

ISSN 0216 - 0749

# AQUACULTURA INDONESIANA

VOLUME 9    NOMOR 2    AGUSTUS    2008

MASYARAKAT AKUAKULTUR INDONESIA  
(INDONESIAN AQUACULTURE SOCIETY)

SK DIKTI NOMOR : 55/DIKTI/Kep/2005

Aquacultura  
Indonesiana

Vol. 9

No. 2

Hal.  
61 - 115

Semarang  
Agustus 2008

ISSN  
0216 - 0749

# AQUACULTURA INDONESIANA

ISSN 0216 – 0749

● Volume 9 ● Nomor 2 ● Agustus ● 2008

## Daftar Isi

- Studi pendahuluan pemanfaatan miselia jamur *Lagenidium* sebagai imunostimulan dalam pemeliharaan ikan kerapu  
*Zafran* ..... 61 – 65
- Karakterisasi molekuler agensia penyebab utama vibriosis pada kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari Karimunjawa  
*Sarjito, Ocky Karna Radjasa, Sahala Hutabarat dan S. Budi Prayitno*..... 67 – 72
- Substitusi tepung ikan dengan limbah penetasan ayam alam pakan kepiting bakau  
*Neltje N. Palinggi, Usman, Makmur dan Kamaruddin*..... 73 – 77
- Pendederan benih kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dengan pemberian pakan berbeda  
*Hidayat Suryanto Suwoyo dan Markus Mangampa*..... 79 – 85
- Pertumbuhan dan kelulushidupan kepiting bakau (*Scylla serrata* Forsskål) pada perbedaan asal habitat dan ukuran berat di dalam proses domestikasi induk  
*Sunaryo*..... 87 – 95
- Respon pertumbuhan juvenil ikan kerapu pasir (*Epinephelus corallicola*) dengan padat tebar awal berbeda  
*Irwan Setyadi*..... 97 – 102
- Perkembangan benih ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) pasca perendaman hormon tiroksin  
*Popi Hadi Wisnuwardhani,  
Purnama Sukardi dan Gratiana Eka Wijayanti* ..... 103 – 110
- Pengaruh dosis ekstrak hipofisis ikan patin (*Pangasius hypothalamus*) terhadap keberhasilan pemijahan ikan bawal air tawar (*Collosoma macropomum*)  
*Saifudiaz Romadhon, Iskandar dan Masyamsir* ..... 111 – 115

ISSN 0216-0749



9 770216 074904

## Karakterisasi Molekuler Agen Penyebab Utama Vibriosis Pada Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari Karimunjawa

Sarjito<sup>1</sup>, Ocky Karna Radjasa<sup>2</sup>, Sahala Hutabarat<sup>3</sup> dan S. Budi Prayitno<sup>1</sup>

1) PS. Budidaya Perairan, FPIK Universitas Diponegoro  
Jl. Hayam Wuruk 4A Semarang

2) Pusat Kajian Pesisir dan Laut Tropis Universitas Diponegoro  
Gedung Widya Puraya, Kampus UNDIP Tembalang, Semarang

3) PS. Manajemen Sumberdaya Perairan, FPIK Universitas Diponegoro  
Kampus FPIK UNDIP Tembalang, Semarang

### Abstract

**Sarjito, Ocky Karna Radjasa, Sahala Hutabarat and S. Budi Prayitno. 2008. Molecular characterization of the main causative agent of vibriosis on tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) from karimunjawa. *Aquacultura Indonesiana*, 9 (2): 67-72.** Moribund tiger grouper fish was taken from the cages of Karimunjawa. The research aimed to find out the main causative agent of vibriosis on *Epinephelus fuscoguttatus* from Karimunjawa. Six isolates of *Vibrio* were isolated from external wound and kidney of *E. Fuscoguttatus*. Based on the Koch postulate and pathogenicity test results indicated that only one vibrio act as a main causative agent of vibriosis, i.e. isolate JT 27 which caused mortality of 100% to *E. fuscoguttatus*. Because of the highest mortality as pathogenicity indicator, the isolate of JT 27 was continued to investigate. A complementary molecular techniques of 16S rDNA genes [amplified 16S ribosomal DNA) was used to give a comprehensive characterization of the isolate. On the basis of the results of sequen analysis, the data showed that JT 27 isolate was closely related to *Vibrio parahaemolyticus* (99.0%). Clinical signs of the moribund grouper fish indicated by *Vibrio parahaemolyticus* was e.g., haemorrhagic in surrounding mouth and tail, mucosal and epithelial damage, colour of hepar was pale and exophthalmia.

**Keywords:** Causative agent; *E. Fuscoguttatus*; Vibriosis; *V. Parahaemolyticus*

### Abstrak

Ikan kerapu macan sakit diperoleh dari keramba jaring apung di Karimunjawa. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji tanda-tanda klinis dan *Vibrio* patogen agensia penyebab utama vibriosis pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari keramba jaring apung di Karimunjawa. Sebanyak 6 isolat *Vibrio* diisolasi dari bagian luka maupun ginjal kerapu macan yang menunjukkan gejala vibriosis, pada medium *Thiosulfat Citrat Bile Salt Agar* (TCBSA). Hasil uji postulat Koch dan patogenitasnya dari enam isolat, diperoleh bahwa isolat JT 27 yang mengakibatkan 100% dan merupakan agensia penyebab utama vibriosis pada ikan kerapu macan. Oleh karena itu, pada penelitian ini hanya isolat JT 27 yang akan dilakukan uji selanjutnya. Teknik molekuler gen 16S rDNA (amplifikasi 16S DNA ribosom) digunakan untuk karakterisasi agensia penyebab utama (JT 27) secara komprehensif. Berdasarkan analisis sekuen gen 16S rDNA, data menunjukkan bahwa isolat JT 27 memiliki kekerabatan terdekat dengan *Vibrio parahaemolyticus* (99.0%). Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan kerapu macan yang terserang *V. parahaemolyticus* adalah haemorrhagik pada mulut dan pangkal sirip, warna hati pucat, dan mata membesar.

**Kata kunci:** Agensia penyebab; Kerapu macan, Vibriosis, *V. Parahaemolyticus*

### Pendahuluan

Budidaya ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) memiliki prospek secara ekonomis, baik di pasaran domestik dan internasional. Akan tetapi, seiring dengan berkembangnya budidaya ikan tersebut, maka timbul pula kendala berupa kematian (Murdjani, 1997). Kematian ini diduga diakibatkan oleh infeksi bakteri *Vibrio* spp. (Koesharyani dan

Zafran, 1997; Taslihan *et al.*, 2000). *Vibrio* merupakan patogen utama penyebab vibriosis pada kegiatan budidaya ikan laut dan payau (Irianto, 2005).

Berbagai bakteri *vibrio* telah dilaporkan sebagai agensia penyebab vibriosis pada ikan kerapu yaitu *V. anguillarum* (Nitimulyo *et al.*, 2005; Wijayanti dan Hamid, 1997); *V. alginoliticus* (Murdjani, 2002; Nitimulyo *et al.*, 2005; Sarjito *et*

al., 2007<sup>b</sup>; Taslihan *et al.*, 2000; Wijayanti dan Hamid, 1997); *V. parahaemoliticus* (Nitimulyo *et al.*, 2005; Wijayanti dan Hamid, 1997; Sarjito *et al.*, 2007).; *V. Damsella* (Austin dan Austin, 1999), *V. Fluvialis* (Austin dan Austin, 1999; Nitimulyo *et al.*, 2005); *V. Furnisii*, *V. metchnikovii*, *V. vulnificus* (Nitimulyo *et al.*, 2005). Akan tetapi, identifikasi bakteri agensia penyebab vibriosis pada ikan kerapu yang telah dilakukan oleh Seng *et al.* (1994); Austin dan Austin (1999); Wijayanti dan Hamid (1997); Taslihan *et al.* (2000); Nitimulyo *et al.* (2005); Sarjito *et al.* (2007<sup>ab</sup>) adalah secara konvensional dengan uji morfologi dan biokimia.

Berbagai metode secara molekuler untuk mendeteksi jenis bakteri ini telah pula berkembang (Myers *et al.*, 2003). Untuk itu, sesuai saran dari Cunningham (2002), perlu adanya diagnostik molekuler untuk penyakit ikan dan udang. Perkembangan penggunaan deteksi dengan metoda PCR adalah merupakan hal penting dalam penentuan strain bakteri patogen (Myers *et al.*, 2003; Panicker *et al.*, 2004) Oleh karena itu., menarik untuk dikaji agensia penyebab vibriosis pada ikan kerapu macan secara molekuler. Pada penelitian ini akan dilaporkan agensia penyebab utama vibriosis pada ikan kerapu macan (*E. fuscogutatus*) sakit yang berasal dari keramba jaring apung di Karimunjawa berdasarkan pada 16 S rDNA PCR.

## Materi dan Metode

### Materi

Ikan kerapu macan sakit diperoleh dari keramba jaring apung di Karimunjawa. yang kemudian dilanjutkan isolasi bakteri *Vibrio* dengan media TCBSA di Laboratorium Kelautan Terpadu, FPIK UNIP dan penyimpanan pada media Nutrien Agar Trisalt (NA, Merck). Ikan sampel diambil secara selektif terhadap ikan yang menunjukkan gejala serangan vibriosis sesuai Koesharyani dan Zafran (1997); Austin dan Austin (1999).

Enam isolat bakteri vibrio (isolat JT 8, JT 14, JT 15, JT 23, JT 27, JT 28) telah diperoleh dari ikan kerapu macan sakit tersebut. Berdasarkan hasil postulat koch, uji patogenitas, histopathologi dan gejala klinis yang ditimbulkan, diperoleh bahwa isolat JT 27 adalah merupakan agensia penyebab utama vibriosis pada kerapu macan (Sarjito *et al.*, 2007a).

Oleh karena itu, isolat JT 27 ini yang terpilih untuk uji selanjutnya yaitu karakterisasi secara molekuler

### Metode

Penelitian dilakukan dengan menggunakan perpaduan antara metoda eksploratif (Nazir, 1999). Karakterisasi bakteri vibrio agensia penyebab utama (isolat JT 27) secara molekuler berdasarkan 16 S rDNA. Ekstraksi DNA dan amplifikasi DNA dilakukan di Laboratorium Kelautan Terpadu FPIK Universitas Diponegoro dan Laboratorium Bioteknologi BPPT Serpong. Sedangkan sekuensing DNA dilakukan BPPT Serpong, Jakarta.

### Ekstraksi dan amplifikasi DNA

Untuk analisis PCR, DNA genom dari isolat JT 27 diekstraksi dari sel dengan cara mengambil sel bakteri dari plate agar, disuspensi dalam air steril (Sigma, Germany) dan diberi perlakuan fisik freezing (-70°C) dan thaw (95°C). Amplifikasi DNA-PCR total gen 16S rDNA dari isolat JT 27, purifikasi hasil PCR dan analisis sekuen dilakukan menurut metode dari Brinkhoff dan Muyzer (1997) dan Radjasa *et al.* (2007).

PCR dilakukan dengan menggunakan Eppendorf Mastercycler (Eppendorf Inc. Germany) adalah sebagai berikut: 2 µl template DNA, 40 pmol primer, 125 µmol deoxyribonucleoside triphosphate, 5 µl 10 x RedTaq™ PCR buffer (Sigma, Germany), 1.2 mg ml<sup>-1</sup> (konsentrasi akhir) bovine serum albumin (Sigma) dan 0.75 unit RedTaq™ DNA polymerase (Sigma) diatur konsentrasi akhir hingga volume 50 µl dengan air steril (Sigma). PCR dilakukan 40 siklus dengan kondisi 1 menit pada 95°C, annealing 1 menit 70°C dan ekstensi selama 2 menit pada 72°C (Radjasa *et al.*, 2007).

### Sekuen gen 16S rDNA hasil amplifikasi PCR

Hasil amplifikasi PCR gen 16S rDNA dari isolat JT 27 dipurifikasi. Kemudian analisis sekuensing dilakukan dengan metode dari Brinkhoff dan Muyzer (1997). Hasil sekuen isolat selanjutnya dibandingkan homologinya dengan sekuen DNA pada DNA database Gen Bank. Penelusuran dilakukan dengan sistem internet, yaitu melalui sistem pelacakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada *National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA* (Atschul *et al.*, 1997).

### Analisis filogenetik

Hasil sekuen 16S rDNA dari isolat JT 27 dan beberapa referensi sekuen 16S rDNA dianalisis dengan menggunakan Clustal X. Parsimony dalam rangka menghitung jarak matrik dan membangun pohon filogenetik dengan perangkat lunak PAUP (Swofford, 1998).

### Hasil dan Pembahasan

#### Hasil

Ikan kerapu macan yang terinfeksi oleh vibriosis mengalami gejala klinis berupa perubahan tingkah laku (bergerak lamban, keseimbangan

terganggu dan nafsu makan menurun); perubahan morfologi (warna tubuh menjadi gelap, timbul luka kemerahan atau *haemorrhagic* pada mulut dan pangkal sirip. Selain itu, terjadi pula perubahan morfologi pada organ dalam berupa hati berwarna pucat dan akumulasi cairan pada rongga perut dan saluran pencernaan ikan sampel. Selain itu ada kecenderungan ikan kerapu macan yang terserang vibriosis berada pada dasar keramba jaring apung.

Isolasi bakteri *Vibrio* dari ikan kerapu macan sakit dari keramba jaring apung Karimunjawa diperoleh 6 isolat bakteri *Vibrio* yaitu JT 8; JT 14; JT 15; JT 23; JT 27; JT 28. Enam isolat tersebut berdasarkan warna koloni dan organ asal isolat pada media TCBSA serta uji postulat Koch disajikan pada Tabel 1.

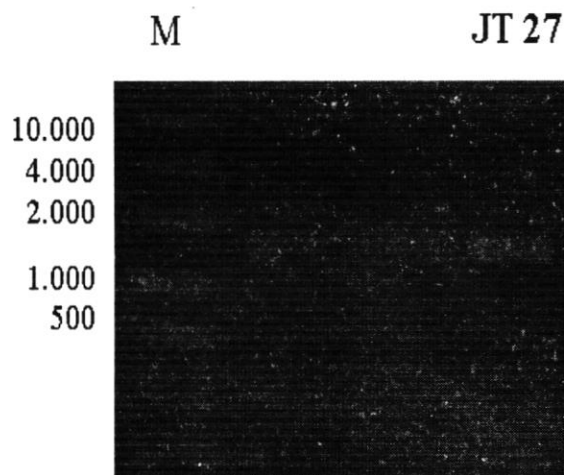
Tabel 1. Isolat *Vibrio* dari kerapu macan sakit di karamba jaring apung Karimunjawa

No.	Kode isolat	Asal Isolasi	Warna koloni	Postulat Koch/ Mortalitas (%)
1	JT 8	Luka	Putih	0
2	JT 14	Luka	Kuning	0
3	JT 15	Ginjal	Kuning	0
4	JT 23	Ginjal	Putih	0
5	JT 27	Luka	Hijau	100
6	JT 28	Ginjal	Hijau	60

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa dari enam isolat bakteri tersebut, dua isolat bersifat patogen atau sebagai agensia penyebab vibriosis yaitu isolat JT 27 dan isolat JT 28 (Tabel 1.). Isolat JT 27 mempunyai tingkat patogenesis ikan yang paling tinggi yaitu menyebabkan kematian 100%. Oleh karena itu, hasil uji Postulat Koch menunjukkan bahwa isolat JT 27 merupakan bakteri vibrio bersifat patogen dan merupakan causative agent utama vibriosis pada ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*) di karamba jaring apung dari Karimunjawa.

Amplifikasi DNA dari isolat JT 27 dilakukan dengan menggunakan primer ribosomal (F: posisi 8 sampai 27; dan 1500 R: posisi 1510 sampai 1492 dari penomoran 16S rRNA *E. coli*). Hasil amplifikasi DNA dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil penelusuran homologi sekuen 16S rDNA terhadap isolat JT 27 dengan sekuen DNA database *Gen Bank* menggunakan sistem BLAST menunjukkan bahwa isolat JT 27 tersebut memiliki kemiripan 99% dengan *Vibrio parahaemolyticus* (Acc. No. EF467290).



Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA-PCR Isolat JT 27

#### Pembahasan

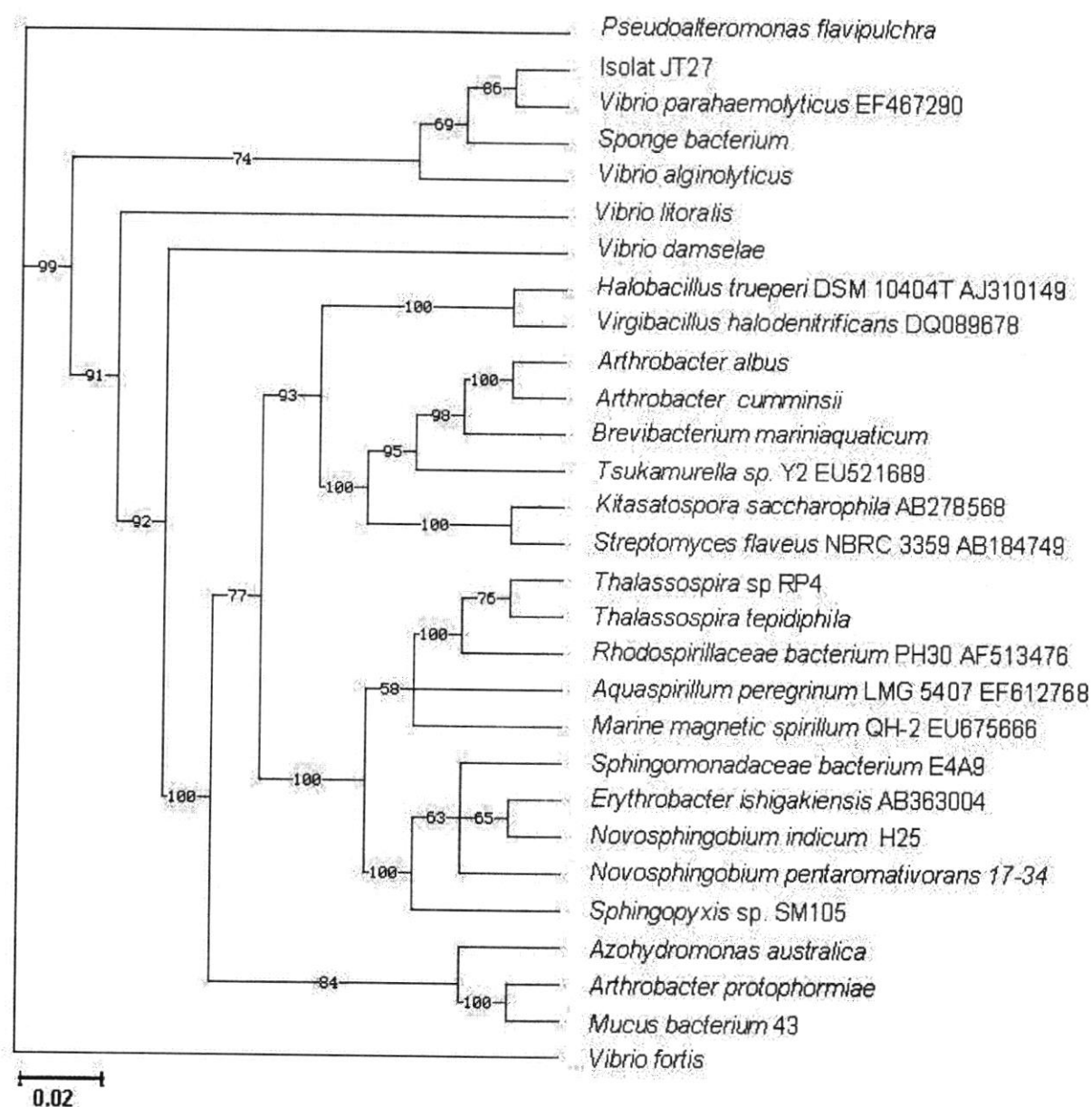
Hasil pengamatan gejala klinis yang ditunjukkan oleh beberapa ikan kerapu macan (*E. fuscogustatus*) sakit dari karimunjawa berupa tubuh menjadi lebih gelap, bercak atau luka warna merah pada mulut dan pangkal sirip; pembengkakan pada mata dan anus; keseimbangan terganggu dan

terjadi akumulasi cairan pada rongga perut dan usus. Gejala klinis serupa pernah pula dilaporkan oleh Koesharyani dan Zafran (1997); Austin dan Austin (1999); Wijayati dan Hamid (1997); Taslihan *et al.* (2000); Nitimulyo *et al.* (2005); Sarjito *et al.* (2007<sup>ab</sup>) pada ikan kerapu yang terserang vibriosis.

Amplifikasi DNA dari isolat JT 27 dilakukan dengan menggunakan primer ribosomal (F: posisi 8 sampai 27; dan 1500 R: posisi 1510 sampai 1492 dari penomoran 16S rRNA *E. coli* (Gambar 1) . Hasil tersebut diperoleh bahwa isolat JT 27 menghasilkan *single band* (pita tunggal) dengan

ukuran sekitar 1500 bp sesuai dengan perbandingan menggunakan marker DNA. Besarnya ukuran ini sesuai dengan ukuran yang diharapkan dari gen-gen 16S rRNA bakteri yaitu sekitar 1500-1600 bp (Sabdon, 2001)

Perbandingan sekuen gen 16S rDNA dan konstruksi pohon filogenetik (Gambar 2.) dari isolat JT 27 dengan sekuen dari GeneBank menunjukkan bahwa strain ini mempunyai kekerabatan dekat dengan *Vibrio parahaemolyticus* (99%) untuk strain JT 27.



Gambar 2. Pohon filogenetik bakteri vibrio Isolat 27 agensia penyebab vibriosis pada kerapu macan dan strain referensi dari database 16S rDNA. *Pseudoalteromonas flavipulchra* digunakan sebagai *outgroup*.

Hasil karakterisasi secara molekuler agensia penyebab utama vibriosis pada ikan kerapu macan pada penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan karakterisasi secara biokimia yang dilakukan oleh Sarjito et al. (2007<sup>a</sup>). Karakterisasi secara biokimia yang sering digunakan dalam identifikasi bakteri adalah merupakan metoda identifikasi dalam memperoleh sifat phenotif dari bakteri atau identifikasi secara phenotif (Fabiano et al., 2004). Sedangkan karakterisasi secara molekuler, salah satunya dengan 16S rDNA dapat dilakukan dalam rangka pembentukan pohon phylogenetik dan menutupi kekurangan dari karakterisasi secara morphology dan biokimia, lebih menghemat biaya, cepat dan akurat (Fabiano et al., 2004). Berbagai penelitian dengan menggunakan karakterisasi molekuler dengan PCR dilakukan untuk bakteri patogen yaitu *V. Parahaemolyticus* (Myers et al., 2003; Myers et al., 2006; Boyd et al., 2008). Agensia penyebab vibriosis yang sama pernah pula dilaporkan pada ikan (Osawa et al., 1996); ikan kerapu (Seng et al., 1994; Sarjito et al., 2007<sup>b</sup>) dan udang (Suddesh dan Xu, 2001). Selain itu, *Vibrio parahaemolyticus* adalah merupakan salah satu agensia penyebab vibriosis pada ikan kerapu di Balai Budidaya Air Payau di Situbondo (Nitimulyo et al., 2005); ikan kerapu bebek di keramba jaring apung (Sarjito et al., 2007<sup>b</sup>) dan ikan kerapu tikus di hatchery (Wijayanti dan Hamid, 1997). Bakteri *V. parahaemolyticus* juga diketemukan dalam air dan kekerangan di Teluk Meksiko (Myers et al., 2006).

## Kesimpulan dan Saran

### Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Hasil karakterisasi secara molekuler dengan 16S rDNA, agensia penyebab utama vibriosis pada ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*) dari keramba jaring apung Karimunjawa (isolat JT 27) memiliki kekerabatan terdekat dengan *Vibrio parahaemolyticus* (99.0%).
2. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan kerapu macan yang terserang *V. parahaemolyticus* adalah *haemorrhagik* pada mulut dan pangkal sirip, warna hati pucat dan mata membengkak.

### Saran

Perlunya aplikasi pendekatan secara molekuler, khususnya karakterisasi agensia penyebab vibriosis pada ikan kerapu yang lainnya.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Mas Junaedi, Agung, Mbak Dewi, Susi, Sri Nurchayati, dan Mustikawati yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan koleksi data. Dr. Ir. Agung Sabdono, M.Sc. yang telah memberikan saran dan bantuan untuk phylogenetiknya.

### Daftar Pustaka

- Atschul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D.J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. *Nucleic Acid Res.*, 25: 3389-3402.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1999. Bacterial Fish Pathogens Diseases of Farmed and Wild Fish, 3<sup>rd</sup> (revised) ed. Ellis Horwood, Chichester, England, 364 pp.
- Brinkhoff, T. and G. Muyzer. 1997. Increased species diversity and extended habitat range of sulfur-oxidizing *Thiomicrospira* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 3789-3796.
- Boyd, E.F., A.L. Cohen, L.M. Naughton, D.W. Ussery, T.T. Binnewies, O.C. Stine and M.A. Parent. 2008. Molecular analysis of the emergence of pandemic *Vibrio parahaemolyticus*. *BMC Microbiol.*, 8: 110 (Abstract only)
- Cunningham, C.O. 2002. Moleculer diagnosis of fish dan shellfish diseases : present status dan potential use in desases control. *Aquaculture*, 206: 19-55.
- Fabiano, L., Thomson, T. Iida and J. Swings. 2004. Biodevirity of Vibrios. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, pp. 405-451.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostoi. Gajah Mada University Press., Yogyakarta, 256 hlm.
- Koesharyani, I. dan Zafran. 1997. Studi tentang penyakit bakterial pada ikan kerapu. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 4: 35-39.
- Murdjani, M. 1997. Pembenuhan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dalam bak terkendali di Loka BPAP Situbondo. Ditjen Perikanan, Deptan, 9 hlm.
- Murdjani, M. 2002. Patogenisitas dan Patologi Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Tikus

- (*Cromileptes altivelis*). Disertasi, Program Pasca Sarjana, Universitas Brawijaya, Malang, 115 hlm.
- Myers M.L., G. Panicker and A.K. Bej.** 2003. PCR detection of a newly emerged pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 pathogen in pure cultures and seeded waters from the Gulf of Mexico *Appl. Environ. Microbiol.*, 69 (4): 2194-200.
- Myers M.L., G. Panicker and A.K. Bej.** 2006. Detection of pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 serovar in Gulf of Mexico water and shellfish using real-time PCR with Taqman fluorescent probes. *FEMS Microbiol Lett.*, 262 (2): 185-92.
- Nazir, M.** 1999. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia, Jakarta, 82 hlm.
- Nitimulyo, K.H., A. Isnansyoto, Triyanto, I. Istiqomah dan M. Murdjani.** 2005. Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi *Vibrio* spp. patogen penyebab vibriosis pada kerapu di Balai Budidaya Air Payau. *Jurnal Perikanan*, VII (2): 80-94.
- Osawa, R., T. Okitsu, H. Morozumi and S. Yamai.** 1996. Occurrence of urease-positive *Vibrio parahaemolyticus* in Kanagawa, Japan, white specific reference to presence of thermostable direct hemolysin (TDH) and the TDH-related-hemolysin genes. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 725-727.
- Panicker, G, M.L. Myers and A.K. Bej.** 2004. Rapid detection of *Vibrio vulnificus* in shellfish and Gulf of Mexico water by real-time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70 (1): 498-507
- Radjasa, O.K., D. Nasima, A. Sabdono, K.K. Tsukamoto and K. Ohwada.** 2007. Characterization of psychrophilic bacteria from sea waters of Makasar Street, Indonesia. *J. Biol., Sci.*, 7 (4): 658-662.
- Sabdono, A.** 2001. Identifikasi dan analisis genetik bakteri karang pendegradasi senyawa herbisida 2,4-diklorofenoksi asetat di laut Jawa. *Disertasi, Pasca Sarjana UGM*, 162 hlm.
- Sarjito, S.B. Prayitno, O.K. Radjasa dan S. Hutabarat.** 2007a. Karakterisasi dan pathogenesitas agensia penyebab vibriosis pada kerapu macan (*Epinephelus fuscogustatus*) dari Karimunjawa. *Aquacultura Indonesiana*, 8 (2): 89-95.
- Sarjito, S.B. Prayitno, O.K. Radjasa dan S. Hutabarat.** 2007b. Causative agent vibriosis pada kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) dari karimunjawa I. pathogenesitasnya terhadap ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscogustatus*). *Ilmu Kelautan*, Agustus, 2007.
- Seng, L.T.** 1994. Parasite and diseases of cultured marine finfish in South East Asia. Pusat Pengkajian Sains Kajihayat, Universitas Sains Malaysia, 25 pp.
- Suddesh, P.S. and H.S. Xu.** 2001. Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricus: possible role of extracellular protease. *Aquaculture*, 196: 37-46.
- Swofford, D.L.** 1998. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, Smithsonian Institution, 4 pp.
- Taslihan, A., M. Murdjani, C. Purbomartono dan E. Kusnendar.** 2000. Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Mulut Merah Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan*, II (2): 57-62.
- Wijayanti, A. dan N. Hamid.** 1997. Identifikasi bakteri pada pembenihan ikan kerapu tikus (*Cromileptes altifelis*). Direktorat Jenderal Perikanan, Departemen Pertanian, 8 hlm.