

TURMERIC EXTRACT EFFECTIVENESS WHITE (*CURCUMA DOMESTICA .VALL*) FOR TREATMENT OF BACTERIAL INFECTIONS IN *VIBRIO ALGINOLYTICUS* MOUSE GROUPER (*CROMILEPTES ALTIVELIS*)

EFEKTIFITAS EKSTRAK KUNYIT PUTIH (*CURCUMA DOMESTICA .VALL*) UNTUK PENGOBATAN INFEKSI BAKTERI *VIBRIO ALGINOLYTICUS* PADA IKAN KERAPU TIKUS (*CROMILEPTES ALTIVELIS*)

Dwi Agung Saputra¹, Elfa Verda Puspita²,

^{1,2} Institut Maritim Prasetiya Mandiri

*email koresponden: da1477090@gmail.com

DOI:

Article info:

Submitted: 17/01/24

Accepted: 17/01/24

Published: 17/01/24

Abstract

This study were aimed to (1) To study the effectiveness of white turmeric extract *Curcuma domestica .Vall* in treating a mouse *Cromileptes altivelis* from the attack of *Vibrio alginolyticus.*, (2) To study the dose of the best white turmeric extract in treating a *Cromileptes altivelis* from attacks by bacteria *Vibrio alginolyticus.* (3) To study the effect of white turmeric extract against the survival rate Mouse grouper (*Cromileptes altivelis*), which in the infection of *Vibrio alginolyticus.* The experiment was arranged with a Completely Randomized Design (CRD). Preliminary research conducted LD50 test to determine the pathogenic bacterium *V. alginolyticus* which caused the death of test fish as much as 50%. In vitro test was done to see anti-bacterial activity of white turmeric extract against *V. alginolyticus.* From this test, the optimum concentration of white turmeric extract the effective tackling of *V. Alginolyticus* was obtained was obtained Test in vivo was carried out to determine the effect of the bacteria *V. alginolyticus* against *Cromileptes altivelis* healing response in *Cromileptes altivelis* after giving white turmeric extract. Results showed that (1) MIC and MBC values obtained by concentration of 0.25% and 0.75%, where the concentration of 0.75% was the effective dose of white turmeric extract in tackling the *V. alginolyticus* (2) The best treatment dose of the best survival rate of *Cromileptes altivelis* was 1% of white turmeric extract (3) the Survival Rate of mouse grouper wasn't effected by white turmeric extract treatment significantly

Keywords: Mouse Grouper, *Vibrio alginolyticus*, white turmeric.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk (1) mempelajari efektifitas ekstrak kunyit putih (*Curcuma domestica .vail*) dalam mengobati ikan kerapu tikus dari serangan bakteri *Vibrio alginolyticus.*, (2) mempelajari dosis ekstrak kunyit putih yang terbaik dalam mengobati ikan kerapu tikus dari serangan bakteri *vibrio alginolyticus*, (3) mengetahui pengaruh ekstrak kunyit putih terhadap tingkat kelangsungan hidup (*survival rate*) ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang di infeksi *V. Alginolyticus*. Penelitian disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Awal penelitian dilakukan Uji LD₅₀ untuk mengetahui patogenitas bakteri *Vibrio alginolyticus* yang menyebabkan kematian ikan uji sebanyak 50%. Uji *in vitro* dilakukan untuk melihat aktivitas anti bakteri dari ekstrak kunyit putih terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Dari uji ini diperoleh konsentrasi optimum ekstrak kunyit putih yang efektif menanggulangi bakteri *Vibrio alginolyticus*. Pengujian *in vivo* dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian bakteri *vibrio alginolyticus* terhadap respon penyembuhan ikan kerapu tikus setelah di berikan ekstrak kunyit putih. Hasil penelitian diperoleh bahwa (1) nilai MIC dan MBC diperoleh konsentrasi 0,25 % dan 0,75 %, dimana konsentrasi 0,75 % merupakan dosis efektif ekstrak kunyit putih dalam menanggulangi *Vibrio alginolyticus* (2) berdasarkan persentase *survival rate* tertinggi, dosis pengobatan terbaik ekstrak kunyit putih pada ikan kerapu tikus adalah 1% konsentrasi ekstrak kunyit putih (3) hasil pengamatan kelangsungan hidup (*Survival Rate*) ikan kerapu tikus terhadap gejala klinis yang ditimbulkan tidak memberikan pengaruh yang nyata.

Kata kunci: Kerapu tikus, Uji LD₅₀, *Vibrio alginolyticus*, Kunyit putih.

1. PENDAHULUAN

Ikan kerapu tikus merupakan salah satu jenis komoditas ikan kerapu yang memiliki nilai ekonomis untuk dikembangkan, dan dibudidayakan karena pertumbuhannya yang cukup cepat, dan relatif mudah untuk dipelihara. Ikan kerapu tikus pada saat ini di suplai dari budidaya ikan kerapu tikus yang di lakukan di KJA (Keramba Jaring Apung), dan juga pada balai - balai budidaya laut salah satunya pada Balai Budidaya Laut Lampung. Sebelum benih ikan kerapu tikus dikembangkan oleh pihak Balai Budidaya Laut, pasokan benih ikan kerapu tikus didapat langsung dari habitat aslinya di laut. Oleh karena itu pihak Kementrian Kelautan dan Perikanan mulai serius dalam membudidayakan ikan kerapu jenis kerapu tikus. Dalam budidaya ikan kerapu tikus terdapat beberapa kendala yang sangat mengganggu dan menjadi masalah serius, dimana ikan kerapu tikus dapat terserang gejala penyakit *Vibriosis* yang dapat menyebabkan kematian 100% di setiap kolam ataupun jaring keramba tempat dipelihara ikan kerapu tikus tersebut. Bakteri patogen yang utama pada ikan kerapu tikus adalah *Vibrio alginolyticus*.

Penyakit *vibriosis* ini memerlukan penanggulangan dan penanganan secara khusus. Cara penanganan *Vibriosis* pada saat ini yaitu dengan menggunakan antibiotik seperti "oxytetracycline". Akan tetapi apabila digunakan secara terus menerus dapat mencemari lingkungan disekitarnya karena pada antibiotik ini mengandung zat kimia. Salah satu alternatif penggunaan bahan alami untuk menanggulangi penyakit *V Alginolyticus* adalah kunyit putih, selain sifatnya alami dan tidak mencemari lingkungan, kunyit putih (*Curcuma domestica .vail*) juga mengandung *curcuminoid* yang bersifat anti bakteri dan anti radang. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai ekstrak kunyit putih sebagai alternatif pencegahan bakteri *V alginolyticus* pada ikan kerapu tikus.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efektifitas ekstrak kunyit putih (*Curcuma domestica .vail*) dalam mengobati ikan kerapu tikus dari serangan bakteri *V alginolyticus*, mempelajari

dosis ekstrak kunyit putih yang terbaik dalam mengobati ikan kerapu tikus dari serangan bakteri *V. alginolyticus* dan mengetahui pengaruh ekstrak kunyit putih terhadap tingkat kelangsungan hidup (*Survival Rate*) Ikan kerapu tikus yang di infeksi *V. alginolyticus*.

Kunyit putih mampu menanggulangi pertumbuhan bakteri yaitu dengan senyawa antibakteria yang terkandung didalamnya. Antibakteria kunyit putih akan menanggulangi pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu permeabilitas dari membran sel bakteri *V. Alginolyticus* (Fahri 2009). Melalui metode perlakuan ekstrak kunyit putih yang diinjeksikan kedalam media ikan, diharapkan mampu mengurangi pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* pada media ikan kerapu tikus.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah akuarium berukuran 60 x 40 x 40 cm³ sebanyak 15 buah yang telah diberi kode perlakuan dan penempatannya dilakukan secara acak, instalasi aerasi, blower, selang, ember, neraca elektrik, alat ukur (neraca, jangka sorong, pipet, mikropipet, dan *colony counter*), *spreader*, pipet tetes, *sentrifuge*, karet, masker, sarung tangan, pisau, korek api, sporoid, termometer, pH meter, DO meter, alat bedah, cawan petri, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, erlenmeyer, penggaris, *showcase*, *laminary flow*, autoklaf, oven, inkubator, corong plastik, baki, rotavapor, kertas whatman No.42, botol film, pipet tetes, vortex mixer, heater, pembolong kertas, kuas, gelas ukur, mikroskop elektrik, gelas objek, mortar, saringan tepung dengan ukuran jaring 1 mm, spritus, plastik, kapas, tisu, dan *aluminium foil*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu : rimpang kunyit putih, ikan kerapu tikus panjang rata - rata 5 -7 cm, sebanyak 120 ekor yang berasal dari Balai Budidaya Laut (BBL) Lampung, isolat murni *V. alginolyticus* yang telah dikarakterisasi di Balai Karantina Ikan Kelas I Panjang, PBS, media TSA 2,5 %, *Muller Hinton Broth* (MHB), NaCl, pakan ikan kerapu tikus, air laut, *paper disc blank*, alkohol 96 % serta 70 %, Ethanol 70 %, dan spritus.

Desain Penelitian

Penelitian ini disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Terdiri dari 3 perlakuan dosis ekstrak kunyit putih (k1 ;0.25 %), (k2 ;0.5%), dan (k3 ; 0.75 %) tiap perlakuan dosis diulang sebanyak tiga kali.

Pada penelitian ini kontrol positif menggunakan bakteri *V alginolyticus* yang di injeksikan ke dalam tubuh ikan kerapu tikus, sedangkan pada kontrol negatif dengan menggunakan PBS dengan di injeksikan ke dalam tubuh ikan kerapu tikus.

Metode linier RAL : $Y_{ij} = p + \alpha_j + L_{ij}$ {Mattjik Made, 2002}

Keterangan:

I : A,B,C (Perlakuan), J : 1,2,3 (ulangan)

Sterilisasi alat

Pada sterilisasi alat, kegiatan yang dilakukan yaitu: Petri disk dan pipet tetes dibungkus dengan kertas copy berwarna coklat. Pipet tetes yang telah dibungkus lalu diikat dengan karet gelang. Tabung reaksi dan erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas, setelah ditutup bagian atasnya ditutup dengan menggunakan aluminium foil agar kapas tidak basah. Setelah semua alat dibungkus lalu dimasukkan kedalam autoklaf, kemudian ditutup rapat. Sterilisasi dengan suhu 121 °C dan pada tekanan 1 atm selama 15-20 menit, setelah udara dalam autoklaf berganti dengan uap maka tutup katup uapnya. Kemudian alat - alat tersebut dikeluarkan dari autoklaf dan diletakkan pada tempat yang steril yang telah diberi alkohol.

Pembuatan media TSA

Pembuatan media TSA 2,5 % langkah kerja yang di lakukan adalah : menyiapkan sebanyak 40 gram TSA dilarutkan dalam 1000 ml aquades dalam *erlenmeyer* diberi *magnetic stiver*, menyiapkan bubuk NaCl sebanyak 25 gr (volume x 2,5 %). Media TSA dihomogenkan lalu diatur pH nya sesuai label, kemudian campurkan dengan bubuk NaCl setelah itu dihomogenkan lagi. Media disterilisasikan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atmosfer selama kurang lebih 15 menit. Kemudian setelah steril media dituang sampai hangat - hangat kuku, lalu media dituang ke dalam *petridisk* steril dan dibiarkan sampai media padat atau berbentuk agar lalu dibalik serta disimpan di dalam *showcase*.

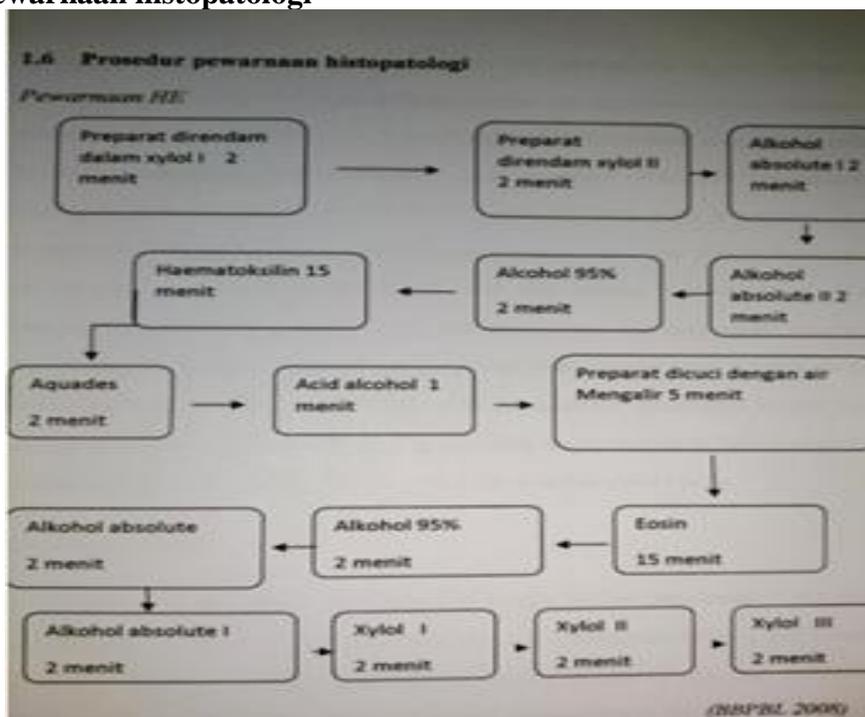
Recultur bakteri *V Alginolyticus*

Pada reculture bakteri *V Alginolyticus* langkah-langkah yang di lakukan adalah: menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan lampu bunsen, jarum ose, media agar TSA 2,5 %, dan alkohol 70 %. Isolasi secara aseptik dilakukan dengan menggosokkan jarum ose yang steril pada inokulan mumi *V Alginolyticus*. Kemudian goreskan secara kontinyu streak pada permukaan media agar TSA 2,5 %. Diberi label lalu diinkubasi pada suhu 25 - 30 °C selama 18-24 jam. Mengamati pertumbuhan koloni pada hari berikutnya. Setelah didapat koloni *V Alginolyticus* kemudian diinokulasikan lagi pada media TSB 2, 5 % dan setelah tumbuh kemudian diencerkan sampai kepadatan 10^8 cfu/ml, setelah itu siap untuk digunakan pada uji *in vitro*.

Prosedur sediaan histopatologi

Pada histopatologi ini jaringan utama yang di amati yaitu organ hati. Langkah-langkah pada prosedur sediaan histopatologi adalah : Preparasi jaringan pada ikan kerapu tikus. Difiksasi dalam buffer formalin 10%. Teknik embeding. Dehidrasi, penjernihan dan parafinasi. *Blocking*. Trimming. Pematangan jaringan. Pewarnaan HE. Preparat ditutup entelan. Pemeriksaan pada jaringan ikan kerapu tikus.

Prosedur pewarnaan histopatologi



Persiapan wadah dan ikan uji

Wadah budidaya yang akan digunakan untuk uji *in vivo* adalah akuarium dengan ukuran 60 cm x 40 cm x 40 cm³. Sebelum digunakan wadah aquarium didesinfeksi dengan tujuan untuk

membersihkan wadah dari patogen pengganggu seperti jamur, bakteri dan virus yang keberadaannya tidak diinginkan. Tahap persiapan wadah diawali dengan merendam semua wadah, peralatan aerasi, dan saringan menggunakan kaporit dengan dosis 100 ppm selama 24 jam. Setelah itu dibilas dengan air bersih dan dibersihkan dengan menggunakan sabun, kemudian dibilas kembali menggunakan air bersih hingga air bilasan tidak membentuk busa. Kemudian aquarium dijemur dibawah sinar matahari selama 24 jam. Setelah kering, tandon aquarium, dan peralatan aerasi dipasang pada tempatnya. Ikan kerapu tikus dimasukkan ke dalam tandon berkapasitas 1 ton dengan ketinggian air 20 cm, dimana air dan wadahnya telah didesinfeksi terlebih dahulu. Ikan kerapu tikus kemudian diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan selama 3 hari. Sebelum dimasukkan ke dalam aquarium, ikan kerapu tikus terlebih dahulu diukur panjang total dan berat awalnya. Setiap aquarium berisi ikan kerapu tikus dengan kepadatan 8 ekor. Ikan diberi pakan dan diadaptasikan di dalam aquarium selama 3 hari. Frekuensi pemberian pakan 2 kali dalam sehari. Air yang digunakan ditampung di dalam tandon berukuran 1 ton yang kemudian menjadi air stok untuk pergantian air setelah penyiponan. Air dituang ke dalam masing - masing aquarium dengan ketinggian 20 cm. Air didiamkan selama satu hari dan di aerasi dengan tujuan meningkatkan kandungan O₂ dalam air.

Tahapan pelaksanaan uji

Uji LD₅₀

Ikan kerapu tikus dipersiapkan dengan kepadatan 8 ekor dalam 4 aquarium. Bakteri yang telah diencerkan menjadi kepadatan 10⁸, 10¹⁰, dan 10¹⁰ cfu/ml diinjeksikan secara intramuskuler pada ikan kerapu tikus dengan volume injeksi adalah 0,1 ml/ekor. Kemudian dilakukan pengamatan selama 12 hari dan jumlah ikan yang mati dihitung. Uji LD₅₀ dihitung menggunakan rumus (Reed and Muench, 1938).

Selang proporsi = $\frac{A - B}{A - B}$

A - B

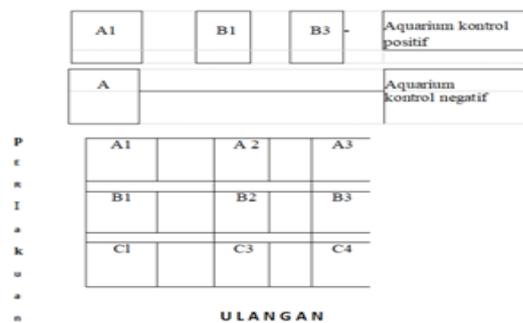
Log negatif LD₅₀ = Log negatif konsentrasi diatas 50 % + selang proporsi.

Keterangan :

A : Kematian diatas 50 %

B : Kematian dibawah 50 %

Model Penelitian



Gambar 4. Model Penelitian

Uji in vitro

Uji ini untuk melihat aktifitas antibakteri dari ekstrak kunyit putih terhadap bakteri *V. alginolyticus* dengan metode kertas cakram untuk data kuantitatif sedangkan untuk data kualitatif menggunakan metode *broth makro dilution*. Langkah kerja metode kertas cakram / MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*): Isolat dengan kepadatan 10⁶ cfu/ml diambil sebanyak 0,1 ml menggunakan mikropipet dan disebar menggunakan batang kaca penyebar atau spreader pada media TSA 2,5 % petri, diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya kertas

cakram yang telah direndam dalam ekstrak kunyit putih dengan berbagai konsentrasi diletakkan di atas permukaan media TSA 2,5 % yang telah disebarkan bakteri *V alginolyticus*. Setelah diinkubasi selama 24 jam, amati pertumbuhannya lalu dilakukan pengukuran diameter zona bening dari kertas cakram yang berada dalam petri dan dihitung juga jumlah koloninya, masing - masing perlakuan dibuat dengan 3 ulangan.

Langkah kerja metode *broth makro dilution MIC (Minimum Inhibitory Concentration)* yaitu Menyiapkan 6 tabung media *Muller Hinton Broth (MHB)* dengan volume 5 ml. Lalu masukkan 0,1 ml isolat *V.alginolyticus* ke dalam 5 tabung media MHB, sedangkan 1 sebagai kontrol negatif. Ke dalam 4 tabung MHB di atas lalu masukkan ekstrak rimpang kunyit putih dengan berbagai konsentrasi lalu diberi label, sedangkan 1 tabung sebagai kontrol positif. Setelah itu diamati pertumbuhannya selama kurang lebih 24 jam. Hasil dari kedua metode ini akan diperoleh konsentrasi optimum.

Uji *in vivo*

Uji *in vivo* pada penelitian utama dilakukan dengan 3 perlakuan dan 2 kontrol yaitu : kontrol positif dan kontrol negatif. Masing - masing perlakuan terdiri dari 3 kali ulangan. Pada kontrol positif ikan kerapu tikus diinjeksi bakteri *V alginolyticus* secara *intramuscular* dengan kepadatan bakteri *V alginolyticus* sesuai dengan hasil uji LD50 dengan volume injeksi 0,1 ml/ekor, dengan tujuan melihat gejala klinis yang timbul akibat infeksi *V. alginolyticus* pada media ikan kerapu tikus diamati selama dua hari sebelum pengobatan, sedangkan pada kontrol negatif ikan kerapu tikus diinjeksi PBS (*phosphate buffer saline*) secara *intramuscular* dengan volume 0,1 ml/ekor. Setelah dua hari Ikan uji (Ikan Kerapu tikus) pada pengobatan bakteri *V alginolyticus* diinjeksikan ekstrak kunyit putih secara *intramuscular* dengan volume injeksi 0,1 ml/ekor. Dosis yang digunakan mengacu pada hasil uji *in vitro*.

Parameter yang diamati

1. Parameter utama

1.1. Gejala klinis dan pengukuran diameter kelainan klinis

Pengamatan terhadap gejala klinis dilakukan setiap hari setelah ikan kerapu tikus diinfeksi dengan bakteri *V alginolyticus*. Pengukuran diameter klinis dilakukan dengan mengukur diameter radang, hemoragik, dan tukak menggunakan penggaris, kemudian data yang diperoleh diberi skor.. Dari nilai skor tersebut dapat diketahui kondisi ikan kerapu tikus, semakin tinggi nilai skor maka kondisi ikan semakin buruk. Nilai skor kelainan klinis dilakukan dengan ketentuan sebagai berikut (Modifikasi dari Normalina (2007):

= ikan sembuh	ai skor 0
= ikan normal	ai skor 0
= ikan radang	ai skor 1
= hemoragik ikan	ai skor 2
= ikan tukak	ai skor 3
= ikan mati	ai skor 4

Diameter klinis dibagi menjadi 4 kelompok :

Bila diameter kelainan klinis berada diantara (0,1 - 0,7 cm) diberi angka 1, bila diameter kelainan klinis berada diantara (0,8 - 1,4 cm) diberi angka 2, bila diameter kelainan klinis

berada diantara (1,5 - 2,1 cm) diberi angka 3 dan bila diameter kelainan klinis berada diantara (2,2 - 3,0 cm) diberi angka 4.

2. Parameter pendukung

2.1. Uji respon makan

Pengujian terhadap respon makan dilakukan dengan melihat reaksi ikan uji pada waktu pemberian pakan. Pakan yang diberikan adalah pakan kerapu tikus dan pemberian secara *ad satiation*. Pengamatan respon makan ikan dilakukan selama 14 hari dimulai pada saat ikan diberi perlakuan injeksi bakteri sampai hari ke -12 pasca pengobatan.

2.2 Analisis kualitas air

Selama perlakuan, kualitas air dijaga dengan melakukan penyiponan wadah pemeliharaan untuk membuang sisa pakan dan kotoran berupa *feces* ikan. Penggantian air sebanyak 10 - 20% dilakukan setiap satu kali sehari. Kemudian dilakukan pengukuran terhadap parameter pH, suhu, DO, pada awal dan akhir perlakuan (*Cholik, 1986*).

2.3. Pengamatan Histopatologi

Yaitu untuk mengetahui organ kerapu tikus yaitu pada limpa, hati, ginjal yang rusak akibat serangan bakteri *V alginolyticus*. Struktur jaringan normal dan abnormal dapat dipelajari dengan mikroskop dalam bentuk preparat jaringan. Preparat ini dibuat melalui proses pengolahan jaringan sampai di dapatkan preparat yang telah diwamai. Pemeriksaan organ dalam ikan kerapu tikus dilakukan pada akhir pengamatan setelah penginfeksi bakteri *V Alginolyticus*. Jaringan yang diamati yaitu hati, limpa, ginjal.

Analisis Statistik

Data gejala klinis dari penelitian yang didapat dianalisis dengan analisis sidik ragam dua arah (*two ways analysis of variant*) dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf kepercayaan 95%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

1. Uji LD₅₀

Hasil uji LD₅₀ menunjukkan bahwa bakteri *V alginolyticus* dengan kepadatan 10 cfu/ml dapat menyebabkan kematian ikan kerapu tikus sebanyak 50 % selama 9 hari. Maka dari hasil uji LD₅₀ kepadatan bakteri 10⁶ cfu/ml akan diuji dan diinfeksi ke ikan kerapu tikus pada uji *in vitro* dan *in vivo*

2. Uji *in vitro*

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Nilai MIC untuk ekstrak kunyit putih terhadap bakteri *V alginolyticus* yang didapat adalah 0,25%. Pada konsentrasi ekstrak kunyit putih 0,25 % masih terdapat endapan putih pada dasar tabung reaksi yang diduga merupakan sisa bakteri *V alginolyticus* yang tidak terdifusi oleh bahan aktif *kurkuminoid* pada ekstrak kunyit putih.



Gam bar 5. Uji MIC

- a) kontrol positif d) 0,75%
b) 0,25 % e) kontrol negatif
c) 0,5 %

MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*)

Pada nilai MIC yang didapat dilanjutkan untuk menentukan nilai MBC, yaitu ditentukan dengan mengetahui nilai konsentrasi minimal dari ekstrak kunyit putih yang merupakan dosis efektif pengobatan ikan kerapu tikus terhadap infeksi bakteri *V. alginolyticus*. Hasil pengamatan dilihat setelah 24 jam waktu *inkubasi* ditunjukkan bahwa pada konsentrasi ekstrak kunyit putih 0,25 %, dan 0,5 % pada media TSA 2,5 % masih banyak ditumbuhi oleh bakteri dan pada konsentrasi ekstrak kunyit putih 0,75 % tidak ditumbuhi bakteri *alginolyticus* pada media TSA 2,5 %. Hal ini dapat disimpulkan bahwa nilai MBC terdapat pada konsentrasi 0,75 %.

Uji *in vivo*

Pada pengamatan uji *in vivo* hasil pengobatan ekstrak kunyit putih untuk mengobati infeksi bakteri *V. Alginolyticus* pada ikan kerapu tikus didapatkan hasil yang berpengaruh nyata antar tiap perlakuan, pada sub bab dibawah ini akan dijelaskan hasil pengamatan gejala klinis pada ikan kerapu tikus.

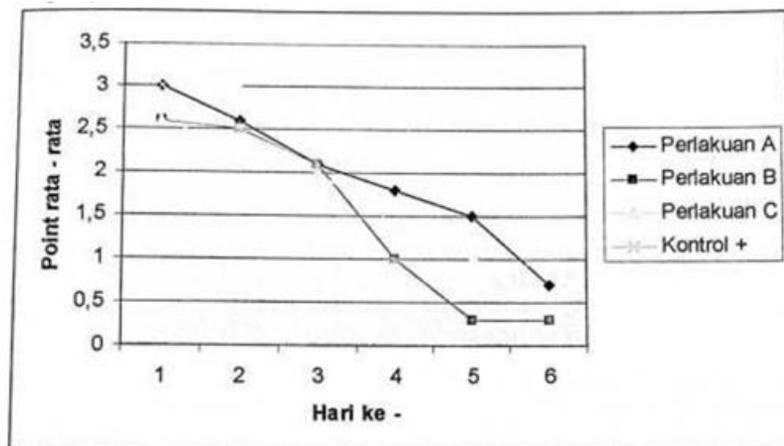
Hasil pengamatan yang dilakukan setelah ikan diinjeksi oleh bakteri *V. alginolyticus* menunjukkan bahwa bakteri membutuhkan waktu 24 jam untuk menginfeksi ikan kerapu tikus. Ekstrak kunyit putih yang di injeksikan pada ikan kerapu tikus mengalami peradangan yaitu kemerahan pada seluruh tubuh (Gambar 8 a). Kemudian ikan mengalami tukak yaitu luka disertai mengelupasnya daging ikan kerapu tikus yang dimulai dari hari ke 5 sampai mengalami penyembuhan pada hari ke 7 pasca infeksi bakteri *V. alginolyticus* (Gambar 8 b). Pengamatan hari ke 2, ikan kerapu tikus ditemui mengalami gejala *pop eye* yaitu mata membesar (Gambar 8 c), dan gejala klinis pada bagian tengah bewarna ke kuningan (Gambar 8 d), dimana ikan mengalami hemoragik.

Pada perlakuan pemberian ekstrak kunyit putih 1 %, 1,5 %, dan 2 % pada hari ke 2 pasca infeksi *V. alginolyticus* menunjukkan bahwa ikan kerapu tikus mulai mengalami penyembuhan pada hari ke-5 sampai hari ke 7 pasca injeksi ekstrak kunyit putih. Pada hari pertama pasca injeksi ekstrak kunyit putih ikan kerapu tikus menunjukkan diameter gejala klinis yang menurun sangat drastis sampai hari ke 7. Gejala klinis uji yang timbul dapat dilihat pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Pengamatan ikan kerapu tikus yang diamati setelah diinjeksi ekstrak kunyit putih

Hari ke	Perlakuan			
	1%	1,50%	2%	0%
1	Beberapa ikan mengalami Tukak Hemoragi dan ada juga yang mati	ikan mengalami hemoragi dan tukak	ikan mengalami tukak, dan hemoragi	ikan mengalami gejala klinis tukak, hemoragi
2	ikan mengalami gejala klinis seperti radang hemoragi, tukak, diameter gejala klinis mulai berkurang dari hari sebelumnya	ada dua ikan mati dengan gejala klinis tukak dengan diameter 1 cm dan radang pada seluruh tubuh	sebagian ikan mengalami tukak hemoragi, dan daging tumbuh	sebagian besar ikan mengalami tukak dan hemoragi
3	sebagian ikan mengalami hemoragi dan tukak dan diameter gejala klinis yang mulai berkurang	ikan yang mengalami gejala klinis mulai berkurang dan gejala klinis yang ditimbulkan pada perlakuan ini hanya tukak	salah satu ikan mengalami kenaikan diameter gejala klinis yaitu tukak disertai hemoragi	sebagian besar ikan mengalami tukak dan hemoragi
4	jumlah ikan yang terkena gejala klinis hanya 5 ekor radang, daging tumbuh dan tukak dan sebagian besar ikan sembuh	gejala klinis yang timbul adalah tukak dan radang pada 3 ekor ikan	ikan mengalami tukak dan radang	ikan hemoragi dan tukak
5	ikan mengalami penurunan diameter gejala klinis dengan rata rata 0,5 cm yaitu tukak dan radang	hanya 3 ekor ikan mengalami gejala klinis tukak dan radang	rata rata diameter gejala klinis ikan dibawah 0,5 cm yang mengalami tukak dan radang	ikan mengalami tukak dan hemoragi pada setiap perlakuan kontrol positif
6	5 ekor ikan mengalami radang dan tukak sebagian ikan sembuh	3 ekor ikan mengalami tukak dan radang	sebagian ikan pada perlakuan ini mengalami tukak dan radang dengan diameter gejala klinis yang berkurang dari hari sebelumnya	pada setiap perlakuan kontrol positif ikan mengalami gejala klinis tukak dan hemoragi
7	2 ekor ikan mengalami tukak	3 ekor ikan mengalami radang dan tukak	sebagian besar ikan mengalami penyembuhan dari gejala klinis tukak	setiap perlakuan kontrol positif ikan mengalami tukak dan hemoragi

Gambar 7 menunjukkan skor rata-rata gejala klinis yang diukur setelah terjadinya pengobatan ikan kerapu tikus dengan menggunakan ekstrak kunyit j putih. Pengukuran ini dilakukan setiap hari pada perlakuan kontrol dan perlakuan j pengobatan, yang sebelumnya diinfeksi bakteri *V. alginolyticus*.



Gambar 7. Grafik skor rata-rata gejala klinis ikan kerapu tikus setelah di beri pengobatan ekstrak kunyit putih selama perlakuan.

Gambar diatas dapat dilihat bahwa skor rata-rata gejala klinis ikan kerapu tikus setelah diinjeksi ekstrak kunyit putih sampai pengamatan pada hari ke 6 pasca pengobatan. Pada grafik di atas kontrol positif atau yang tidak di injeksikan ekstrak kunyit putih bergerak konstan pada point rata - rata 3 sampai 3,4. pada perlakuan A, B, dan C yaitu yang diberi ekstrak kunyit putih point rata - rata gejala klinis cenderung menurun sampai hari ke 6 pasca penginjeksian ekstrak kunyit putih.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pengobatan dengan ekstrak kunyit putih berpengaruh nyata dalam menanggulangi penyakit *Vibriosis* pada ikan kerapu tikus.

Selanjutnya pada hari ke-5 hingga ke-7 ikan kerapu tikus mengalami tukak dengan lepasnya daging pada tubuh ikan dan juga mengalami hemoragik.

Gambar 8. Gejala klinis yang nampak pada ikan kerapu tikus yang diinfeksi bakteri *Vibrio alginolyticus*.

Keterangan :

- a. ikan dengan gejala radang
- b. ikan dengan gejala tukak
- c. ikan dengan gejala pop eye (radang)
- d. ikan dengan gejala hemoragik

Gejala klinis yang di akibatkan bakteri *V. alginolyticus* yaitu peradangan pada tubuh ikan kerapu tikus, hemoragik yaitu pendarahan di bagian tubuh ikan kerapu tikus yang apabila tubuh ikan kerapu tikus di tekan akan keluar darah, tukak gejala klinis ini ditunjukkan dengan mengelupasnya daging ikan kerapu tikus terutama bagian dorsal.

Bakteri yang menginfeksi pada benih ikan kerapu tikus merupakan anggota genus *Vibrio* dengan karakteristik dapat tumbuh pada media TCBS, bersifat gram (-), katalase (+) dan oksidase (+). Bakteri ini infeksi ikan kerapu tikus selama 24 jam yang mengakibatkan gejala klinis di atas.

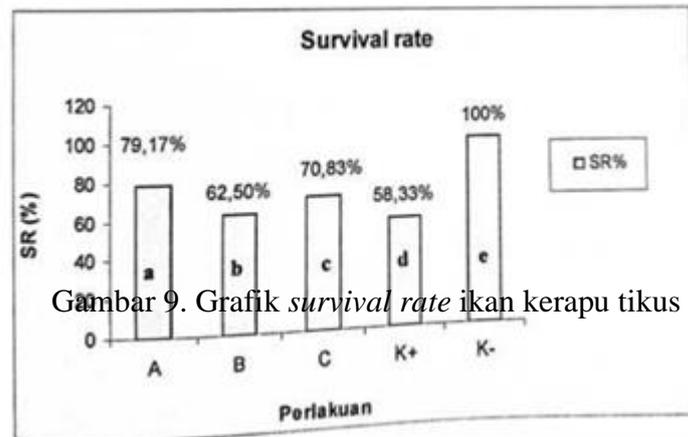
Pada awal infeksi bakteri *V. alginolyticus* pada ikan kerapu tikus pada hari pertama, respon makan ikan tidak ada, akibat pengaruh adaptasi lingkungan di dalam aquarium. Pada hari ke 3 awal injeksi ikan kerapu tikus mulai menunjukkan respon makan walaupun masih kurang. Kemudian 2 hari setelah pengobatan yaitu pada hari ke 4 respon makan ikan kerapu tikus mulai meningkat hingga akhir perlakuan.

Pada kontrol positif menggambarkan bahwa respon nafsu makan ikan pada perlakuan tersebut setelah penyuntikan bakteri *V. alginolyticus* pada hari pertama dan ke -2 terlihat belum menunjukkan respon makan pada hari ke 3 dengan respon makan yang masih kurang sampai akhir penelitian. Sedangkan pada penyuntikan PBS yaitu perlakuan pada kontrol negatif pada hari ke -1 dan ke -2 pada ikan kerapu tikus menunjukkan respon makan ikan yang tidak ada, kemudian pada hari ke 3 ikan kerapu tikus mulai menunjukkan respon makan walaupun masih kurang, disebabkan oleh ikan yang stress pasca penyuntikan, akan tetapi keadaan tersebut tidak berlangsung lama karena pada hari ke 4 hingga akhir perlakuan respon makan ikan sudah baik.

Survival Rate (SR)

Kelangsungan hidup ikan kerapu tikus selama perlakuan berlangsung dapat dilihat pada Gambar 5. Pada perlakuan A, B, dan C hasil penelitian untuk tingkat kelulusan hidup ikan kerapu tikus berturut-turut adalah 79,17%, 62,5%, dan 70,83%. Dan pada kontrol negatif tidak mengalami kematian.

Dari hasil *Survival rate* diketahui bahwa perlakuan pengobatan ekstrak kunyit putih untuk pengobatan infeksi bakteri *V. alginolyticus* dengan dosis 1 % merupakan dosis terbaik. Gambar 5 di bawah ini adalah grafik hasil *Survival rate* yang telah dilakukan.

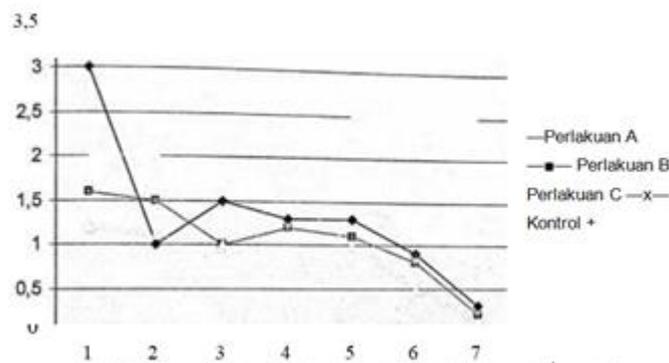


Gambar 9. Grafik *survival rate* ikan kerapu tikus

keterangan :

a: ekstrak kunyit putih 1 % b : ekstrak kunyit putih 1,5 % c : ekstrak kunyit putih 2 %
 d: tanpa ekstrak kunyit putih (hanya injeksi bakteri e: Injeksi PBS

d. Diameter Gejala Klinis



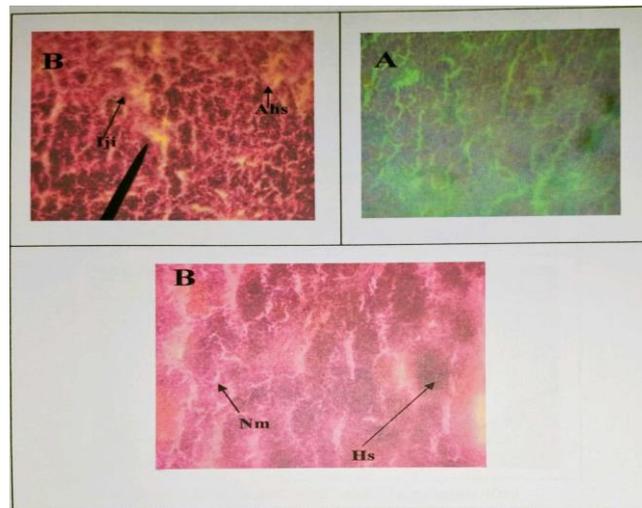
Gambar 10. Grafik Diameter Gejala Klinis Dam Kerapu Tikus

Gambar grafik diatas dapat dilihat bahwa skor rata-rata diameter gejala klinis ikan kerapu tikus setelah diinjeksi ekstrak kunyit putih dan pengamatan sampai pada hari ke 7 pasca pengobatan, kontrol positif atau yang tidak di injeksikan ekstrak kunyit putih bergerak konstan pada point rata - rata 2 sampai 2,5 sampai akhir perlakuan. Pada perlakuan A, B, dan C yaitu yang diberi ekstrak kunyit putih point rata - rata diameter gejala klinis sempat meningkat pada hari ke 3 dan hari ke 4 kemudian kembali menurun pada hari ke 5 sampai hari ke 7.

	1			2			3			ke-			1
	Gh	Dh	He	He	He	Nh	Nm	Gh	Dh	Dh	Gh	Dh	Dh
	He	Nh		He	Dh		Dh	Iji	Nm	He	Nm	Nh	He
	Nm			Nm		Ko	He	He	He	He	Dh	He	Nm
Limpa	Nm	Hs	Nm	Hs		Hs	Nm	Hs	He	Hs	Iji	Iji	Hs
Hati		Iji	Hs			Iji	Hs	Iji	Iji	Iji	He	Iji	Iji
						Nh	Ahs				Nh		
Ginjal	Gk	Gh	Gn	Gk		Gh	He	He	Gn	Gn	Nh	Ko	Gk
	Nm	He	He	He		Ko	Ko	Ko	Ko	He	Nm	Nm	He
	Ko			Ko		He	Nm	Nm	Nm	Nm			Nm
	He												

Keterangan :

Dh	Degenerasi hidropik
Gn	Glomerulus nefritis
Iji	Infiltrasi jaringan ikat
Ko	Kongesti
He	Hemoragik
Gh	Glomerulus hepatitis
Hs	Hemosiderin
Nm	Nekrosis multifokal
Gk	Glomerulus kronis
Nh	Nekrosis hepatitis
Ahs	Akumulasi hemosiderin



Gambar 12. Histopatologi limpa (Perbesaran 40x)

Keterangan :

- A. Normal
- B. Abnormal : Iji (Infiltrasi Jaringan Ikat), Nm (Nekrosis multifokal), Hs (Hemosiderin), Ahs (akumulasi hemosiderin)

Pada gambar di atas memperlihatkan bahwa pada organ limpa terjadi kerusakan jaringan berupa hemosiderin, nekrosis multifokal, infiltrasi jaringan ikat, akumulasi hemosiderin.

Tabel 3. Tabel histopatologi

Organ Dalam	1%			1,50%			2%			Positif			Negatif
	Ulangan ke-			Ulangan ke-			Ulangan ke-			Ulangan ke-			Ulangan ke-
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1
Hati	Gh Dh	He	Gh	He	Nil	Nm	Gh	Dh	Dh	Gh	Dh	Dh	Dh
	He He	Dh	He	Nil	He	Dh	Iji	Nm	He	Nm	Nh	He	He
	Nm Nh		Nm	Dh	Iji	He	He	He	Hs	Dh	He	Nm	Nm
Limpa	Nm Hs	Nm	Hs	Hs	Nm	Hs	He	Hs	Iji	Iji	Hs	Hs	Hs
	Iji	Hs		Iji	Hs	Gn	Iji	Iji	Hs	He		Iji	Iji
		Iji		He	Iji		Nm			Nh			
Ginjal	Gk Gk	Gn	Gk	Gh	He	He	Gn	Gn	Nh	Ko	Gk	He	He
	Nm	He	He	Ko	Ko	Ko	Ko	He		Nm		Nm	Nm
	Ko		Ko	He	Nm		Nm	Nm					
	He												

Dalam penelitian yang ini, pemberian aerator membantu menjaga kondisi DO tetap stabil. Dalam pengamatan nilai DO berkisar diantara 9,10 hingga 10,10. Nilai salinitas berkisar 30-31, nilai suhu berkisar antara 27,1 - 27,2°C dan nilai pH berkisar antara 7,1 - 7,2. hasil pengamatan kualitas air dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Parameter rata-rata harian kualitas air

Perlakuan	Parameter			
	DO	°c	pH	Salinitas
Kontrol Positif	9,9	27,1	7,2	30
Dosis 1 %	9,92	27,2	7,1	31
Dosis 1,5 %	10,1	27,1	7,1	30
Dosis 2 %	9,5	27,1	7,2	32
Kontrol Negatif	9,1	27,1	7,1	31

Pada saat dilakukan penelitian dalam uji LD₅₀ menunjukkan bahwa ikan kerapu tikus yang diinfeksi bakteri dengan konsentrasi yang berbeda, pengaruh kematian ikan dapat disimpulkan bergantung pada dosis kepadatan *V.alginofyticus* yang diberikan. Hal tersebut diduga karena *V. alginofyticus* merupakan bakteri patogen yang berbahaya bagi spesies ikan kerapu tikus. Dari pengamatan pada uji LD₅₀ yang dilakukan didapatkan nilai LD₅₀ yang diperoleh dari ikan kerapu tikus yang diinfeksi bakteri *V. alginofyticus* adalah 10⁶ cfu/ml.

Menurut Baraiawidjaja (2002) yang menyatakan mekanisme sistem pertahanan spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dan merupakan komponen normal tubuh yang berfungsi untuk melawan segala jenis patogen karena dapat memberikan respons langsung.

Pada uji In Vitro uji MIC diketahui memiliki nilai dosis ekstrak kunyit putih yaitu 0,25 %, dimana dosis ini merupakan batas dosis minimum yang mampu menghambat pertumbuhan

bakteri *V. Alginolyticus*. Pengamatan melalui uji MBC didapatkan dosis sebesar 0,75% ekstrak kunyit putih sebagai konsentrasi tertinggi dalam menanggulangi pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*, semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin tinggi pula kemampuannya dalam menanggulangi pertumbuhan bakteri.

Pada uji *In vivo* ikan mengalami kematian pada hari kedua setelah diinjeksi bakteri *V. alginolyticus*, hal ini menunjukkan bakteri menginkubasi tubuh ikan kerapu tikus setelah 24 jam pasca injeksi bakteri *Alginolyticus*. Kondisi gejala Minis yang ditimbulkan ikan kerapu tikus yaitu mengalami peradangan, mata membesar (*pop eye*). Yanuhar (2007) menyatakan bahwa bakteri *V. alginolyticus* mampu merusak sistem protein sehingga ikan mengalami peradangan.

Zat antibakteri *kurkuminoid* pada kunyit putih dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri pada fase adaptasi. Dimana fase tersebut terdapat tiga fase Pertumbuhan bakteri pada fase adaptasi.

Dimana fase tersebut terdapat tiga fase pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* yaitu adaptasi fisik, adaptasi kimia dan adaptasi biologis. Adaptasi fisik merupakan proses penyesuaian secara bertahap oleh bakteri terhadap media tumbuh, sedangkan adaptasi kimia merupakan proses penyesuaian bakteri terhadap bahan ekstrak kunyit putih, dan adaptasi biologis merupakan penyesuaian kemampuan biologis bakteri *V. alginolyticus*, seperti bahan aktif antibakteri yang akan terabsorpsi melalui rantai metabolisme bakteri (Rand dan Petrocelli, 1985 dalam Petrus et al, 2006).

Pada pengamatan *Survival Rate* (SR) Ikan kerapu tikus, dengan injeksi ekstrak kunyit putih dengan dosis 1 % merupakan ketahanan hidup maksimum ikan kerapu tikus karena mencapai persentase SR sebesar 79,17 %, sedangkan SR terendah pada injeksi ekstrak kunyit putih 1,5 % dengan nilai persentase SR sebesar 62,5 %. Oleh karena itu dosis 1 % ekstrak kunyit putih merupakan dosis terbaik dalam mengobati ikan kerapu tikus dari infeksi bakteri *V. Alginolyticus*.

Pengamatan diameter gejala klinis pada ikan kerapu tikus setelah diinjeksi bakteri *V. Alginolyticus* pada hari pertama sudah terlihat gejala klinis seperti tukak, radang pada setiap perlakuan bahkan kematian, akan tetapi belum tampak gejala klinis hemoragi. Hal ini membuktikan bakteri *V. alginolyticus* sangat patogen terhadap ikan kerapu tikus. Fase pengobatan yaitu pada hari ke 2 pasca infeksi bakteri *V. alginolyticus*, kemudian 1 hari pasca pengobatan belum terlihat ikan kerapu tikus mengalami penyembuhan terlihat dari diameter gejala klinis pada beberapa ikan kerapu tikus sedikit membesar, akan tetapi pada hari ke 5 sampai hari ke 8 pasca pengobatan diameter gejala klinis mulai mengecil.

Menurut *Jawetz et al.*, (2001) pertumbuhan bakteri yang mati akibat suatu zat antibakteri dapat disebabkan oleh penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membran sel, penghambatan terhadap sintesis protein, atau penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Di antara berbagai kerusakan yang dapat terjadi pada sel bakteri tersebut, yang mungkin terjadi pada bakteri *V. alginolyticus* akibat pemberian ekstrak kunyit putih yaitu penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Ini berlandaskan dengan senyawa *kurkuminoid* pada kunyit putih yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* (*Harborne, 1987*).

Selain itu, daya antibakteri ekstrak kunyit putih diduga juga berkaitan dengan adanya skopoletin yang dapat mempengaruhi dinding sel bakteri. Proses perakitan dinding sel bakteri diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain, sehingga menyebabkan dinding sel terakit

Jika ada kerusakan pada dinding sel atau ada hambatan dalam pembentukannya dapat terjadi lisis pada sel bakteri, sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan membentuk koloni dan diikuti dengan kematian sel bakteri. Pada penelitian ini diduga antibakteri kunyit putih mampu menekan produksi enzim degeneratif bakteri *V. alginolyticus* seperti enzim protease yang akan mengurai protein menjadi asam amino yang akan dibentuk menjadi protein penyusun sel bakteri. Difusi antibakteri dipercepat dengan kadar ekstrak kunyit putih (Samah, 1990 dalam Andoyo, 2003).

Dari hasil ini diketahui bahwa ekstrak kunyit putih mempunyai efek yang cukup baik dalam menanggulangi pertumbuhan bakteri *V alginolyticus*. Secara *in-vitro* maupun secara *in vivo* dan juga tingkat konsentrasinya juga mempengaruhi keefektifan pengobatannya.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kunyit putih berpengaruh nyata terhadap ikan kerapu tikus yang diinfeksi dengan bakteri *V.alginolyticus*. Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kunyit putih efektif sebagai pengobatan pada ikan uji yang diinfeksi oleh bakteri *V. alginolyticus*.

Pada analisis data pemberian ekstrak kunyit putih sebanyak 2% kepada ikan uji menghasilkan tingkat infeksi terendah, yaitu 43.7. Selanjutnya pada ikan uji yang diinfeksi *Valginolyticus* tanpa pemberian ekstrak kunyit putih menghasilkan tingkat infeksi tertinggi yaitu 100. Sedangkan pada pengamatan diameter gejala klinis, pemberian ekstrak kunyit putih dengan konsentrasi 2% kepada ikan uji menghasilkan tingkat infeksi terendah yaitu 13.6666 dan pada perlakuan kontrol positif yaitu yang di infeksi bakteri *V. alginolyticus* tanpa diinjeksi ekstrak kunyit putih yaitu memiliki nilai infeksi tertinggi sebesar 32,6666. Akan tetapi pada analisis data survival rate ikan kerapu tikus menunjukkan hasil yang tidak beda nyata, ini menandakan bahwa kelangsungan hidup ikan kerapu tikus tidak terpengaruh oleh gejala klinis yang ditimbulkan bakteri *V. alginolyticus*.

Pada percobaan ini, ekstrak kunyit putih disimpulkan dapat bertindak sebagai antibakteri terhadap *V.alginolyticus*. Karena menimbulkan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri tersebut. Ekstrak kunyit putih, dengan menggunakan kunyit yang masak, akan lebih efektif untuk dimanfaatkan sebagai sumber senyawa antibakteri.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Uji *In vitro* didapatkan konsentrasi ekstrak kunyit putih 0,75% pada uji MBC dan MIC didapat konsentrasi 0,25 %, dimana konsentrasi 0,75 % Merupakan dosis efektif ekstrak kunyit putih dalam menanggulangi bakteri *V.alginolyticus*.
2. Pada uji *in vivo* berdasarkan persentase kelulushidupan (SR) ikan kerapu tikus, Ekstrak kunyit putih (i *Cdomestica vail*) dengan dosis pengobatan 1% mencapai persentase SR tertinggi, dengan demikian dosis efektif dalam menanggulangi bakteri *V. alginolyticus* yang diinfeksi ke dalam tubuh ikan kerapu tikus adalah 1 % konsentrasi ekstrak kunyit putih.
3. Pada pengamatan *Survival Rate* pada ikan kerapu tikus, diketahui bahwa kelulushidupan ikan kerapu tikus tidak memberikan pengaruh nyata pada gejala klinis yang ditimbulkan oleh infeksi bakteri *Alginolyticus*.

5. DAFTAR PUSTAKA

A.Wilis, dkk 2009. *Shining dan Aplikas traditional herbal Indonesia sebagai*



- Immunomo-Dulator padasystem kekebalan nonspesifik ikan dan udang terhadap infeksi bacterial dan viral, TJniversitas Diponegoro, Semarang.*
- Boyd. 1982. *Water Quality Management For Pond Fish Culture*. Elsevier Scientific Publishing Company Amsterdam, Oxford, New York.301.pp
- Boyd. C.E. 1981, *Water Quality and Warm Water Fish Pond* Auburn University Alabama.358 pp.
- Boyd. 1991. *Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming*. Water Harvesting Project Of Auburn University. Alex Bocek. Editor Pp : 5 -19.
- Cholik. F. Artaty; dan Arifudin.1986. *Kualitas Air Kolam*. Direktorat Jenderal Perikanan Jakarta.52 pp. Institut Pertanian Bogor (IPB).
- Effendie. I. 1989. *Iktiologi*.Institut Pcertanian Bogor. Bogor.
- Effendi. H. 2000. *Telaah Kimia Air*, Jurusan Manajemen Sumber Daya Perairan. IPB : Bogor. Hlm 50,61,67.
- Heemstra. P.C, and Randall, J.E,. 1993. *Groupers of The World (Famili Seiranidae, Subfamili Epinephelinae)*. Rome, Food and Agriculture Organization of The United Nations) FAO Species Catalogue Vol.16.
- Huervana. F.H. et al. 2006. *Inhibition of Luminous Vibrio sp By Green Water Obtained From Tank Culture of Tilapia (Oreochromis mossambicus)*. J. Acta Ichthyologica Pistartoria. Institute of the Philippines in the Yisayas, miag-ao 5023, Iloilo, Philippines. Him 17.
- Ismail, M. 1992. *Water Quality Criteria*. FWPCA. NTAC. Washington DC.
- Muslimin. L. W. 1996. *Mikrobiologi Lingkungan. Pusat studi lingkungan* : Jakarta
- Martutik,. 2005. *STUDI PERTUMBUHAN BAKTERI Vibrio harveyi dan Vibrio alginolyticuspada media TSA d penambahan chitin* , Universitas Airlangga.
- Najiyati. S. 1992. *Memelihara Lele Dumbo di kolam Taman*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Nasution. H.S.** 2003. *Efektifltas Berbagai kombinasi Campuran Dam (Andrographis paniculate), Darn Sirih (Piper betle), dan Dam Biji (Psidium guajava) Melalui Pakan Untuk Pencegahan Penyakit MAS Pada ikan lele (Clarias sp). Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan . Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ronald E. Walpole. 1995. *Pengantar*Edisi 3. P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Retnawati. 2009. *Pemberian vaksin polivalen dengan chitosan dari komponen outer membrane protein dan lipopolisakarida Vibrio alginolyticus dan Vibrio anguilularurun terhadap sintasan benih kerapu macan (Epinephelus fuscoguttatus)*, Universitas Airlangga.
- Savela, M. 2004. *Fish List (with flnnish common names) : Part 5*. Diakses dan : <http://www.funet.fi/pub/sci/bio/life/warp.html>. padatanggal 14 april 2010
- Yanuhar, U. 2007. *Rekayasa Cipta Kerapu Kebal*. Majalah TROBOS edisi D. September 2007.
- ZafranRoza., I. Koesharyani., F. Johny dan K. Yuasa. 1998. *Manual For Fish Diseases Diagnosis*. JICA Fish Diseases Expert, Japan International Cooperation Agency.
- Zonneveld, N., E. A. Huisman, dan J.H. Boon. 1991. *Prinsip - Prinsip Budidaya ikan*. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta. Hlm 160.