

## VIBRIOSIS PADA IKAN DAN ALTERNATIF CARA PENANGGULANGANNYA

Kamiso H.N. \*)

### Pengantar

Vibriosis merupakan penyakit bakterial yang sangat merugikan dalam usaha budidaya ikan di laut karena dalam waktu yang sangat singkat dapat menimbulkan tingkat kematian yang tinggi (Egidius dan Andersen, 1984). Menurut Sawyer (1978) vibriosis dapat mengakibatkan tingkat kematian lebih dari 80% pada budidaya jaring apung. Untuk udang, baik di panti pembenihan maupun di tambak dapat mencapai mortalitas 100% (Chen dkk., 1992). Penyakit ini telah diketemukan oleh Canestrini pada tahun 1893 di Italia (Groberg, 1981). Tetapi saat ini vibriosis merupakan penyakit yang terdapat diseluruh dunia dimana usaha budidaya ikan laut dan air payau dilakukan (Wolke, 1975; Kitao dkk., 1983; Yong dan Seng, 1990; Chen dkk., 1992; Lupiani dkk., 1993; Larkins, 1993).

Di Indonesia bakteri ini bersama-sama beberapa jenis virus merupakan penyakit yang sangat merugikan usaha budidaya udang baik pembenihan maupun pembesaran (Sunaryanto dan Mariam, 1987; Larkins, 1993).

Penyebab penyakit vibriosis adalah bakteri *Vibrio* spp. Saat ini telah dikenal sekitar 20 spesies yang menyerang baik ikan (Schiewe, 1983), moluska (Sinderman, 1988a, 1988b), crustacea termasuk kepiting, lobster (Rosemark, 1988) dan berbagai jenis udang (Chen dkk., 1992; Larkins, 1993). Namun dari sekitar 20 spesies yang diketahui, yang dikenal di seluruh dunia sangat merugikan karena sangat ganas adalah *Vibrio anguillarum*. Untuk itu maka sifat

*V. anguillarum* lebih banyak diketahui dibanding spesies *Vibrio* yang lain karena banyaknya penelitian yang telah dilakukan.

Selain di air laut ternyata Ohnishi dan Muroga (1976) menemukan bakteri *Vibrio* sp. yang menyerang rainbow trout di air tawar. Setelah diidentifikasi ternyata mempunyai ciri-ciri yang sama dengan *V. anguillarum*. Kemudian di tahun-tahun berikutnya Muroga dkk., (1984a) dapat mengisolasi *V. anguillarum* dari ayu (*Plecoglossus altivelis*) yang tertangkap di air laut, air payau dan air tawar. Hacking dan Budd (1977) ternyata juga telah menemukan *V. anguillarum* yang menjadi penyebab timbulnya wabah di perairan air tawar di daerah tropis. Uraian tersebut menunjukkan bahwa *Vibrio* dapat menimbulkan masalah baik di air laut, payau atau air tawar. Terutama apabila memelihara spesies ikan yang sama di ketiga perairan tersebut. Kemungkinan lain adalah dibawa oleh ikan yang bermigrasi antara ketiga perairan tersebut.

### Keganasan

Di alam ternyata terdapat beberapa strain *V. anguillarum*. Apabila ikan terserang strain yang kurang ganas timbulnya gejala penyakit dan respon inflamatori sangat lambat. Tetapi apabila serangan dilakukan oleh strain yang ganas gejala yang ditimbulkan dan kematian berlangsung cepat. Gejala yang ditimbulkan dan waktu yang diperlukan disamping tergantung tingkat keganasan, juga jumlah bakteri yang menyerang dan daya tahan ikan. Dalam keadaan akut ikan mati sangat cepat

\*) Staf Pengajar Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian UGM

dan belum menunjukkan gejala penyakit yang jelas seperti pada yang kronis. *Vibrio anguillarum* yang ganas ternyata mempunyai kemampuan untuk melawan pertahanan ikan baik pertahanan spesifik maupun non spesifik (Crosa dkk., 1983). Salah satu faktor yang digunakan untuk melawan terhadap pertahanan ikan adalah plasmid. Untuk strain yang tidak ganas tidak memiliki plasmid seperti pada strain yang ganas (Crosa dkk., 1977). Menurut Crosa dkk., (1980) plasmid tersebut membawa determinan genetik untuk suatu komponen penting yang berfungsi sebagai faktor keganasan (*virulence factor*) dan kemampuan menginfeksi ikan.

Secara umum semua faktor keganasan akan meningkatkan daya tahan bakteri untuk hidup pada lingkungan yang antagonistik karena adanya mekanisme pertahanan inang. Salah satu alat pertahanan inang berupa protein, yaitu transferin dan laktoferin yang mengikat zat besi yang merupakan unsur esensial untuk pertumbuhan bakteri (Neilands, 1981). Protein tersebut menyebabkan kandungan zat besi dalam darah dan lapisan mukosa menurun atau kurang tersedia. Keadaan ini merupakan salah satu proses pertahanan non-spesifik (Bullen dkk., 1978). Namun untuk *V. anguillarum* yang memiliki plasmid mampu hidup dan berkembang karena mampu mengambil zat besi meskipun konsentrasinya rendah dan berkompetisi dengan transferin serta laktoferin (Crosa, 1980). Sedang bakteri yang tidak mempunyai plasmid akan sulit hidup apalagi untuk berkembang. Dalam rangka meningkatkan efisiensi pengambilan zat besi strain *V. anguillarum* yang mempunyai plasmid akan membentuk membran protein (OM2 dengan berat molekul 86000 dalton) dan Siderophore. Siderophore

dilepas ke luar sel dan berfungsi untuk mengikat ion Fe sehingga menjadi suatu kompleks Fe-Siderophore. Sedang membrane protein yang letaknya di luar dinding sel berfungsi sebagai reseptor terhadap kompleks Fe-Siderophore (Crosa dan Hodges, 1981).

Menurut Crosa (1980) dalam Crosa dkk., (1983) ada beberapa jenis plasmid yang dimiliki oleh berbagai strain *V. anguillarum*. Perbedaan jenis plasmid yang dimiliki akan menyebabkan perbedaan tingkat keganasan (Tabel 1).

Tabel 1  
Jenis plasmid dan tingkat keganasan  
(LD50) *Vibrio anguillarum*

No.	Jenis plamid	Kemampuan tumbuh pada media yang mengandung transferin	LD50 (sel/ml)
1.	pJM1	+	$1,2 \times 10^3$
2.	pJHC11	+	$2,5 \times 10^5$
3.	pJHC12	+	$4,0 \times 10^3$
4.	pJHC13	+	$1,5 \times 10^3$
5.	pJHC91	-	$6,0 \times 10^7$
6.	pJHC9-8	-	$7,0 \times 10^8$

Tabel 1 menunjukkan bahwa strain *V. anguillarum* yang memiliki plasmid pJM1, pJH11, pJHC12 atau pJHC13 tingkat keganasannya sangat tinggi. Sedang strain yang memiliki pJHC91 atau pJHC9-8 tingkat keganasannya rendah.

#### Resistensi terhadap obat-obatan

Disamping meningkatkan keganasan dan kemampuan menginfeksi, ternyata plasmid juga dapat meningkatkan resistensi *V. anguillarum* terhadap antibiotik. Hasil pengujian yang dilakukan Crosa dkk. (1980) menunjukkan bahwa semua strain *V.*

*anguillarum* yang mempunyai jenis plasmid yang tercantum dalam tabel 1 resisten terhadap ampicillin. Sedang yang tidak mempunyai plasmid bersifat sensitif.

Aoki dkk. (1985) juga melakukan uji resistensi 139 strain *V. anguillarum* dari berbagai daerah di Jepang terhadap sembilan jenis obat-obatan yaitu chloramphenicol, tetracycline, streptomycin, ampicillin, colistin, nalidixic acid, furazolidone, sulfamonomethoxine, dan trimethoprim. Hasil uji menunjukkan bahwa 137 strain dari 139 strain yang diuji, resisten terhadap sebagian atau semua dari 9 jenis obat tersebut. Ternyata strain yang resisten mempunyai R plasmid yang dapat ditransfer (transferable R plasmid) pada bakteri lain.

Resistensi bakteri ternyata juga dapat meningkat dengan penggunaan obat secara terus menerus. Kamiso dkk (1992) melakukan uji resistensi 5 strain *Aeromonas hydrophyla* yang berasal dari berbagai daerah terhadap 5 jenis obat yaitu rifampicin, kanamycin, chloramphenicol, erythromycin dan oxytetracyclin. Metode yang digunakan adalah dengan mengkultur bakteri pada konsentrasi penghambat minimal (Minimum Inhibitory Concentration atau MIC) sebanyak tiga kali. Hasil uji menunjukkan bahwa semua strain bakteri meningkat resistensinya, termasuk strain yang semula sensitif. Peningkatan resistensi antara 2,5 kali yaitu terhadap kanamycin dan tertinggi 62 kali terhadap chloramphenicol.

### Spesifikasi inang

Menurut Hastein dan Smith (1977), sumber penularan dan penyebaran bakteri *Vibrio* adalah ikan liar. Kemudian juga air yang mengandung bakteri *Vibrio*. Karena bakteri ini dapat hidup bebas dan berkembang di air, meskipun apabila dalam waktu lama

tidak mendapatkan inang tingkat keganasannya menurun. Hasil penelitian tidak menunjukkan adanya spesifikasi inang. Namun demikian terlihat adanya perbedaan tingkat keganasan dan gejala yang ditimbulkan apabila suatu spesies atau strain *Vibrio* menyerang lebih dari satu spesies ikan. Egidius dan Andersen (1978) menyatakan bahwa *V. anguillarum* yang diisolasi dari rainbow trout (*Salmo gairdneri*) sangat ganas terhadap spesies yang sama dan spesies lain yang termasuk salmonidae. Tetapi kurang ganas terhadap spesies lain yang tidak termasuk salmonidae. Kamiso (1985) juga memperoleh hasil yang sama. *Vibrio anguillarum* yang diisolasi dari chum salmon (*Oncorhynchus keta*) mempunyai LD<sub>50</sub> antara  $9,0 \times 10^4$  -  $3,6 \times 10^5$  sel/ml pada spesies ikan yang sama. Pada English sole (*Parophrys vetulus*) tingkat keganasannya lebih rendah (LD<sub>50</sub>  $9,0 \times 10^6$  -  $2,0 \times 10^7$  sel/ml). Tetapi apabila bakteri tersebut diinfeksi berulang kali pada English sole keganasannya meningkat dan selisih tingkat keganasan terhadap dua spesies ikan tersebut menjadi lebih kecil. Hal inilah yang sering terjadi di lapangan. Pada awal usaha budidaya belum ada serangan yang berarti atau bahkan belum terjadi gejala serangan apalagi wabah. Tetapi semakin lama usaha budidaya dilakukan semakin berat serangannya. Karena bakteri *Vibrio* yang semula menyerang ikan liar dan yang berada di air laut meningkat keganasannya setelah beberapa kali menyerang ikan yang dipelihara. Disamping itu konsentrasi bakteri yang ada di air juga lebih cepat bertambah karena meningkatnya kepadatan ikan.

### Sifat Biokimia dan serotipe

Bakteri *Vibrio* mempunyai variasi spesies dan tiap spesies juga mempunyai variasi strain. Variasi tersebut antara lain adalah serotipe (Kitao dkk., 1983,

Muroga dkk., 1984b), biokimia (Hastein dan Smith, 1977; Schiewe dan Crosa, 1981, Muroga dkk., 1984b) dan patogenisitas (Harell dkk., 1976; Egidius dan Andersen, 1978).

Di Jepang antara 1965–1980 telah diisolasi 267 strain *V. anguillarum* dari berbagai spesies ikan. Berdasarkan uji aglutinasi silang dan absorpsi silang dengan antigen (O) termostabil, strain tersebut dapat dibagi menjadi enam serotipe yaitu A, B, C, D, E dan F (Aoki dkk., 1981; Kitao dkk., 1983). Di Norwegia, dari 163 isolat, berdasarkan uji biokimia dapat digolongkan menjadi dua group. Group I yang bersifat arabinose positif dan group II arabinose negatif (Hastein dan Smith, 1977).

Harrel dkk. (1976) menemukan adanya heterogenitas dari bakteri *Vibrio* yang ditemukan di Amerika Serikat. Khusus untuk *V. anguillarum* semula digolongkan menjadi serotipe I dan serotipe II (Pacha dan Keihn, 1969)., Tetapi berdasarkan penelitian lebih lanjut ternyata kedua golongan tersebut tidak saja berbeda serotipe tetapi juga patologi, patogenisitas, biokimia dan komposisi genetik. Untuk itu maka serotipe I yang lebih ganas dinamakan *V. anguillarum* sedang serotipe II yang tingkat keganasannya lebih rendah disebut *V. ordalii* (Schiewe dkk., 1982).

### Pengaruh lingkungan

Lingkungan merupakan faktor sangat penting yang mempengaruhi wabah vibriosis (Egidius dan Andersen, 1977, Winter dkk., 1981). Lingkungan mempunyai dua pengaruh, pengaruh pertama menyebabkan ikan menjadi stres, sedang pengaruh kedua adalah kecepatan berkembang dan tingkat keganasan (Muroga dkk., 1984b). Stres merupakan faktor sangat penting yang mempengaruhi timbulnya wabah penyakit dan beratnya

serangan (Wood, 1974; McCarthy, 1976; Refstie, 1982).

Beberapa faktor lingkungan yang mempunyai pengaruh sangat besar terhadap wabah vibriosis adalah suhu air, oksigen terlarut, amonia, bahan organik dan kandungan logam berat. Faktor lain yang perlu diperhatikan adalah kepadatan dan cara penanganan terutama pengangkutan, adaptasi dan aklimatisasi serta kecukupan pakan. Kombinasi dari berbagai faktor tersebut di atas akan sangat menentukan berat serangan dan kerugian yang ditimbulkan.

Vibriosis tergolong penyakit Gram negatif septisemia. Bakteri dapat menular melalui persinggungan dengan ikan yang sakit atau yang paling sering adalah melalui air. Serangan dapat melalui luka, insang, kulit dan saluran pencernaan (Wood, 1974). Gejala yang ditimbulkan tergantung tingkat serangan yaitu kronik, akut atau perakut. Pada tingkat kronik dan akut gejala penyakit yang ditimbulkan cukup jelas (Richards, 1980). Beberapa gejala yang terlihat adalah punggung kehitam-hitaman, bercak merah pada pangkal sirip, sisik tegak, bergerak lamban, keseimbangan terganggu, nafsu makan kurang. Sering terjadi mata menonjol (exophthalmia), perut kembung berisi cairan, hemoragik pada insang, mulut, tubuh, usus dan organ dalam. Apabila sampai fase ini ikan belum mati gejala penyakit akan berkembang. Kulit mengelupas, koreng atau nekrosis pada beberapa bagian tubuh dan dapat pula terbentuk ulser (Kamiso, 1985). Menurut Ransom (1978) jumlah leukosit akan menurun, bakteri terdapat sangat banyak dalam darah (septisemia). Ikan mati diduga karena adanya toksin, kehilangan cairan pada saluran pencernaan bagian belakang, dan tidak berfungsinya berbagai organ. Gejala penyakit tersebut bervariasi, tergantung spesies, umur, kondisi ikan dan lingkungan terutama suhu air.

### Deteksi dan diagnosis

Untuk mengetahui dan memastikan adanya serangan vibriosis dapat dimulai dengan mengamati gejala penyakit baik eksternal maupun internal. Kemudian dilakukan isolasi, yang paling mudah adalah dari ginjal secara aseptik. Medium yang digunakan adalah Trypticase Soy Agar (TSA), atau Brain Heart Infusion Agar (BHI Agar) yang ditambah NaCl antara 0,5 - 3,5% atau dengan medium agar air laut (Sea Water Agar). Inkubasikan pada suhu kamar atau dalam inkubator (suhu optimal 18-30°C). Dalam waktu 24-48 jam *Vibrio* yang ganas telah tumbuh dengan baik. Koloni berbentuk bulat, tepi rata, konvek, warna krem sampai coklat muda. Secara morfologi sel bakteri *Vibrio* berbentuk batang, agak bengkok (kurve atau koma) ukuran 2-3 x 1 um, tetapi pada kultur yang sudah agak lama berbentuk agak bulat. Gram negatif, bergerak (motil) dengan satu flagelum polar. Secara biokimia bersifat oksidase (+), katalase (+), O/F medium (F+), TSI (A/A), lysin (-), indol (+). Bakteri ini sensitif terhadap vibriostat yaitu novobiocin dan O/129 (2-4-diamino-6,7-diisopropyl pteridine) sehingga merupakan uji penting untuk diagnosis secara presumtif (Bullock, 1971). Secara definitif dapat dilakukan melalui uji serologi yang dapat dilakukan dengan berbagai cara termasuk metode imunohistokimia (Anonim, 1993) dan *Polymerase chain reaction* atau PCR (Jie dkk, 1996). Namun yang paling mudah dan cepat adalah dengan aglutinasi (Rapid Slide Agglutination) tetapi harus tersedia biakan murni dan antiserum spesifiknya.

### Cara penanggulangan

Bakteri *vibrio* dapat hidup bebas dan berkembang di alam baik ada atau tidak ada inang. Wabah akan timbul apabila

bakteri telah berkembang cukup banyak dan daya tahan ikan lemah. Keadaan demikian terutama karena kualitas lingkungan rendah. Untuk itu cara yang terbaik untuk mencegah timbulnya wabah pada prinsipnya adalah menjaga lingkungan yaitu kualitas air tetap baik terutama kandungan bahan organik. Kemudian, dapat pula dilakukan pengenceran agar jumlah bakteri tidak mencapai  $10^3$  sel/ml atau lebih rendah dari LD<sub>50</sub>. Cara lain adalah memutus atau mengurangi sumber penularan antara lain dengan membuang ikan yang telah terserang atau terinfeksi bakteri dan mengurangi atau mencegah kontak dengan hewan air termasuk ikan liar yang membawa bakteri. Untuk tempat pemeliharaan tertutup seperti tambak hal tersebut relatif lebih mudah dilakukan. Sedang ditempat terbuka seperti pemeliharaan dengan jaring apung hal yang dapat dilakukan adalah memilih lokasi yang baik dan mencegah pencemaran terutama bahan organik. Kemudian membuang atau memusnahkan ikan yang terinfeksi. Apabila mungkin mencegah atau mengurangi kontak dengan hewan atau ikan lain antara lain dengan membuat pagar dengan jaring yang agak kedap di sekeliling tempat pemeliharaan. Penggunaan pompa untuk sirkulasi air juga dapat dilakukan sebagai usaha pengenceran dan meningkatkan kualitas air. Misalnya dari tempat yang agak dalam yang konsentrasi bakterinya rendah. Menghentikan atau menunda waktu penebaran untuk sementara pada saat terjadi wabah merupakan tindakan yang bijaksana sambil menunggu jumlah dan tingkat keganasan bakteri di air laut menurun karena tidak tersedia inang.

Vaksinasi dapat digunakan untuk pencegahan (Gould, 1977) dan saat ini telah dijual berbagai jenis vaksin *Vibrio*. Vaksinasi dapat dilakukan baik secara rendaman, oral dicampur pakan atau suntikan. Yang perlu

diperhatikan adalah agar vaksin yang digunakan sesuai (compatible) dengan bakteri yang menyerang. Karena di laut ada beberapa spesies dan serotipe bakteri *Vibrio*. Kemudian apabila telah dilakukan vaksinasi sebaiknya ikan ditampung beberapa hari (minimal 2-3 hari) ditempat yang tidak mengandung bakteri *Vibrio* sebelum ditebar guna memberi kesempatan agar antibodi terbentuk lebih dahulu. Untuk meningkatkan efikasi vaksin dapat dicampur adjuvan pada saat vaksinasi. Vaksinasi kedua sekitar 2-4 minggu setelah vaksinasi pertama juga dapat dilakukan sebagai buster agar daya tahan ikan lebih meningkat. Vaksinasi kedua dapat dilakukan ditempat pemeliharaan dengan pakan sehingga tidak perlu ditampung di tempat khusus seperti pada vaksinasi pertama.

Peningkatan daya tahan juga dapat dilakukan dengan menggunakan imunostimulan baik dicampur dengan pakan atau secara suntikan. Pemberian vitamin C dosis tinggi yang dicampur dengan pakan baik secara terpisah maupun bersama-sama vaksin ternyata juga dapat meningkatkan kekebalan di atas kekebalan oleh vaksinasi.

Obat-obatan atau antibiotik dapat digunakan baik untuk pencegahan sebelum terserang maupun untuk penyembuhan setelah terserang. Caranya dengan rendaman, oral dicampur pakan atau suntikan. Untuk menekan terjadinya bakteri yang resisten perlu mencegah pencemaran obat-obatan atau antibiotik di perairan, penggunaan dosis rendah, dan penggunaan obat yang sama secara terus menerus. Resistensi dapat timbul dalam waktu cepat yaitu 2-3 generasi, tidak memerlukan waktu berbulan-bulan. Pada suhu tinggi di daerah tropis pergantian generasi hanya beberapa hari, karena *Vibrio* termasuk bakteri yang dapat berkembang dengan cepat.

Usaha budidaya di tambak atau di laut pada umumnya menggunakan air laut, air payau atau air tawar langsung dari laut atau sungai, yang merupakan perairan umum dan digunakan untuk berbagai kepentingan. Adanya pencemaran oleh suatu kegiatan di suatu lokasi akan menyebar ke seluruh kawasan dan mempengaruhi berbagai kegiatan lain baik dalam sektor atau subsektor yang sama atau sektor atau subsektor yang berlainan yang menggunakan air laut atau payau atau air tawar di kawasan tersebut. Untuk itu perlu usaha bersama secara terpadu dari berbagai sektor atau subsektor dalam rangka menjaga kualitas lingkungan baik dalam kawasan budidaya maupun di daerah sekitarnya.

#### Daftar Pustaka

- Anonim, 1993. Techniques in fish immunology. Fish immunology technical communications no. 1., FITC,1. SOS Pub., Fair Haven, 186 hal.
- Aoki, T.; Kitao, T. Habashi, Y Wada, and M. Sakai, 1981. Proteins and lipopolysaccharides in the membrane of *Vibrio anguillarum*., Dev. Biol. Standard. 49. Serodiagnostics and Vaccines, 225-232.
- Aoki, T.; T. Kanazawa dan T. Kitao, 1985. Epidemiological of drug resistant *Vibrio anguillarum* strains. Fish Pathol., 20 (2/3):199-208.
- Bullock, G.L., 1971. Diseases of fishes. Book 2A: Bacterial diseases of fishes. T.F.H. Pub. Neptune, 42-50.
- Bullen, J.J.; H.J. Rogers, and E. Griffiths, 1978. Role of iron in bacterial infection Cur. Top. Mic. and Immunol., 80 : 1-3.

- Chen, S.C., S.L. Huang dan G.H., Kou, 1992. Studies on the epizootiology and pathogenicity of bacterial infections in cultured giant tiger prawns, *Penaeus monodon*, in Taiwan. Disease of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States. Oceanic Institute, Honolulu, 195-205.
- Crosa, J.H., 1980. A plasmid associated with virulence in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum* specifies an iron-sequestering system. *Nature*, 284, 284 : 566-568.
- Crosa, J.H., and L.L. Hodges, 1981., Outer membrane proteins induced under conditions of iron limitation in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Infect. Immunol.*, 31 (1) : 223-227.
- Crosa, J.H.: L.L. Hodges, and M.H., Schiewe, 1980. Curing of a plasmid is correlated with an attenuation of virulence in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Infect. Immunol.*, 27 (3) : 897-902.
- Crosa, J.H.: M.H. Schiewe, and S., Falkow, 1977. Evidence for plasmid contribution to the virulence of the fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Infect. Immunol.*, 18 (3) : 509-513.
- Crosa, J. H.; M.A. Walter, and S. A., Potter, 1983. The genetics of plasmid-mediated virulence in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum*. in : *Bacterial and viral diseases of fish*, J.H. Crosa (ed.), Univ. of Washington. 21-30.
- Egidius, E. C., and K. Andersen, 1984. Disease problem in cod rearing. *Inst. Mar. Res.*, ed. by E. Dahl, D.S. Danielssen, Moksness, and P. Solemdal, Flodevigen Biol. Sta., Arendal, 761-769.
- Egidius, E. C., and K. Andersen, 1978. Host specific pathogenicity of strains of *Vibrio anguillarum* isolated from rainbow trout *Salmo gairdneri* and saithe *Pollachius virens*. *J. Fish Dis.*, 1 : 45-50.
- Egidius, E. C., and K. Andersen, 1977. Norwegian reference strains of *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture* 10 : 215-219.
- Gould, R.W., 1977. Development of a new vaccine delivery system for immunizing fish and investigation of the protective antigens in *Vibrio anguillarum*. Ph.D. thesis, Oregon State University, Corvallis, 145 p.
- Groberg, W. J., Jr., 1981. Infection and the immune response induced by *Vibrio anguillarum* in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Ph.D. thesis, Oregon State University, Corvallis, 107 p.
- Hacking, M.A., and J. Budd, 1977., *Vibrio* infection in tropical fish in a freshwater aquarium. *J. Wildl. Dis.*, 7 : 273-280.
- Harrell, L. W.; H.M. Etlinger, and H. O. Hodgins, 1976. Humoral factors important in resistance of salmonid fish to bacterial disease. II Anti-*Vibrio anguillarum* activity in mucus and observations on complement. *Aquaculture*, 7 : 363-370.
- Hastein, T., and J. E. Smith, 1977. A study of *Vibrio anguillarum* from farmed and wild fish using principal components analysis. *J. Fish Biol.*, 11 : 69-75.

- Jie, K.; Y. Jun; L. Ping; Z. Yan; L. , Xingming; X. Huishu, and Y., Conghai, 1996. Rapid identification of Shrimp bacterial pathogens by enzymatic amplification and digestion of 16 S, RNA gene. World aquaculture '96. The annual meeting of the World Aquaculture Soc., Bangkok, Jan. 29–Feb. 2, 1996, hal 185.
- Kamiso H.N., 1985. Differences in pathogenicity of *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and English sole (*Parophrys vetulus*) under laboratory conditions. PhD thesis, Oregon State Univ. Corvallis, 116 p.
- Kamiso H.N., Triyanto dan Sri Hartati 1992. Penanggulangan penyakit Motil Aeromonas Septisemia (MAS) pada ikan lele (*Clarias* sp.). ARM Proje, Balitbang Pertanian Deptan., Jakarta. 38 hal.
- Kitao, T.; T. Aoki, M. Fukudome, K. Kawano, Y. Wada, and Y., Mizuno, 1983. Serotyping of *Vibrio anguillarum* isolated from diseased freshwater fish in Japan. J. Fish Dis., 6 : 175–181.
- Larkins, P.E., 1993. Shrimp diseases and shrimp farm management on the Malacca straits coast of North Sumatra Province. NESPP/ODA and Directorate General of Fisheries of Indonesia. 108 p.
- Lupiani, B.; A.M. Baya; R., Magarinos, J.L. Romalde; T.Li; B.S. Roberson; F. M.Hetrick; A.E. Toranso, 1993. *Vibrio mimicus* and *Vibrio cholerae* non-01 isolated from wild and hatchery-reared fish. Fish Pathol. 28 (1) : 15–26).
- McCarthy, D. H., 1976. *Vibrio*, disease in eels. J. Fish Biol., 8 : 317–320.
- Muroga, K.; H. Yamanoi, Y., Hironaka, S. Yamamoto, M. Tatani, Y. Jo, S. Takahashi, and H Hanada, 1984a. Detection of *Vibrio anguillarum* from wild fingerlings of ayu *Plecoglossus altivelis*. Bull. Jap. Soc Sci. Fish., 50 (4) : 591–596.
- Muroga, K.; K. Satoh, and T., Wakai, 1984b. Growth temperature of five bacterial pathogens for eel. Fish Pathol., 19 (3) : 193–196.
- Neilands, J.B., 1981. Iron absorption and transport in microorganisms., Ann. Rev. of Nutr. 1:27–46.
- Pacha, R.E., and E.D. Keehn, 1969. Characterization and relatedness of Marine Vibrios pathogenic to fish: Physiology, serology and epidemiology. J. Bact., 100 (3): 295–302.
- Ransom, D. P., 1978. Bacteriologic, immunologic and pathologic studies of *Vibrio* spp. pathogenic to salmonids. Ph.D. thesis, Oregon State University, Carvallis, 123 p.
- Refstie, T., 1982. Preliminary result:, Differences between rainbow trout families in resistance against vibriosis and stress. Dev. Comp., Immunol., Sup., 2., 205–209.
- Richards, R. H., 1980. Observations on vibriosis in cultured flatfish., 75–81, in : Fish diseases, W. Ahne (ed.), third COPRAQ–Session, Springer–Verlag, Berlin.
- Rosemark, R. 1988. Vibriosis of lobsters. in Disease diagnosis and control in North American marine aquaculture, C.J. Sindermann and D.V. Lightner (eds), Elsevier, Amsterdam, 240–243.
- Sawyer, E.S., 1978. Vibriosis in Marine and New Hampshire salmonids., Mar. Fish. Rev., 1332 : 9–10.

- Schiewe, M.H., 1983. *Vibrio ordalii* as a cause of vibriosis in salmonid fish in : Bacterial and viral diseases of fish. J.H. Crosa (ed). Univ. of Washington, Seattle, 31-60.
- Schiewe, M. H., T.J. Trust, and J. H., Crosa, 1982. *Vibrio ordalii* sp. nov., In : List no. 9 Validation of the publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSB. It J., Syst. Bacteriol., 32 : 384-384.
- Sindermann, C. J., 1988a. Vibriosis of larvae oysters. in : Disease diagnosis and control in North American Marine aquaculture. C.J. Sindermann and D.V. Lightner (eds). Elsevier Amsterdam, 271-274.
- Sindermann, C. J., 1988b. Vibriosis of Juvenile oysters. in: Disease diagnosis and control in North American Marine aquaculture. C.J.Sindermann and D.V. Lightner (eds). Elsevier Amsterdam, 275-276.
- Sunaryanto, A. and A. Mariam., 1987. Occurrence of a pathogenic bacteria causing luminescence in penaeid larvae in Indonesian hatcheries Bub. of Brackishwater Aquaculture Development centre Jepara, 8:64-70.
- Winter, G.W.; C.B. Schreck, and J., D. McIntyre, 1981. Resistance of different stocks and transferrin genotypes of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, and steelhead trout, *Salmon gairdneri*, to bacterial kidney disease and vibriosis. Fish., Bull., 77 (4) : 795-802.
- Wolke, R. E., 1975. Pathology of bacterial and fungal diseases affecting fish. 33-116, in : Pathology of fishes, W .E. Ribelin and G. Migaki (eds.), Univ. of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin.
- Wood, J. W., 1974. Diseases of Pacific salmon their prevention and treatment. Second ed., State of Washington, Dept. of Fish., Olympia, 81 p.
- Yong, W.S., and L.T. Seng, 1990. A comparative study of vibrio infections in healthy and diseased marine finfishes cultures in floating cages near Penang, Malaysia. AFS. 3 (3): 353-360.