

PENGARUH EKSTRAK SIDAWAYAH DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA UNTUK MENGATASI INFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla* PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

Sri Rahmaningsih

Ringkasan Permasalahan yang sering muncul dalam usaha budidaya ikan nila adalah serangan penyakit bakteri yang disebabkan oleh *Aeromonas Hydrophilla* atau biasa dikenal penyakit bercak merah “*Motil Aeromonas Septicemia*” (MAS). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sidawayah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophilla* secara in vitro; pengaruh pemberian berbagai konsentrasi sidawayah terhadap tingkat kelulushidupan dan jumlah koloni bakteri dalam ginjal ikan nila dan konsentrasi terbaik yang mampu memberikan tingkat kelulushidupan tertinggi pada ikan nila. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman sidawayah berpengaruh nyata terhadap tingkat kelulushidupan ikan nila ($P < 0,05$). Tingkat kelulushidupan ikan nila selama penelitian adalah 29% (A), 64% (B), 72% (C) dan 44% (D). Hasil penelitian menunjukkan pula perlakuan C (konsentrasi sidawayah 0,04%) merupakan perlakuan yang terbaik, dengan tingkat kelulushidupan ikan nila tertinggi sebesar 74%.

Keywords Ikan Nila, Bakteri *A. hydrophilla*, Sidawayah

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan budidaya air tawar yang ternilai ekonomis penting dan telah dibudidayakan secara intensif. Salah satu kendala yang dihadapi dalam budidaya intensif adalah penyakit ikan. Salah satu jenis penyakit ikan yang sering dijumpai adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophilla*, merupakan bakteri patogen penyebab penyakit “*Motil Aeromonas Septicemia*” (MAS), terutama untuk spesies ikan air tawar di perairan tropis. Bakteri ini termasuk patogen oportunistik yang hampir selalu ada di air dan siap menimbulkan penyakit apabila ikan dalam kondisi kurang baik. Penyakit yang disebabkan *Aeromonas hydrophilla* berakibat bercak merah pada ikan dan menimbulkan kerusakan pada kulit, insang dan organ dalam [1]. Penyebaran penyakit bakterial pada ikan umumnya sangat cepat serta dapat menimbulkan kematian yang sangat tinggi pada ikan-ikan yang diserangnya [2]. Salah satu alternatif dalam mengobati penyakit bakterial pada ikan adalah menggunakan bahan-bahan alami yang mempunyai kemampuan anti bakteri antara

lain ekstrak bawang putih untuk mengobati benih ikan lele yang terinfeksi *A. hydrophilla* [3]; ekstrak air kunyit untuk mengobati *Pseudomonas aeruginosa* pada ikan gurame [4]. Salah satu tumbuhan yang potensial untuk diujicobakan sebagai antibakteri pada ikan adalah tumbuhan sidawayah (*Woodfordia fruticosa* (L) Kurz). [5] menerangkan bahwa perasan daun sidawayah dalam air mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penggunaan sidawayah untuk pengobatan penyakit ikan, khususnya penyakit bakterial pada ikan belum banyak diujicobakan. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui :

1. Pengaruh sidawayah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophilla* secara in vitro
2. Pengaruh berbagai konsentrasi sidawayah terhadap tingkat kelulushidupan ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*.
3. Pengaruh peredaman sidawayah dengan konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah koloni bakteri *A. hydrophilla* didalam ginjal ikan nila.
4. Konsentrasi sidawayah terbaik yang mampu mengobati infeksi *A. hydrophilla* pada ikan nila dan memberikan tingkat kelulushidupan tertinggi pada ikan nila.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Ilmu Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan UNIROW Tuban. Waktu penelitian adalah bulan Januari-April 2007. Metode penelitian yang dipergunakan adalah metode eksperimental yang dilakukan di laboratorium. Metode eksperimental adalah suatu usaha terencana untuk memperoleh fakta baru atau untuk memperkuat teori baru maupun membantah hasil-hasil penelitian yang telah ada [6].

Prosedur Penelitian

1. Penyediaan wadah uji ebelum digunakan, wadah uji dibersihkan dan didesinfeksi terlebih dahulu dengan chlorine konsentrasi 10 ppm, selama 30 menit, kemudian dibilas dengan air bersih dan dikeringkan.
2. Pembuatan larutan sidawayah serbuk sidawayah seberat 4 g dilarutkan dalam 100 ml air, kemudian dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90°C, selanjutnya dilakukan penyaringan pada saat larutan sidawayah panas ke dalam Erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil [7]. Larutan ini adalah larutan stock dengan konsentrasi 5% untuk uji in vitro.
3. Penyediaan peralatan mikrobiologis sebelum digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan *autoclave* pada tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit.
4. Penyediaan media tumbuh bakteri *A. hydrophilla* Media yang dipergunakan adalah media agar padat *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan media *Tryptic Soy Broth* (TSB) cair dan uji API 20 E untuk identifikasi bakteri.

Adaptasi ikan uji Sebelum dilakukan infeksi pada ikan uji, terlebih dahulu dilakukan adaptasi selama 1 minggu didalam wadah penelitian. Tujuan adaptasi adalah untuk mengetahui tingkat kesehatan ikan yang akan digunakan dalam penelitian. Apabila selama adaptasi terjadi kematian 10%, maka ikan uji tidak layak digunakan dalam penelitian [1].

Kultur Bakteri Kultur bakteri *A. hydrophilla* dilakukan pada media TSA plate dengan menggunakan jarum ose, selanjutnya diinkubasi + 24 jam dalam incubator dengan suhu 35°C, sehingga bakteri yang dikultur adalah hasil kultur ulang dengan umur inkubasi + 24 jam.

Penelitian Pendahuluan

1. Uji MIC bakteri *A. hydrophilla* terhadap Sidawayah untuk mengetahui konsentrasi minimal Sidawayah yang

dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophilla* dilakukan uji MIC secara in vitro dengan metoda pengenceran "Serial Tube Dilubation" [8].

2. Uji ketahanan hidup ikan nila terhadap sidawayah bertujuan untuk mengetahui konsentrasi sidawayah yang bisa meracuni ikan uji. Uji ini menggunakan konsentrasi sidawayah dari uji MIC, dan tiap-tiap konsentrasi sidawayah tersebut dilihat pengaruhnya terhadap tingkat kematian ikan nila.
3. Uji patogenitas *A. hydrophilla* terhadap ikan nila bertujuan untuk mengetahui konsentrasi bakteri yang dapat menyebabkan 50% kematian ikan uji. Selanjutnya konsentrasi bakteri yang didapat akan digunakan dalam infeksi pada uji utama.

Metoda infeksi yang digunakan adalah penyuntikan. Tiap ikan diinfeksi dengan 0,1 mL larutan bakteri *A. hydrophilla* yang berumur + 24 jam melalui penyuntikan *intramuscular* [3]. Kepadatan bakteri yang diinjeksikan adalah 104 sel/mL. Ikan dipelihara dalam akuarium yang diaerasi secara terus-menerus. Kepadatan bakteri ini berdasarkan pada penelitian pendahuluan, yaitu uji patogenitas terhadap ikan nila. Ikan uji direndam dalam larutan sidawayah dengan konsentrasi A = 0%; B = 0,20%, C = 0,40% dan D = 0,60% yang telah ditetapkan berdasarkan pada uji MIC dan uji biologis.

Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini meliputi :

1. Gejala klinis; pengamatan gejala klinis meliputi perubahan tingkah laku, kondisi eksternal dan internal pada tubuh ikan. Data gejala klinis diamati pada saat infeksi bakteri *A. hydrophilla* dan selama pemeliharaan penelitian utama.
2. Kelulushidupan Ikan Nila (SR) dilakukan dari awal penelitian (hari ke-1 *treatment*) hingga akhir penelitian

(hari ke-7), berdasarkan rumus dari Effendy (1979), sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\% \quad (1)$$

dimana: SR = persentase kelangsungan hidup Nt = Jumlah ikan uji pada akhir penelitian No = Jumlah ikan uji pada awal penelitian.

3. Penghitungan jumlah koloni bakteri pada ginjal ikan nila dilakukan sebelum perlakuan (mulai munculnya gejala klinis), pada waktu 24 jam pasca perendaman dan pada akhir penelitian yaitu hari ke-7. Tujuannya untuk mengetahui jumlah koloni bakteri yang ada dalam ginjal ikan nila.

Analisa Data

Data kelulushidupan ikan nila dianalisa dengan analisis ragam, sedangkan data gejala klinis ikan uji, perhitungan jumlah koloni bakteri dan kualitas air dianalisa secara deskriptif. Sebelum analisis ragam dilakukan, maka dilakukan uji homogenitas dengan metoda Barlett, uji normalitas dengan metoda lilefors dan uji additifitas menurut tukey [6]. Bila dalam analisa ragam diperoleh beda nyata ($P < 0,05$) atau beda sangat nyata ($R < 0,01$), maka dilakukan uji wilayah ganda Duncan untuk mengetahui perbedaan diantara pengaruh perlakuan [6].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil uji pendahuluan tersebut dapat ditentukan untuk penelitian utama, diantaranya : a. Dari uji MIC diketahui konsentrasi sidawayah terendam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophilla* adalah 0,20%, selanjutnya digunakan sebagai dasar penentuan konsentrasi pada uji utama. b. Jumlah bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan pada uji utama adalah 1,01 x 104 CFU/mL. c. Lama waktu pengamatan untuk penelitian utama adalah 151,36 jam atau + 7 hari.



Gambar 1 Ikan nila yang terserang bakteri *A. hydrophilla*

Dari hasil pengamatan gejala klinis ikan nila setelah diinfeksi *A. hydrophilla* adalah adanya bercak kemerahan di sekitar tubuh ikan nila uji, perdarahan pada sirip ekor dan punggung dan terjadinya luka pada daerah bekas suntikan. Hal ini terlihat pada waktu 24 jam pasca infeksi. Selain itu, pergerakan tingkah laku ikan tidak normal, hal ini terlihat dengan pergerakan renang yang lambat, warna tubuh menjadi lebih gelap, ikan sering berada di dasar akuarium, lendir yang berlebihan dan respon terhadap makanan menurun. Pada hari ke dua pasca infeksi, sirip ekor dan punggung ikan uji terlihat geripis dan bagian perut juga terlihat buncit karena berisi cairan.

Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *A. hydrophilla* dalam ginjal ikan nila dilakukan sebelum perlakuan (mulai munculnya gejala klinis), pada waktu 24 jam pasca peredaman dan akhir penelitian. Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *A. hydrophilla* dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil pengamatan terhadap kelulus hidupan ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophilla* dengan waktu 7 hari setelah diberi perlakuan perendaman sidawayah selama 30 menit dan dilakukan 3 hari berturut-turut tersaji pada Tabel 2.

Untuk mengetahui efek sidawayah terhadap suatu mikroorganisme dan untuk mengetahui konsentrasi minimum yang

Tabel 2 Data Kelulushidupan Ikan Nila (%)

Ulangan	Perlakuan			
	A	B	C	D
1	30	70	80	30
2	10	50	60	60
3	50	70	80	40
Rerata	30.00	63.33	73.33	43.33
SD	20.00	11.55	11.55	15.28

sudah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme tersebut dilakukan uji MIC secara *in vitro*. Indikator tidak adanya pertumbuhan bakteri dapat dilihat dari media TSB yang jernih, sedangkan apabila ada pertumbuhan pada media TSB terdapat warna kekuningan yang keruh. Dari hasil uji MIC menunjukkan bahwa sidawayah diduga mengandung senyawa aktif tannin [9], dengan konsentrasi 0,20% sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Dari uji ini pula, ditunjukkan bahwa sidawayah merupakan jenis antimikroba alami yang bersifat bakteriostatik. Hal ini dapat dilihat pada pengujian MIC pada konsentrasi sidawayah 0,20% tidak tumbuh pada *medium broth* (TSB) akan tetapi tumbuh pada media agar (TSA), sehingga pada konsentrasi sidawayah 0,20% tersebut bersifat bakteriostatik. Menurut [9] melaporkan bahwa daun, buah dan terutama bunga sidawayah kaya akan tannin. Tannin diduga mempunyai aktivitas antimikroba yang mekanismenya sama dengan senyawa fenolik dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri [10].

Gejala klinis yang timbul pada ikan uji selama penelitian berlangsung adalah gerakan ikan menjadi lambat, ikan cenderung diam di dasar akuarium; luka/borok pada daerah suntikan; perdarahan pada bagian pangkal sirip ekor dan sirip punggung, dan pada perut bagian bawah terlihat buncit dan terjadi pembengkakan. Ikan sebelum mati naik ke permukaan air dengan sikap berenang yang labil. Gejala ini pernah pula dilaporkan oleh [11] bahwa tanda-tanda umum dari ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydro-*

Tabel 1 Data jumlah koloni bakteri *A. hydrophilla* ($\times 10^6$ CFU/mL) yang diisolasi dari ginjal ikan nila

Perlakuan	Ulangan	Sebelum Perlakuan	24 jam Pasca perendaman	Akhir Perlakuan
A	1	4.94	6.31	6.97
	2	4.25	5.96	6.25
	3	5.00	6.84	5.79
Rerata		4.73	6.37	6.33
B	1	5.26	3.83	3.02
	2	5.91	3.71	2.84
	3	4.52	4.02	2.96
Rerata		5.23	3.85	2.94
C	1	4.41	2.88	1.70
	2	4.95	2.69	1.50
	3	3.86	2.57	1.63
Rerata		4.41	2.71	1.61
D	1	4.64	2.44	1.67
	2	4.04	2.51	2.11
	3	4.80	2.74	2.04
Rerata		4.49	2.56	1.94

philla adalah ikan bergerak lamban, mengambil oksigen di permukaan air atau diam di dasar perairan, tidak mau makan, sirip rusak, luka pada kulit sampai ke otot, *exophthalmus* (mata menonjol), perut membengkak berisi cairan kemerahan, darah dan jaringan yang teresrang menjadi tidak berfungsi. Gejala penyakit tersebut timbul 48 jam setelah ikan terinfeksi. Setelah direndam pada hari ke-2 pasca infeksi, gejala klinis ikan uji mulai terlihat semakin berkurang dan ikan menjadi sembuh pada hari ke-5 pasca perendaman pada perlakuan konsentrasi 0,60% (D), diikuti berturut-turut oleh perlakuan konsentrasi 0,40% (C), dan konsentrasi 0,20% (B). Sedangkan pada perlakuan A. (tanpa perendaman sidawayah), ikan uji yang terinfeksi *A. hydrophilla* banyak yang mengalami kematian + 70%.

Walaupun pada uji *in vitro*, sidawayah mampu menghambat bakteri secara efektif, akan tetapi pada uji *in vivo*, sidawayah bersifat tidak efektif. Kurang efektifnya kemampuan efek antibakteri sidawayah, diduga karena pada uji *in vivo*, bahan aktif dalam sidawayah tidak semuanya dapat diserap oleh tubuh dan

terjadi metabolisme oleh hati, sedangkan pada uji *in vitro*, diuji hanya berhadapan dengan bakteri *A. hydrophilla*. Hal ini sesuai dengan pernyataan [12], bahwa pada aktivitas obat antimikroba *in vivo* lebih rumit daripada *in vitro*, sebab tersebut tidak saja meliputi obat dan parasit tetapi ada pula faktor ketiga, yaitu inang (ikan). Jadi kurang efektifnya pemberian antibakteri alami (sidawayah) pada konsentrasi yang berbeda, secara peredaman, dapat disebabkan oleh adanya penetrasi obat ke dalam tubuh dan daya absorpsi tubuh terhadap obat dan relatif rendah. Penetrasi obat dan daya absorpsi yang relatif rendah dapat disebabkan karena konsentrasi obat yang kurang tinggi, kontak obat yang kurang lama, kelarutan obat yang relatif rendah, kemampuan obat berdifusi melintasi sel membran yang relatif rendah, serta bentuk obat, rute dan cara pemberian yang kurang tepat [13].

Hasil penelitian yang didapat menunjukkan bahwa peredaman sidawayah selama 30 menit dan dilakukan 3 hari berturut-turut, sampai dengan hari ke-7 (D-7) berpengaruh nyata terhadap presentase kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi

A. hydrophilla ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan pula bahwa perlakuan peredaman sidawayah dapat meningkatkan persentase kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophilla*. Hal ini dapat dilihat pada perhitungan persentase kelulushidupan tertinggi diperoleh pada perlakuan C (72%), kemudian diikuti perlakuan B (64%) dan perlakuan D (44%). Sedangkan perlakuan A rerata persentase kelulushidupan ikan nila paling rendah bila dibandingkan dengan perlakuan-perlakuan lainnya yaitu sebesar 29%. Pada perlakuan C (0,40%) memberikan kelulushidupan ikan nila yang lebih tinggi (72%) dibandingkan perlakuan lainnya. Diduga perlakuan tersebut merupakan konsentrasi yang tepat yang mengakibatkan sistem fungsionalis tubuh ikan tidak terganggu, sehingga proses penyerapan sidawayah dapat berlangsung baik. Mekanisme kerja tannin terhadap *A. hydrophilla* dalam tubuh ikan menurut [10], bereaksi dengan cara beraksi dengan sel membran bakteri inaktivasi enzim-enzim esensial bakteri dan destruksi atau inaktivasi fungsi dari material genetik bakteri. Tannin merupakan senyawa polifenol dengan bobot molekul tinggi. Senyawa fenol bekerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri, dan kerusakan tersebut sifatnya *irrevesibel* (Pelczar dan Chan, 1988 dalam [4], sehingga pertumbuhan bakteri dapat dihambat. Menurut [14], kesalahan sedikit saja dalam proses sintesis protein dapat menghentikan proses tersebut dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel. Menurut [15] bahwa patogen *A. hydrophilla* bersifat sistemik, yaitu disamping menyerang organ luar juga dengan flagelanya bergerak berputar-putar dan menempel sel inang dengan pelekatan. Kemampuan bakteri menyebabkan penyakit pada ikan disamping karena dapat membiak dengan cepat dalam tubuh ikan, juga bergerak aktif dengan flagelanya melalui aliran darah ke seluruh tubuh, sehingga dapat merusak organ dalam ikan seperti ginjal, hati dan limpa (Lallier and Daegneult (1984) da-

lam [16]. Dari uji plinomial orthogonal, dapat diketahui bahwa konsentrasi sidawayah 0,41% menghasilkan angka kelulus hidupan optimum yaitu 72,68%. Hal ini diduga pada konsentrasi 0,41%, senyawa aktif sidawayah (tannin) sudah mampu menghambat pertumbuhan *A. hydrophilla* dan belum menyebabkan gangguan fungsional pada tubuh ikan uji.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini diperoleh kesimpulan bahwa Sidawayah (*Woodfordia fruticosa*) mulai mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophilla* secara *in vitro* pada konsentrasi $> 0,20\%$. Perendaman sidawayah dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan nila yang diinfeksi. Perendaman sidawayah dengan konsentrasi yang berbeda tidak efektif dalam menurunkan jumlah koloni *A. hydrophilla* di dalam ginjal ikan nila. Perendaman sidawayah dengan konsentrasi 0,40% merupakan konsentrasi terbaik terhadap kelulushidupan ikan nila yang mencapai 72% setelah diinfeksi.

PUSTAKA

1. Komisi Pestisida Departemen Pertanian. 1983. *Pedoman Umum Pengujian Laboratorium Toksisitas Lethal Pestisida Pada Ikan Nila terhadap Infeksi Bakteri*. Fakultas Perikanan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. (Skripsi S1). 36 hlm.
2. Pusat Karantina. 1999. *Petunjuk Tehnis Perlakuan dan Pengobatan Pada Ikan*. Pusat Karantina Pertanian. Jakarta. 55 hal.
3. Mariyono, Puspitasari dan Sutomo. 2000. *Tehnik Uji Ketahanan Bibit Ikan Nila dan Nila terhadap bakteri Aeromonas hydrophila dengan berbagai kepadatan*. Buletin Tehnik Pertanian, 5(II) : 77-78
4. Soemardi, E., Utami P.I, Wakhid A. Sukardi, P. 2002. *Uji Antibakteri ekstrak Air Kunyit (Curcuma domestika Val) terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa pada ikan gurami (Osprnemosus gouramy Lac)*. Program Ilmu Perikanan dan Kelautan. Universitas Jendral Soedirman Purwokerto Vol 5 (1) : 12-15

5. Soedibyo, M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan* (Eds 1) Balai Pustaka, Jakarta, hlm 345-346
6. Srigandono, B. 1989. *Rancangan Percobaan*. Fakultas Perikanan Universitas Diponegoro. Semarang. 178 hal
7. Departemen Kesehatan RI. 1993. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA)*. (Ed 3). Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, hlm 319.
8. Bailey dan Scotts. 1994. *Diagnostic Microbiology*. Mosby Year Book, Westline Industrial Drive, USA. pp. 170-175.
9. Mutiatikum, D., 2003. *Plant Resources of South-East Asia, Medicinal and Poisonous Plants 3* dalam RHMJ Lemmens and N Bunyapraphatsara (penyunting), Backhuys Publisher, Leiden pp 419-420
10. Kabata, Z. 1985. *Parasites and Disease of Fish Cultured in the Tropics*. Taylor & Francis Linc, Philadelphia, London, 297 p.
11. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1986. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 753 hlm.
12. Anief, M. 1995. *Prinsip Umum dan Dasar Farmakologi*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 145 hlm.
13. Sari Puspita P., Ervival A.M.Z., C Hanny Wijaya dan Winiati P.R. 2001. *Potensi Antimikroba Ekstrak biji, daun, kulit akar dan kulit batang kedawung (Parkia timoriana DC Merr.) terhadap bakteri patogen dan perusak makanan dalam Proseding Seminar Nasional XIX Tumbuhan Obat Indonesia*, Pokjanas dan Pusat Penelitian Pengembangan Perkebunan Bogor, hlm. 289-298
14. Austin, B and D.A. Austin. 1987. *Bacterial Fish Pathogens : Disease in Farmed and Wild Fish*. Ellis Howood Limited, Chichester, England. pp 34-177.
15. Volk, W.A dan M.F. Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi 5 jilid 1 Erlangga, Jakarta. 341 hal.
16. Komarudin. 2000. *Pengaruh Pemberian Berbagai Dosis Nitrofurantoin terhadap Kelangsungan Hidup Ikan Patin yang Diinfeksi A. hydrophilla*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. (Skripsi S1). 52 hlm.

