

Identifikasi Dan Uji Postulat Koch Cendawan Penyebab Penyakit Pada Ikan Gurame

Identification and Koch Postulate Test of Fungal Causative Disease in Gouramy Fish

S. Nuryati, F. B. P. Sari, dan Taukhid

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Mycotic diseases caused by aquatic fungi is often found in gouramy fish (*Osphronemus goramy* Lac.) at various stages from egg hatching to adult. Samples of fungi were isolated and identified from eggs and fish indicated with fungal diseases infection. *Saprolegnia* was identified in infected egg whereas *Aphanomyces* sp. was identified in the internal part (underneath lesion) of gouramy fish. Postulate Koch tests was further confirmed that both species could infect gouramy fish.

Keyword : Gouramy, fungi, *Saprolegnia* and *Aphanomyces*

ABSTRAK

Penyakit mikotik yang disebabkan oleh cendawan akuatik sering ditemui pada ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lac.) dari fase penetasan telur sampai ukuran dewasa. Dari isolasi dan identifikasi yang dilakukan terhadap telur yang terinfeksi dan permukaan tukak diperoleh cendawan *Saprolegnia*, sedangkan isolasi dan dan identifikasi dari bagian internal (dibawah tukak) ikan gurame diperoleh cendawan *Aphanomyces* sp. Dari uji reinfeksi dengan menggunakan Postulat Koch diperoleh hasil bahwa cendawan *Saprolegnia* yang diisolasi dari telur gurame maupun cendawa cendawan *Aphanomyces* dari tukak dapat menginfeksi ikan gurame.

Kata kunci : gurame, cendawan, *Saprolegnia* dan *Aphanomyces*

PENDAHULUAN

Usaha perikanan terutama budidaya telah berkembang pesat dan diusahakan secara intensif dengan ciri padat penebaran yang tinggi dan lingkungan yang terkontrol. Hal ini memerlukan manajemen yang baik agar menghasilkan komoditas yang berkualitas. Dalam pengelolaannya, seringkali terdapat kendala yang berpeluang menghambat kelancaran usaha budidaya. Salah satu kendala tersebut adalah penyakit yang berimplikasi negatif terhadap produktifitas komoditas budidaya. Munculnya serangan penyakit disebabkan oleh interaksi yang tidak serasi antara inang, patogen dan lingkungan (Afrianto dan Liviawaty, 1992). Interaksi yang tidak serasi mengakibatkan stres pada ikan sehingga melemahkan mekanisme pertahanan diri dan ikan mudah terserang penyakit. Salah satu

jenis penyakit yang sering dijumpai pada usaha budidaya bik pembenihan maupun pembesaran adalah penyakit yang disebabkan oleh cendawan.

Ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lac.) termasuk salah satu komoditas budidaya yang dapat terserang penyakit cendawan (Arsyad dan Hadaimi, 1989). Penyakit cendawan mudah sekali menyerang telur, benih maupun ikan dewasa yang telah mencapai ukuran konsumsi. Mengingat nilai ekonomis ikan gurame sampai saat ini masih cukup tinggi, maka diperlukan usaha pencegahan penyakit yang dapat menghambat atau mengganggu usaha budidayanya. Walaupun cendawan yang menyerang ikan terlihat tidak berbahaya, tapi dalam keadaan parah dapat menyebabkan kematian pada ikan. Oleh karena terbatasnya informasi mengenai penyakit yang disebabkan oleh cendawan, termasuk yang

menyerang ikan gurame, maka perlu dilakukan penelitian yang berhubungan dengan penyakit ini. Penelitian ini bertujuan untuk menggali informasi mengenai jenis cendawan yang menyerang ikan gurame sehingga dapat mendukung langkah penanggulangan serangan cendawan.

BAHAN & METODE

Sterilisasi Alat dan Media

Sterilisasi alat dan media merupakan syarat penting dalam keberhasilan isolasi dan identifikasi cendawan dari suatu spesimen yang diperiksa sehingga cendawan yang bertanggung jawab terhadap suatu infeksi dapat diidentifikasi dengan tepat. Sebelum digunakan, alat-alat yang akan digunakan direndam dalam larutan alkohol 70 % untuk mencegah kemungkinan terjadinya kontaminasi pada saat isolasi cendawan. Wadah yang digunakan juga harus dalam keadaan steril, yaitu telah melalui proses sterilisasi menggunakan autoklaf bertekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit. Demikian juga pada meja kerja yang akan digunakan sebagai tempat isolasi harus dibersihkan menggunakan larutan alkohol 70 %.

Pembuatan Media Cendawan

Sebagai media tumbuh bagi cendawan yang akan diisolasi, disiapkan media GYA (*Glucose Yeast Agar*) yang ditambah dengan antibiotik *penicili streptomycin* untuk mencegah kontaminasi bakteri. Komposisi media yang digunakan adalah:

- Akuades : 1 liter
- Glukosa : 5 gram
- Yeast ekstrak : 2,5 gram
- Agar : 15 gram
- *Penicilin streptomycin* : 10 ml (dosis 10.000 unit/ml)

Isolasi Cendawan dari Telur dan Ikan Gurame Sakit

Sampel berupa telur dan ikan gurame sakit dengan indikasi terserang cendawan dicuci menggunakan akuades. Cendawan yang ditemukan diambil dan ditanam pada

media yang telah disiapkan. Untuk mengetahui kemungkinan hifa cendawan menembus pada bagian internal ikan (daging), maka daging yang terletak dibawah sisik tempat tumbuhnya cendawan diambil sebesar 5 mm dengan metode aseptik dan ditanam pada media. Cendawan yang telah diinokulasi disegel menggunakan pita perekat dan diinkubasi pada suhu ruang yang berkisar antara 24 – 28 °C. Pengamatan pertumbuhan cendawan yang telah diisolasi dilakukan setelah 24 jam. Apabila cendawan tersebut tumbuh, maka dilakukan pemurnian isolat dengan menanam kembali pada media GYA tanpa antibiotik.

Penanaman pada Media Cair (*Broth*)

Cendawan yang tumbuh ditanam pada media cair (*Glucose Yeast* tanpa agar) dengan memotong hifa cendawan menjadi “mat” (potongan kecil) yang berukuran 3×3×3 mm secara aseptik. Penanaman ini bertujuan untuk mengamati proses sporulasi atau terbentuknya granul, kantung spora dan keluarnya spora setelah “mat” cendawan dalam media cair berumur 2 sampai 3 hari.

Identifikasi Jenis Cendawan

Setelah berumur 3 hari dan hifa dari “mat” cendawan telah berkembang dicuci menggunakan akuades steril dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 dan 200 kali. Pengamatan proses sporulasi berguna untuk identifikasi jenis cendawan yang diisolasi dari telur dan ikan gurame. Berdasarkan ciri yang diamati dari proses sporulasi dapat diketahui jenis atau genus cendawan yang menyerang telur atau ikan gurame.

Uji Reinfeksi Cendawan

Ikan gurame yang berukuran 5 inchi disiapkan untuk uji reinfeksi cendawan. Ikan dikondisikan dalam keadaan stres sehingga mekanisme penyerangan patogen (cendawan) mempunyai peluang yang besar. Ikan dilukai pada bagian sisi tubuhnya (dibawah sirip punggung) dengan mencabut sisiknya seluas 1 cm². Ikan dipindahkan dari wadah pemeliharaan yang bersuhu 28 °C ke akuarium berukuran 20×20×20 cm dengan

suhu 25 °C. Perubahan suhu mendadak diharapkan menjadi stresor bagi ikan sehingga meningkatkan peluang serangan cendawan. Kepadatan ikan masing-masing akuarium adalah 5 ekor/akuarium.

Selain diamati proses sporulasinya, hifa cendawan yang berkembang juga digunakan untuk uji reinfeksi dengan cara diinokulasikan dalam akuarium pemeliharaan ikan untuk masing-masing jenis cendawan. Pengamatan harian terhadap perubahan yang terjadi dilakukan sampai hari ke-7.

Reisolasi Cendawan

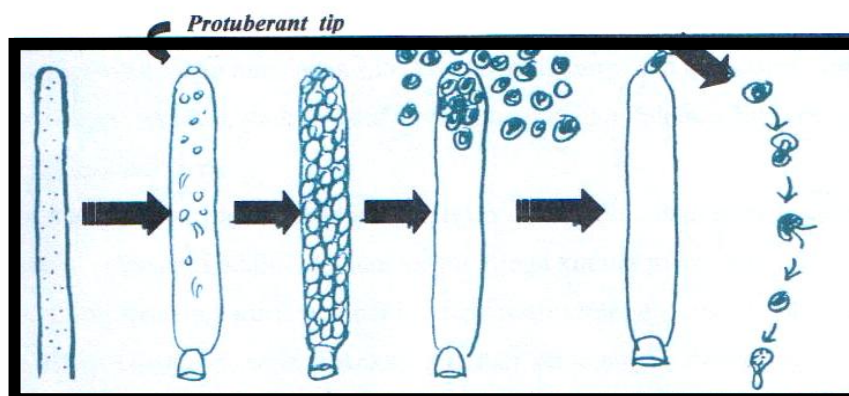
Proses reisolasi cendawan diambil dari ikan uji yang telah terserang cendawan dengan lukanya yang semakin parah. Reisolasi cendawan dilakukan dengan mengambil sisik yang ditumbuhi cendawan, mengambil cendawan yang lepas dari luka ikan dan mengangkat bagian permukaan luka yang ditumbuhi cendawan secara aseptik yang kemudian ditanam pada media yang telah tersedia. Otot daging yang berada dibawah permukaan luka diambil dengan memotong sedalam 5 mm, dibagi menjadi bagian yang lebih kecil (2 mm) dan ditanam pada media GYA yang telah ditambahkan antibiotik. Pengamatan pertumbuhan cendawan dilakukan setiap hari. Pemurnian isolat dilakukan terhadap cendawan yang tumbuh. Data yang diperoleh berupa karakteristik cendawan dan hasil reinfeksi dengan uji Postulat Koch dianalisis secara deskriptif.

HASIL & PEMBAHASAN

Pengamatan Mikroskopis

Karakteristik mikroskopis cendawan yang diamati meliputi bentuk hifa dan sistem sporulasi (bentuk dan jumlah kantung spora). Cendawan yang menginfeksi telur ikan gurame adalah *Saprolegnia* sp., sedangkan cendawan *Aphanomyces* sp. menyerang bagian eksternal (sisik dan kulit) maupun internal (daging) ikan gurame yang berukuran 8 inchi. Cendawan *Aphanomyces* sp. bersifat parasitik dengan kantung spora lebih dari satu dan keluar dari bagian samping hifa. Secara mikroskopis, struktur hifa cendawan *Saprolegnia* sp. relatif lebih tebal dibandingkan dengan *Aphanomyces* sp. Walaupun keduanya termasuk dalam satu famili, namun memiliki ciri yang berbeda dan mudah dibedakan terutama proses sporulasinya. Parameter yang diamati dalam proses identifikasi cendawan dapat dilihat pada tabel 1.

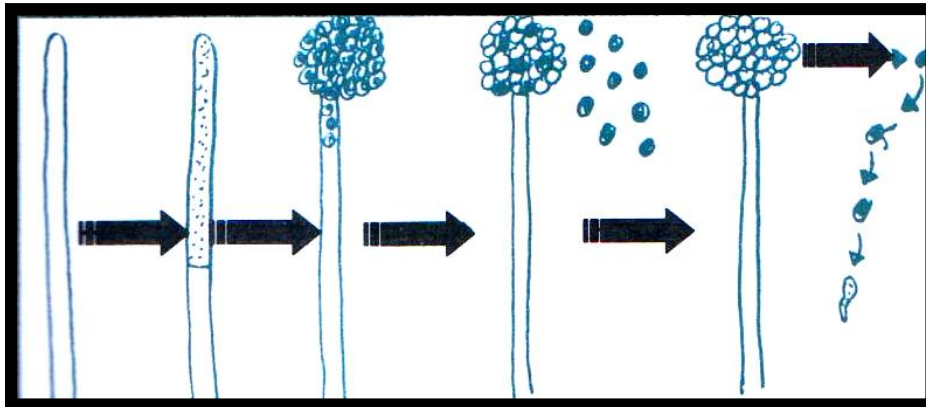
Kantung spora cendawan *Saprolegnia* sp. berbentuk memanjang dan menggembung yang merupakan diferensiasi dari hifa vegetatif. Spora berkembang memadati sporangium dan bergerak dari arah hifa menuju sporangium. Menurut Sharma (1994), pada saat spora lepas, ujung sporangium (*Protuberant tip*) pecah, spora keluar dalam keadaan terbalik (didahului oleh posterior yang bertekstur kasar) dan keluar tanpa membentuk kista di ujung sporangium (langsung menyebar). Setelah semua spora lepas, sporangium segera memperbarui diri dan berkembang menjadi sporangium baru.



Gambar 1. Proses sporulasi cendawan *Saprolegnia* sp.

Sedangkan cendawan *Aphanomyces* sp. memiliki sporangium yang lebarnya sama dengan hifanya. Zoospora dibentuk dari hifa vegetatif yang berkembang dalam sebuah deretan tunggal dan muncul pada ujung sporangium dalam bentuk memanjang, kemudian menjadi kista di sekitarnya (Gambar 2). Hifa *Aphanomyces* sp. sedikit

bercabang, tidak bersepta dan berpigmen. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mc. Kenzie dan Hall (1076) dalam Lilley *et al* (1992) tentang ciri-ciri *Aphanomyces* sp. Dari hasil identifikasi ditemukan bahwa *Aphanomyces* sp. bersifat parasitik karena menghasilkan kantung spora lebih dari satu dan keluar dari samping hifa.



Gambar 2. Proses sporulasi cendawan *Aphanomyces* sp.

Tabel 1. Hasil identifikasi cendawan yang diisolasi dari telur dan tubuh ikan gurame.

Parameter	<i>Saprolegnia</i>		<i>Aphanomyces</i>	
	Pustaka	Hasil	Pustaka	Hasil
Diameter hifa	Less than 100 μm (20 μm)	6,6 – 13,3 μm	5 – 15 μm	6,6 – 26,6 μm
Proliferasi :				
▪ Ukuran sporangium	Up to 100 μm	< 100 μm	5 – 15 μm (sama dengan hifa)	13,3 μm
▪ Bentuk sporangium	Hifa membengkak	Menggembung, lebih lebar dari hifanya	Sama dengan hifa	Sama dengan hifa
Tipe Sporulasi	Spora bergerak dari arah hifa, memadati sporangium keluar dengan memecah ujung sporangium dan langsung menyebar (tidak <i>encyst</i>)	Spora berkembang memadati sporangium dan keluar melalui ujungnya dan langsung menyebar (tanpa <i>encyst</i>)	Spora membentuk kista (<i>encyst</i>) berupa bola di mulut sporangium	Spora membentuk kista (<i>encyst</i>) berupa bola di mulut sporangium
Internal/eksternal	Eksternal	Eksternal	Internal	Internal dan eksternal
Spora:				
▪ Motil	√	√	√	√
▪ Non motil	–	–	–	–
▪ Ukuran	5 μm	3,3 – 10 μm	6 – 15 μm	6,6 μm
Spora yang lepas	Menyebarkan	Menyebarkan	Menyebarkan	Menyebarkan

Pengamatan Makroskopis

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati perubahan luka dan tingkah laku ikan gurame yang diinfeksi dengan cendawan yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi. Luka ikan yang diinfeksi dengan *Saprolegnia* sp. mulai memerah pada hari ke-5 dan cendawan yang tumbuh lepas bersama kulit ikan. Sebagian besar luka ikan terserang cendawan pada hari berikutnya, termasuk bagian tubuh lainnya termasuk sirip punggung dan sirip perut. Tingkah laku ikan cenderung tenang namun aktif. Pada hari terakhir pengamatan, bagian luka hampir semua ikan ditumbuhi cendawan bahkan pada bagian permukaan kulit lain timbul luka akibat ditumbuhi cendawan. Sampai hari ke-7, tidak terjadi kematian pada ikan dan tingkah lakunya relatif normal.

Kedadaan luka ikan setelah proses reinfeksi oleh cendawan *Aphanomyces* sp. berwarna kemerahan dan terdapat selaput putih disekelilingnya. Hampir semua epidermis terkelupas sampai terlihat otot dagingnya bahkan sudah ditumbuhi cendawan pada bagian lukanya serta sirip punggung pada beberapa ikan. Luka sebagian besar ikan cenderung memerah sampai hari akhir pengamatan dan ditumbuhi cendawan walaupun sedikit serta sirip ekor mengalami erosi. Ikan paling kecil mengalami kerusakan paling parah pada sirip ekor, punggung dan perut serta permukaan kulit.

Beberapa saat setelah ikan diinfeksi oleh *Saprolegnia* sp., ikan tampak gelisah dan berenang dengan arah gerak yang acak, namun kemudian ikan mulai bisa bergerak normal dan tenang. Hal ini terjadi karena setelah ikan dilukai, secara tiba-tiba dipindahkan dari media bersuhu 28 °C ke wadah yang lebih kecil dengan suhu 25 °C serta kepadatan yang lebih tinggi (6 ekor/5 liter).

Selama penelitian tidak dilakukan pemberian pakan untuk mempercepat mekanisme penyerangan cendawan. Dengan kondisi lingkungan yang tidak menunjang diharapkan terjadi interaksi yang tidak seimbang antara ikan (inang), cendawan (patogen) dan lingkungan yang pada akhirnya ikan tidak mampu mempertahankan diri dari serangan cendawan. Menurut

Afrianto dan Liviawaty (1992), pengaruh stres terhadap menurunnya ketahanan ikan terjadi secara hormonal. Ikan stres mempunyai respon humoral (antibodi) dan respon seluler (fagositik) yang relatif rendah sehingga tidak mempunyai kemampuan yang memadai terhadap serangan penyakit.

Sebelum cendawan berhasil menginfeksi ikan, terlebih dahulu harus menghadapi sistem pertahanan pada tubuh ikan yaitu lendir, sisik dan kulit. Dengan mengerik lendir dan mengambil sisiknya sehingga diharapkan mekanisme penyerangan patogen (cendawan) lebih cepat dan mudah. Hal ini terbukti bahwa dari hari ke hari tampak luka yang ditumbuhi cendawan dan tampak berwarna merah. Warna merah merupakan respon inflamasi yang dilakukan ikan apabila terjadi luka atau serangan patogen yang ditandai dengan rasa sakit, bengkak atau warna kemerahan dalam keadaan akut.

Sebagai genus yang tergabung dalam kelompok Oomycetes, *Saprolegnia* sp. berkembang biak pada ikan yang mengalami luka fisik, stres atau mengalami infeksi (Pickering dan Willoughby, 1982a dalam Bruno dan Wood, 1999). Penyebaran cendawan ini terjadi secara langsung tanpa adanya inang perantara yang rumit. Walaupun cendawan *Saprolegnia* sp. yang digunakan pada uji reinfeksi diisolasi dari telur gurame, namun terbukti mampu menginfeksi ikan gurame, tidak hanya bagian luka, namun juga pada bagian tubuh lainnya seperti sirip punggung dan sirip perut. Sampai hari terakhir pengamatan, tingkah laku ikan cenderung normal, walaupun sekujur tubuhnya (termasuk bagian luka) ditumbuhi cendawan. Tidak adanya ikan yang mati serta perilaku yang normal dimungkinkan karena jumlah sel spora yang diinokulasikan relatif sedikit yaitu 97 sel/ml.

Kondisi ikan gurame yang diinfeksi oleh cendawan *Aphanomyces* sp. menunjukkan tingkah laku gelisah dan berenang dengan arah gerakan acak. Hal ini merupakan fenomena yang wajar sebagai mekanisme penyesuaian diri terhadap lingkungan yang baru dan terjadi hanya dalam waktu singkat. Beberapa hari setelah perlakuan, luka yang tampak pada beberapa

ikan berwarna agak kemerahan dengan selaput putih pada sekeliling luka dan epidermis mengelupas sehingga terlihat otot dagingnya. Sedangkan luka pada ikan yang lain mulai ditumbuhi cendawan walaupun sedikit. Selaput yang tampak pada sekeliling luka merupakan bentuk respon seluler (fagositik) sebagai mekanisme pertahanan ikan terhadap serangan penyakit, sedangkan luka yang memerah merupakan suatu respon inflamasi. Pengamatan lebih lanjut menunjukkan bahwa luka pada sebagian besar ikan tetap memerah dan ditumbuhi cendawan walaupun sedikit, sirip ekor juga mengalami erosi. Luka yang tetap memerah menandakan bahwa sel darah putih yang menyusun sistem pertahanan relatif kurang sehingga tidak mampu bekerja optimal dalam merespon dan menyembuhkan luka. Hal ini semakin diperparah oleh keadaan lingkungan yang sangat buruk, dengan banyaknya feses pada dasar akuarium dan air yang keruh. Selanjutnya dapat diamati bahwa ikan yang berukuran paling kecil mengalami luka yang cukup parah. Tidak hanya pada bagian yang sengaja dilukai untuk perlakuan infeksi, namun juga pada bagian tubuh yang lain (hampir seluruh permukaan tubuh). Ikan juga mengalami kerusakan sirip ekor, punggung dan perut yang parah. Hal ini menunjukkan bahwa ikan yang berukuran lebih kecil memiliki tingkat kerentanan yang lebih besar terhadap serangan penyakit dibandingkan dengan ikan yang berukuran lebih besar. Tidak adanya pemberian pakan selama pengamatan juga mendukung mekanisme serangan patogen kedalam tubuh ikan. Ikan tidak mendapat suplai energi dari luar tubuhnya sehingga cadangan energi yang dimiliki digunakan untuk mempertahankan diri. Sampai hari terakhir pengamatan (Hari ke-7), luka ikan masih tampak memerah bahkan berlubang. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi luka menjadi semakin parah dan kemungkinan miselium atau hifa cendawan berhasil menembus daging. Disamping itu, terlihat banyak cendawan yang lepas dari luka ikan dan tersebar pada lingkungan pemeliharaan sehingga memungkinkan bertambahnya jumlah zoospora dalam lingkungan tersebut.

Untuk memastikan cendawan yang diinfeksi ke dalam tubuh ikan berasal dari cendawan yang diinokulasikan pada uji reinfeksi, maka dilakukan reisolasi cendawan dari ikan gurame hasil uji (Postulat Koch). Cendawan tersebut diisolasi kembali dan ditanam pada media GYA yang telah ditambahkan antibiotik *penicillin streptomycin*. Pencampuran antibiotik tersebut bertujuan untuk mencegah pertumbuhan bakteri sehingga dapat memudahkan untuk mendapat isolat cendawan yang diinginkan. Cendawan *Saprolegnia* sp. dan *Aphanomyces* sp. yang direisolasi akan tumbuh dalam media GYA yang telah ditambah antibiotik setelah 2 – 3 hari. Hifa akan muncul dan berkembang menjadi koloni yang bersumber dari sisik, sirip, permukaan kulit dan cendawan yang lepas dari luka ikan. Dari potongan urat daging ikan juga diambil dan diisolasi untuk membuktikan adanya serangan cendawan pada bagian daging.

Hasil reisolasi menunjukkan bahwa cendawan *Saprolegnia* sp. tidak menembus kedalam urat daging ikan uji, sedangkan hifa *Aphanomyces* sp. berhasil tumbuh pada urat daging ikan uji. Hal ini membuktikan bahwa luka yang semakin merah dan berlubang mengandung hifa *Aphanomyces* sp. yang mampu menembus kulit hingga bagian dalam tubuh dan masuk dalam otot daging yang menjadi inangnya (Susanto, 1999).

Koloni yang diperoleh dimurnikan dan ditanam pada media GYA. Dari hasil pemurnian menunjukkan bahwa koloni cendawan *Saprolegnia* sp. berwarna putih kecokelatan dengan permukaan seperti kapas, menonjol dan bundar. Sedangkan koloni cendawan *Aphanomyces* sp. secara visual terlihat berwarna putih dengan permukaan rata dan tipis. Reisolasi cendawan yang dilakukan terhadap potongan daging ikan dibawah luka menghasilkan isolat cendawan *Aphanomyces* sp. yang bersifat parasitik. Ciri spesifik cendawan tersebut berupa kantung spora yang jumlahnya lebih dari satu dan keluar dari samping hifa (gambar 2). Cendawan *Aphanomyces* parasitik berbeda dengan yang bersifat saprofitik yang hanya menghasilkan satu kantung spora pada

bagian terminal (ujung) hifa (Fraser *et al.*, 1992 dan Roberts *et al.*, 1993).

KESIMPULAN

Jenis cendawan yang menyerang telur ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lac.) adalah *Saprolegnia* sp. Cendawan *Saprolegnia* sp. yang diinfeksi ke ikan ternyata tidak menyebabkan kematian sampai hari ke-7 walaupun kepadatan spora mencapai 97 sel/ml. Sedangkan *Aphanomyces* sp. yang bersifat parasitik terisolasi dari sisik, kulit dan daging ikan tersebut. Dengan kepadatan spora mencapai 105 sel/ml, cendawan *Aphanomyces* sp. tidak menyebabkan kematian sampai hari ke-7. Cendawan *Aphanomyces* sp. mampu menyerang bagian internal ikan gurame, sedangkan *Saprolegnia* sp. hanya menyerang bagian eksternal ikan atau tidak ditemukan pada urat daging ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. Dan E. Liviawaty. 1992. Pengendalian hama dan penyakit ikan. Kanisius. Yogyakarta. Hal 20 – 21.
- Arsyad, H. dan R. E. Hadaimi. 1989. Petunjuk praktis budidaya perikanan (suatu rangkuman). Penerbit PD. Mahkota. Jakarta 144 hal.
- Bruno, D. W. Dan B. P. Wood. 1999. Fish diseases and disorders, Volume 3: Viral, bacterial and fungal infections. FRS Marine Laboratory, PO BOX 101, Victoria Road, Aberdeen AB11 9DB, UK. P. 599 – 626.
- Fraser, C. G., R. B. Callinan and L. M. Calder. 1992. *Aphanomyces* species associated with red spot disease: An ulcerative disease of estuarine fish from eastern Australia. Journal of Fish Disease. 15: 173 – 181.
- Lilley, J. H., M. J. Phillips and K. Tonguthai. 1992. A Review of epizootic ulcerative syndrome (EUS) in Asia Aquatic Animal Health Institut – Kasetsart University Campus. Bangkok. 73 p.
- Roberts, R. J. Frerichs, G. N. and Milan, S. D. 1992. Epizootic ulcerative syndrome, the current position. In: M. Shariff, R. P. Subhasinghe and J. R. Arthur (eds). Disease in Asian Aquaculture I. Fish health section. Asian Fisheries Society, Manila.
- Sharma, O. P. 1994. Text book of fungi. Department of Botany. Meerut College. Meerut. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited. New Delhi. P. 74 – 75.
- Susanto. 1999. Pembesaran ikan air tawar. Kanisius. Yogyakarta.