteri-bakteri ini bersifat gram negatif. Kasus penyakit bakterial pada ikan kerapu *E. salmoides* disebabkan oleh adanya infeksi bakteri *Vibrio* sp. dan dapat bersifat patogen ataupun hanya penyebab sekunder (Bessie, 1988 dan Wong *et al.* dalam Wong *et al.*, 1990). Sedangkan pada kerapu *E. tawina* kasus penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* (Saeed, 1995) atau *Pseudomonas* sp. berupa peradangan pada kulit (Nash *et al.*, 1987).

Untuk mengatasi terjadinya penyakit akibat infeksi bakteri sebagian besar pembudidaya ikan di Indonesia menggunakan antibiotik dan obat-obatan. Tingkat keberhasilan penggunaan antibiotik ini sangat bervariasi tergantung pada lokasi dan waktu penggunaan. Penggunaan antibiotik secara terus-menerus yang tidak terkontrol dapat menyebabkan resistensi bakteri patogen terhadap bahan kimia tersebut (Baticados dan Paclibare, 1992; Roza, 1993). Upaya pengendalian lain yang lebih efektif adalah dengan cara manipulasi lingkungan atau secara kontrol biologis (biokontrol) menggunakan fitoplankton yang bersifat bakterisida maupun bakteri sebagai musuh alami (Maeda, 1994; Roza, 1995). Pada budidaya biota lain (udang, kepiting

dan bandeng) penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini dapat diatasi secara biologis. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai pengendalian secara biologis penyakit bakterial pada budidaya ikan kerapu. Cara ini diharapkan tidak menimbulkan akibat samping yang merugikan lingkungan. Pada penelitian ini dilakukan inventarisasi strain-strain unggulan yang mampu menekan bakteri patogen dan sasarannya, inventarisasi strain-strain unggulan yang mampu menekan bakteri patogen, untuk mengendalikan penyakit bakterial pada budidaya Ikan Kerapu, dan pada akhirnya diharapkan dapat meningkatkan kualitas dan produksi benih Ikan Kerapu.

METODOLOGI PENELITIAN

Bakteri heterotrofik dan bakteri patogen disampling dari air tempat budidaya, ikan sehat maupun ikan sakit. Sampel diambil dari dua tempat budidaya ikan kerapu yang berada di Lampung, yaitu di Balai Budidaya Laut-Lampung (BBL), Departemen Kelautan dan Perikanan dan Budidaya kerapu jaring apung milik swasta di Pulau Kalangan. Rincian sampel yang dianalisa dapat dilihat pada Table 1 di bawah ini.

Tabel 1. Sampel ikan dan air yang dianalisa bakteri patogen dan bakteri penghambatnya dari Lampung.

Jenis sampel	Lokasi
Ikan kerapu tikus sakit	Bak kultur BBL
Ikan kerapu tikus sehat	Bak kultur BBL
Ikan kerapu macan sehat	Bak kultur BBL
Ikan kerapu macan sehat	Jaring apung BBL
Ikan kerapu tikus sehat	Jaring apung BBL
Ikan kerapu tikus sakit	Jaring apung P. Kalangan
Ikan kerapu macan sakit (kepala luka)	Jaring Apung P. Kalangan
Ikan kerapu macan sakit (punggung luka)	Jaring Apung P. Kalangan
Air tempat budidaya kerapu	Bak kultur BBL
	Jaring apung BBL
	Jaring Apung P. Kalangan

Bakteri patogen maupun bakteri heterotrofik dalam air tempat budidaya dianalisis menggunakan cara sebagai berikut sampel air diambil secara aseptis menggunakan botol steril volume 300 ml. Analisa bakteri patogen *Vibrio* dilakukan berdasarkan WHO (1977) yaitu 10 ml sampel air ditanam dalam botol Erlenmeyer yang berisi 90 ml media pre-enrichment. Sample diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Kemudian diambil 10 ml dan dipindahkan ke dalam botol Erlenmeyer yang berisi 90 ml media enrichment. Dinkubasikan kembali pada suhu 35°C selama 24 jam. Selanjutnya digoreskan di atas media TCBS agar (2 ulangan) dan diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dicatat jumlah, warna bentuk dan ukuran koloni. Tiap koloni yang berbeda digoreskan kembali pada permukaan media TCBS. Selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi menggunakan uji biokimia dengan media TSI, LDB, NaCl 8% dan MRVP. Hasil yang diperoleh kemudian diidentifikasi berdasarkan Barrow dan Miller (1976).

Analisa bakteri patogen non *Vibrio* dilakukan berdasarkan WHO (1977) yaitu 10 ml sampel air ditanam dalam erlenmeyer yang berisi 90 ml media pre-enrichment. Diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Kemudian diambil 10 ml dan dipindahkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 ml media enrichment. Dinkubasikan kembali pada suhu 35°C selama 24 jam. Selanjutnya digoreskan di atas media XLD agar (2 ulangan) dan diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dicatat warna bentuk dan ukuran koloni. Tiap koloni yang berbeda digoreskan kembali pada permukaan media yang sama (XLD). Selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi menggunakan uji biokimia dengan media TSI, LDB, SIM Sulfit, dan Urea. Hasil yang diperoleh kemudian diidentifikasi sesuai metode WHO (1977).

Analisa bakteri heterotrofik dilakukan dengan cara 1 ml sampel air diambil menggunakan pipet steril kemudian ditanam secara pour plate (tuang) ke dalam media agar laut (marine agar/MA) dan media agar air tawar (Freshwater agar/AT).

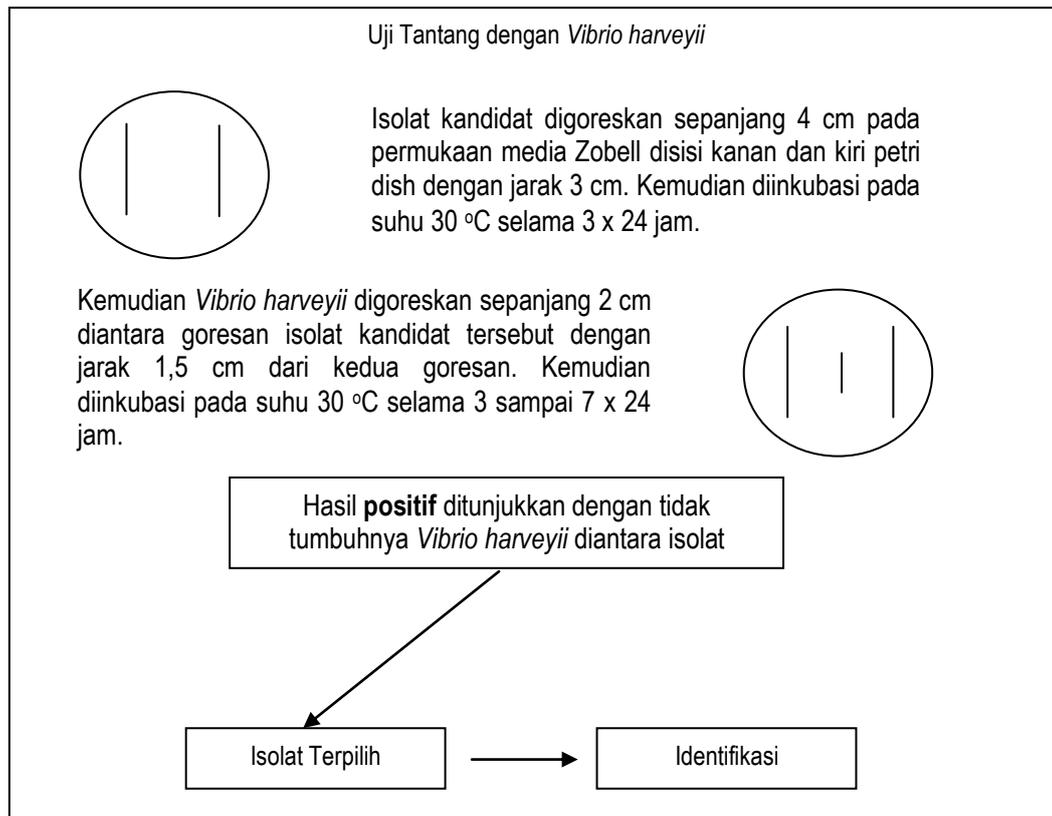
Diinkubasikan pada suhu ruangan selama 5 hari. Koloni yang tumbuh dicatat jumlah, warna bentuk dan ukuran koloni. Tiap koloni yang berbeda digoreskan kembali pada permukaan media yang sama (MA atau AT). Selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi menggunakan Microgen.

Bakteri patogen dianalisis dari sampel ikan sakit yang diambil bagian tubuh yang sakit, insang dan isi perutnya. Pada ikan kerapu yang sehat bagian yang diambil sama dengan bagian yang diambil pada ikan kerapu sakit. Masing-masing bagian tubuh ini dipotong-potong kecil kemudian dihancurkan hingga halus. Air yang terdapat dari hasil penghancuran kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 9 ml air laut steril.

Bakteri patogen *Vibrio* dianalisa dengan cara sampel air tersebut di atas diambil 1 ml dengan pipet steril dan diteteskan di atas media media TCBS sebanyak 5 tetes. Sampel kemudian diratakan ke seluruh permukaan media TCBS (dua ulangan). Sample kemudian diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada permukaan media dicatat jumlah, warna dan bentuk serta ukuran koloni. Tiap koloni yang berbeda kemudian dimurnikan dan selanjutnya diidentifikasi berdasarkan Barrow & Miller (1976).

Analisa bakteri patogen non *Vibrio* dilakukan berdasarkan WHO (1977) yaitu sampel air diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 9 ml Pre-enrichment cair. Kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 35°C. Selanjutnya diambil 1 ml dan ditanam pada tabung yang berisi 9 ml media pengaya (enrichment). Diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 35°C. Diambil 3 tetes menggunakan pipet steril dan ditanam di atas permukaan media XLD dalam 2 ulangan. Kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 35°C. Koloni yang tumbuh dicatat jumlah, bentuk, warna serta ukuran koloni. Tiap koloni yang berbeda kemudian digoreskan kembali di atas media XLD dan selanjutnya dimurnikan.

Gambar 1 merupakan ilustrasi prosedur uji tantang yang dilakukan.



Gambar 1. Ilustrasi prosedur uji tantang

Analisa bakteri heterotrofik dilakukan dengan cara sampel diambil 1 ml dan ditanam menggunakan media agar air laut / marine agar (AL) dan agar air tawar/ freshwater agar (AT) secara pour plate (tuang) masing-masing 2 ulangan. Sampel kemudian diinkubasikan pada suhu ruangan selama 5 hari, Koloni yang tumbuh kemudian dicatat jumlah, warna, bentuk serta ukuran koloni. Tiap koloni yang berbeda kemudian digoreskan kembali pada media yang sama. Suhu inkubasinya sama yaitu dalam suhu ruangan selama 5 hari. Bakteri heterotrofik yang tumbuh tersebut kemudian dimurnikan. Bakteri heterotrofik yang berhasil dianalisa baik dalam air tempat hidupnya maupun dalam tubuh ikan kemudian dilakukan uji penghambatan terhadap bakteri patogen yang telah diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Isolasi Bakteri Patogen dan Bakteri Heterotrofik

Dalam bak pemeliharaan ikan kerapu yang berada di Balai Budidaya Laut, Departemen Kelautan dan Perikanan,

Lampung, bakteri patogen yang berhasil dianalisa adalah sebagai berikut : pada air tempat hidupnya ditemukan *Vibrio sp*, *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, *Aeromonas sp* dan *Citrobacter sp*. Pada ikan kerapu tikus sakit ditemukan *Proteus sp* dan *Citrobacter sp*, sedangkan pada ikan kerapu tikus sehat adalah *Pseudomonas sp* dan *Vibrio sp*. Pada kerapu macan sehat yang berada di bak pemeliharaan BBL telah ditemukan *Pseudomonas sp*. dan *Citrobacter sp*. Dalam jaring apung yang berada di BBL bakteri patogen yang berhasil dianalisa dari ikan kerapu tikus sehat adalah *Proteus sp* dan *Shigella sp*, sedangkan pada ikan kerapu macan sehat bakteri patogen yang berhasil dianalisa adalah *Pseudomonas sp*. Bakteri patogen yang berada di perairan tempat hidupnya adalah *Aeromonas sp*, *Citrobacter sp*, *Pseudomonas sp*, *Shigella sp*, dan *Proteus sp*.

Pada jaring apung di Pulau Kalangan milik pengusaha swasta, bakteri patogen yang berhasil dianalisa pada ikan kerapu macan sakit (kepala luka) adalah *Proteus sp* dan *Citrobacter sp* sedangkan pada ikan kerapu macan sakit (punggung luka) adalah

Proteus sp., dan pada ikan kerapu tikus sakit adalah *Pseudomonas sp* dan *Citrobacter sp.* Pada perairan tempat hidupnya ditemukan *Pseudomonas sp* dan *Shigella sp.* Jenis bakteri patogen yang berhasil diisolasi pada sampel ikan dan air tempat hidupnya dicantumkan dalam Tabel 2.

Kandidat bakteri penghambat yang diperoleh dari penelitian ini antara lain sebagai berikut : 13 isolat diperoleh dari biota, ikan kerapu sehat dan ikan kerapu sakit, sedangkan 15 isolat lainnya diperoleh dari perairan tempat hidupnya. Semua isolat ini disimpan pada media Marine Agar (AL)

untuk kemudian digunakan dalam ujiantang.

2. Uji Tantang

Sesuai dengan hasil pengambilan sampel di lapangan diperoleh isolat bakteri patogen dan kandidat penghambat seperti ditampilkan dalam Tabel 3. Bakteri pathogen yang ditemukan meliputi *Vibrio spp.*, *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Citrobacter spp.*, *Proteus spp.* dan *Shigella spp.*

Tabel 2. Jenis-jenis bakteri patogen yang berhasil diisolasi pada sampel ikan dan air tempat hidupnya yang berasal dari Lampung.

Sampel	Lokasi	Jenis bakteri
Ikan kerapu tikus sakit	Bak kultur BBL	<i>Proteus sp, Citrobacter sp.</i>
Ikan kerapu tikus sehat	Bak kultur BBL	<i>Pseudomonas sp, Vibrio sp.</i>
Ikan kerapu macan sehat	Bak kultur BBL	<i>Pseudomonas sp, Citrobacter sp.</i>
Ikan kerapu macan sehat	KJA BBL	<i>Pseudomonas sp.</i>
Ikan kerapu tikus sehat	KJA BBL	<i>Proteus sp, Shigella sp.</i>
Ikan kerapu tikus sakit	KJA P.Kalangan	<i>Pseudomonas sp, Citrobacter sp.</i>
Ikan kerapu macan sakit (kepala luka)	KJA P.Kalangan	<i>Proteus sp, Citrobacter sp.</i>
Ikan kerapu macan sakit (punggung luka)	KJA P.Kalangan	<i>Proteus sp.</i>
Air tempat budidaya kerapu	Bak kultur BBL	<i>Aeromonas sp, Proteus sp, Vibrio sp, Pseudomonas sp, Citrobacter sp.</i>
	KJA BBL	<i>Aeromonas sp, Citrobacter sp, Pseudomonas sp, Shigella sp, Proteus sp.</i>
	KJA P. Kalangan	<i>Pseudomonas sp, Shigella sp.</i>

Keterangan:

BBL = Balai Budidaya Lampung, Departemen Kalautan dan Perikanan

KJA = Keramba Jaring Apung

Tabel 3. Jumlah isolate bakteri patogen dan kandidat penghambat.

	Kolom Air	Kerapu Sehat	Kerapu Sakit
Patogen	6	4	4
Penghambat	15	7	6

Berdasarkan tingkat patogenisitasnya *Vibrio spp*, *Aeromonas spp*, *Pseudomonas spp*, dan *Citrobacter spp* dipilih sebagai bakteri patogen yang diujitantang berdasarkan metoda Maeda (1994), sedangkan *Proteus sp* dan *Shigella sp* tidak diujikan.

Sebagai perbandingan untuk ujiantang, digunakan bakteri patogen *Vibrio harveyi* yang diperoleh dari Dr. Haryanti (Kepala Laboratorium Bioteknologi, Balai Besar Riset Perikanan Laut, Departemen Kelautan dan Perikanan, Gondol, Bali). Hasil pengamatan ditunjukkan pada Tabel 4.

Hasil ujiantang antara bakteri patogen dan bakteri heterotrofik diperoleh 4 isolat yang mempunyai potensi menghambat, yaitu: KM.SKT/Kep/PP/BLC/AL,

A.KT.SKT/BAK/PP/BKC/AL,
A.KM.SE/BAK/PP/BLC/AL,
A.KT.SE/KRB/PK/BKC/AL.

Selain itu juga dilakukan ujiantang menggunakan bakteri penghambat dari Bojonegoro terhadap *Vibrio spp*. Hasil ujiantang ditunjukkan pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil ujiantang ini maka diperoleh 7 bakteri heterotrofik yang mempunyai kemampuan menghambat bakteri patogen pada ikan kerapu. Tiga diantaranya bahkan spesifik menghambat *Vibrio harveyi*. Ketujuh bakteri ini dimasukkan dalam kandidat probiotik untuk dilakukan pengujian selanjutnya, yaitu uji daya hambat. Beberapa gambar isolat potensial ditunjukkan pada Gambar 1, sementara gambar ujiantang ditunjukkan pada Gambar 2.

Tabel 4. Kandidat bakteri penghambat untuk bakteri patogen

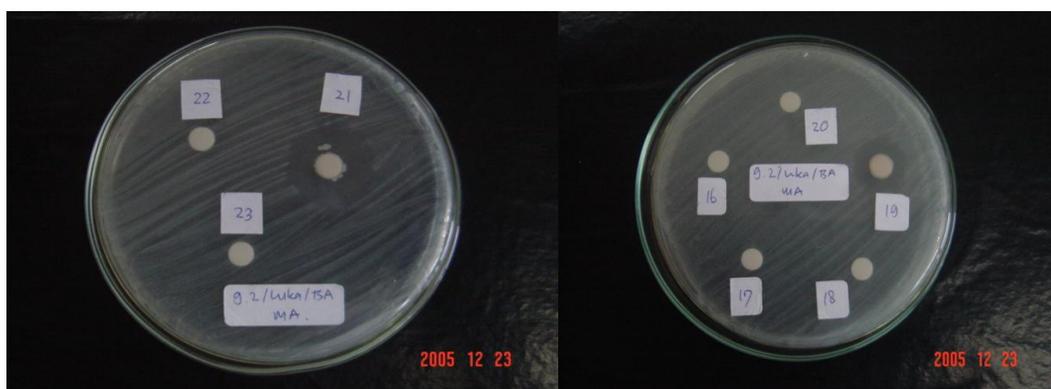
Bakteri Patogen	Hasil Pengamatan
<i>Vibrio harveyi</i> (dari Gondol, Bali)	Diperoleh 2 kandidat KM.SKT/Kep/PP/BLC/AL (0,4 cm) A.KT.SKT/BAK/PP/BKC/AL (0,5 cm)
<i>Vibrio spp</i> .	Diperoleh 2 kandidat A.KT.SKT/BAK/PP/BKC/AL (0,2 cm) A.KM.SE/BAK/PP/BLC/AL (0,25 cm) Kontrol 0,5 cm
<i>Aeromonas spp</i>	Diperoleh 1 kandidat A.KT.SKT/BAK/PP/BKC/AL (0,2 cm) Kontrol 0,5 cm
<i>Pseudomonas spp</i>	Diperoleh 4 kandidat KM.SKT/Kep/PP/BLC/AL (0,25 cm) A.KT.SKT/BAK/PP/BKC/AL (0,2 cm) A.KM.SE/BAK/PP/BLC/AL (0,25 cm) A.KT.SE/KRB/PK/BKC/AL (0,2 cm) Kontrol 0,4 cm
<i>Citrobacter spp</i>	Diperoleh 3 kandidat KM.SKT/Kep/PP/BLC/AL (0,2 cm) A.KT.SKT/BAK/PP/BKC/AL (0,2 cm) A.KM.SE/BAK/PP/BLC/AL (0,3 cm) Kontrol 0,5 cm

Tabel 5. Bakteri-bakteri penghambat dan luas zona penghambatannya bagi bakteri pathogen *Vibrio spp.*

No	Nama Bakteri	Diameter penghambatan
1.	<i>Bacillus latesporus</i>	0,25 cm
2.	<i>Pseudomonas ambigua</i>	1,20 cm
3.	<i>Bacillus sphaerians</i>	0,40 cm
4.	<i>Pseudomonas ferury</i>	0,45 cm
5.	<i>Pseudomonas sp.</i>	0,30 cm
6.	<i>Bacillus cadius</i>	0,20 cm
7.	<i>Pseudomonas calcis</i>	0,25 cm



Gambar 1. Penampakan beberapa isolat potensial.



Gambar 2. Penampakan ujiantang menggunakan teknik Maeda (1994).

KESIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian di perairan Teluk Lampung ini telah diperoleh antara lain 6 buah strain bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada ikan kerapu, 28 buah strain bakteri heterotrofik kandidat bakteri penghambat patogen pada budidaya

ikan kerapu, 7 buah strain bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada budidaya ikan kerapu. Tiga strain diantaranya spesifik menghambat *Vibrio harveyi*. Pada ketujuh strain ini akan dilakukan uji daya hambat untuk mengetahui kemampuannya menghambat bakteri patogen pada budidaya ikan kerapu.

DAFTAR PUSTAKA

- Baticados, M.C.L. and J.D. Paclibare., 1992. The use of chemotherapeutic agent in aquaculture in The Philippines. P: 531 - 546. In M. Shariff, R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds.). Disease in Asian Aquaculture I, Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Barrow, G.I. and D.C. Miller, 1976. *Vibrio parahaemolyticus* and seafoods. P: 182 - 184. In : Microbiology in Agriculture, Fisheries and Foods (F.A. Skinner & J.G. Carr eds). Academic Press, London.
- Bessie, O. 1988. Characteristic of bacteria isolated from diseased grouper, *Epinephelus salmoides*. Aquaculture, 73: 7 - 17.
- Chua, F.C.H., M.L. Ng., J. J. Loo and J.Y. Wee. 1994. Investigation of outbreak of novel diseases, sleepy grouper diseases, affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. Journal of Fish Diseases, 17: 417 - 427.
- Leong, T.S. 1994. Parasites and diseases of cultured marine finfish in South East Asia. School of Biological Sciences, University Sains Malaysia. 25 p.
- Maeda, M. 1994. Biocontrol of the larvae rearing biotype in aquaculture. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, Suppl 1 : 71 - 74.
- Nash, G., I.G. Anderson, M. Shariff and M.N. Shamsudin. 1987. Bacteriosis Associated with epizootic in the giant sea perch, *Lates calcarifer*, and the estuarine grouper, *Epinephelus tauvina*, cage cultured in Malaysia. Aquaculture, 67 : 105 - 111.
- Roza, D. 1993. Pengendalian populasi bakteri *Vibrio harveyi* di hatchery Udang Windu. Prosiding Simposium Perikanan Indonesia I, Puslitbangkan No. 18 Jakarta : 89 - 92.
- Roza, D. 1995. Uji coba penggunaan *Flavobacterium sp.* sebagai kontrol biologi (Biocontrol) untuk pengendalian *Vibrio harveyi* di hatchery udang windu (*Peneaus monodon*). Disajikan pada seminar Ilmiah XIV dan Kongres Biologi XI, UI, Depok : 10 halaman.
- Rukyani. A., 1993. Penanggulangan Penyakit udang windu, *Peneaus monodon*. dalam Hanafi, A., M. Atmomarsono, dan S. Ismawati (Eds.). Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros 16 - 19 Juli 1993. P. 1 - 8.
- Saeed, O. 1995. Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine fish in Kuwait. Aquaculture, 136: 21 - 29.
- Shickney, R. R., 2000. Encyclopedia of aquaculture. John Wiley and Sons. Inc. 418 - 421
- Wong, S. Y., T.Y. Lee and T.S. Leong. 1990. Cross protection of vibrio vaccine against various pathogenic vibrio obtained from diseased grouper (*Epinephelus salmoides*). The Second Asian Fisheries Forum Manila, Phillipines, p. 683 - 687.
- World Health Organization, 1977. Guidelines for health related monitoring coastal water quality. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen : 165 pp.