

**PENGARUH KO-INFESI BAKTERI  
*Streptococcus agalactiae* DENGAN *Aeromonas hydrophila*  
TERHADAP GAMBARAN HEMATOLOGI DAN  
HISTOPATOLOGI IKAN TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)**

Desy Sugiani<sup>1)</sup>, Sukenda<sup>2)</sup>, Enang Harris<sup>2)</sup>, dan Angela Mariana Lusiastuti<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar  
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16154  
E-mail: *desysugiani@yahoo.co.id*

<sup>2)</sup> Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor  
Jl. Rasamala, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

(Naskah diterima: 28 Desember 2011; Disetujui publikasi: 8 Maret 2012)

**ABSTRAK**

Karakteristik hasil ko-infeksi buatan dari penyakit *Streptococcosis* dan MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) dapat dilihat dengan menggunakan parameter gambaran hematologi dan histopatologi. Ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) ukuran 15 g diinfeksi secara intra peritoneal dengan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Aeromonas hydrophila* menggunakan dosis LD<sub>50</sub>. Perubahan pertahanan non spesifik ikan terhadap infeksi patogen dilihat dengan mengamati *level* hematokrit, neutrofil, limfosit, monosit, dan indeks fagositik darah ikan tilapia yang diambil dari arteri caudalis pada hari ke-3, 6, 9, 12, dan 15 setelah infeksi. Hasil analisis perubahan *level* hematokrit dan limfosit lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, *level* neutrofil lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, dan *level* monosit dan indeks fagositik fluktuatif selama masa perlakuan memperlihatkan adanya homeostasi gambaran darah ikan terhadap serangan infeksi antigen. Hasil histopatologi organ ginjal, otak, hati, dan limfa memperlihatkan dua pola karakter luka. Pola pertama, luka yang *focal* sampai terlihat adanya inflamasi dan perdarahan. Pola kedua, luka yang *multifocal*, luka parah (*acute*), nekrotik, dan luka inflamasi yang mengakibatkan deformasi sel-sel organ.

**KATA KUNCI:** *S. agalactiae*, *A. hydrophila*, ko-infeksi, hematologi, histopatologi

**ABSTRACT:** *Haemato responses and histopathology of tilapia (Oreochromis niloticus) to co-infection Streptococcus agalactiae and Aeromonas hydrophila. By: Desy Sugiani, Sukenda, Enang Harris, and Angela Mariana Lusiastuti*

*Characteristic of co-infection from Streptococcosis disease and MAS (Motile Aeromonas Septicaemia) was assessed by analyzing hematological and histopathological parameters. Fifteen gram Nile tilapia (Oreochromis niloticus) infected by intraperitoneal injection with Streptococcus agalactiae and Aeromonas hydrophila using LD<sub>50</sub>. The different administration co-infection stimulated hematological response in Nile tilapia post-infection. Infected fish groups presented higher hematocrit, number of neutrophils, number of lymphocytes, number of monocytes, and phagocytic ability on 3, 6, 9, 12, and 15 days after infection than the non-infected group. The result of this study suggest that there is a homeostatic balances on hematological respons during co-infection. Nile tilapia also were clinically*

*examined and necropsied for histopathology, samples were taken from kidney, brain, liver, and spleen. Histopathological lesions were grouped into two characteristic patterns. The first pattern consisted focal lesion and inflammation. The second pattern consisted of multifocal lesion, necrotic, and inflammatory lesions resulting organ deformation.*

**KEYWORDS:** *S. agalactiae, A. hydrophila, co-infection, haematology, histopathology*

## PENDAHULUAN

Kasus kematian ikan akibat infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus* sp. menjadi penghambat keberhasilan produksi budidaya ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) di Indonesia. Timbulnya penyakit akibat infeksi *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dan *Streptococcosis* tersebut dapat terjadi karena rendahnya ketahanan tubuh ikan, lingkungan pemeliharaan yang buruk, serta manajemen pemberian pakan yang tidak baik (Ibrahem *et al.*, 2008; Harikrishnan *et al.*, 2010). Kedua jenis penyakit ini menyebabkan masalah pada budidaya ikan dan mengakibatkan kerugian ekonomi karena terjadi kematian ikan yang tinggi dan menurunnya kualitas produk perikanan.

Gejala klinis dari ikan tilapia yang terinfeksi *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) ditandai dengan adanya septicemia, ascites, ulcer, cacat tulang, *exophthalmia*, dan nekrosis otot. Pada kondisi posmortem ditemukan adanya luka *focal* pada parenchymatus organ hati, limfa, dan ginjal, serta terdapat cairan yang mengisi rongga abdominal. Hasil isolasi dan identifikasi didapat jenis bakteri *A. hydrophila* dari bagian organ intestinal ikan yang sakit maupun ikan yang sudah sehat, hal ini dapat terjadi pada kondisi invasi penyakit maupun kondisi MAS yang akut dengan adanya lokalisasi koloni bakteri *A. hydrophila* yang teridentifikasi dari jaringan hematopoetic (Ibrahem *et al.*, 2008).

*Streptococcosis* pada ikan merupakan infeksi dari beberapa jenis bakteri dengan gejala penyakit yang hampir sama pada setiap spesies bakteri dapat mengakibatkan kerusakan sistem saraf pusat yang terkarakterisasi dari gejala klinis yang nampak adanya *exophthalmia* (*pop-eye*) dan *meningoencephalitis*. Menurut Toranzo (2009), pada kondisi perairan yang hangat (*warm water*) *Streptococcosis* (menyebabkan kematian pada suhu di atas 15°C) jenis bakteri yang menyerang adalah *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus*

*iniae*, *S. agalactiae*, dan *S. parauberis*. Agen penyebab penyakit *Streptococcosis* pada ikan di daerah perairan hangat seperti di Indonesia merupakan bakteri yang potensial bersifat zoonotik pada manusia.

Ikan yang terinfeksi *Streptococcosis* menunjukkan gerakan renang yang tak menentu (*erratic*), berputar (*whirling*), pendarahan pada mata, katarak, *exophthalmia* (*pop-eye*), atau terdapat pendarahan di sekitar anus, dan pangkal sirip. Bagian internal badan mengalami perubahan, bagian otak menjadi lembek dan berair, serta hati membengkak dan berwarna pucat. Gejala lain yang teramati pada ikan *seabream* (*Sparus auratus* L.) dan ikan *mullet* (*Liza klunzingeri*) terinfeksi *Streptococcosis* berupa badan yang melengkung membentuk *C-shaped*, mata berwarna putih (*ocular opacity*), pendarahan di periorbital dan intraocular, bernanah (*purulence*), dan *exophthalmia* (Musa *et al.*, 2009).

Uji kerentanan ikan tilapia terhadap kedua jenis penyakit ini dilakukan secara *invitro* dan *invivo* untuk melihat kompetisi antigen dan ko-infeksi dari kedua jenis bakteri penyebab penyakit. Hasil uji pertumbuhan bakteri untuk melihat kompetisi antigen pada media cair maupun media padat menunjukkan bahwa kedua jenis bakteri ini dapat tumbuh bersinergi (tidak saling menghambat). Sedangkan pengujian ko-infeksi melalui injeksi pada ikan tilapia menggunakan dosis mematikan ( $LD_{100}$ ) dan dosis infeksi ( $LD_{50}$ ) menyebabkan kematian bervariasi antara 20%-90% dalam waktu 1-12 hari masa inkubasi. Bakteri *A. hydrophila* lebih mematikan untuk ikan tilapia pada dosis tinggi ( $LD_{100}$ ) dibanding dengan bakteri *S. agalactiae*, hal ini diduga karena adanya endotoksin yang dimiliki bakteri *A. hydrophila* yang bersifat toksik mematikan (*lethal toxic*). Kebalikannya pada dosis infeksi ( $LD_{50}$ ) bakteri *S. agalactiae* ternyata lebih virulen dibandingkan dengan bakteri *A. hydrophila* pada ikan tilapia. Dilihat dari pola kematian yang terjadi menunjukkan bahwa infeksi *Streptococcosis* bersifat sub-akut,

sedangkan infeksi MAS bersifat akut dan kronis (Sugiani & Lusiastuti, 2011).

## BAHAN DAN METODE

Ikan uji yang digunakan adalah ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) berukuran 15 g. Bakteri *A. hydrophila* dan *S. agalactiae* menggunakan isolat koleksi Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Bogor, *A. hydrophila* AHL0905-2 diinokulasi dalam media *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan *S. agalactiae* N<sub>14</sub>G di-inokulasi dalam media *Brain Heart Infussion Agar* (BHIA).

**Gambaran sistem imun** dilakukan dengan mengamati sampel darah yang diambil dari ikan perlakuan kemudian diukur kadar hematokrit menurut metode Anderson & Siwicki (1995), *differensial* leukosit menurut metode Blaxhall & Daisley (1973), dan indeks fagositik menurut metode Zhang *et al.* (2008).

**Pengamatan gambaran histopatologi** untuk mengetahui efek dari penyakit MAS (infeksi *A. hydrophila*) dan *Streptococcosis* (infeksi *S. agalactiae*) pada organ hati, limfa,

ginjal, dan otak dilakukan dengan menggunakan mikroskop.

**Uji patogenisitas bakteri *A. hydrophila*, *S. agalactiae* dan gabungan keduanya pada ikan tilapia (*O. niloticus*).** Penelitian patogenisitas dilakukan dengan cara injeksi *intra-peritoneal* (IP) bakteri *S. agalactiae* LD<sub>50</sub> 10<sup>3</sup> cfu (Taukid & Purwaningsih, 2010) dan *A. hydrophila* LD<sub>50</sub> 10<sup>7</sup> cfu (Sugiani *et al.*, 2010), 0,1 mL/ekor untuk melihat dampak infeksi bakteri pada ikan tilapia. Ikan dipelihara selama 1-14 hari untuk melihat perubahan pola berenang, tingkah laku makan, perubahan patologi anatomi organ dalam dan luar, gambaran darah, patologi klinik darah, histopatologi, dan kematian ikan.

Perlakuan infeksi LD<sub>50</sub> menggunakan isolat bakteri dari media tumbuh dengan lama waktu inkubasi yang menimbulkan kematian terbanyak serta waktu tersingkat pada hasil perlakuan LD<sub>100</sub> (Sugiani & Lusiastuti, 2011) dengan rincian untuk masing-masing inokulan bakteri sebagaimana tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan infeksi LD<sub>50</sub> yang diamati selama 14 hari setelah diinjeksi

Table 1. LD<sub>50</sub> infections, observed for 14 days

Perlakuan <i>Treatment</i>	Tipe bakteri <i>Type of bacteria</i>	Perbandingan volume bakteri <i>Dose of volume</i>	Kode <i>Code</i>
1	A1 + E3	50:50	A
2	A1 + E3	75:25	B
3	A1 + E3	25:75	C
4	A1 + E3	0:100	D1
5	A1 + E3	100:0	D2
6	D1 + B1	50:50	E
7	D1 + B1	75:25	F
8	D1 + B1	25:75	G
9	D1 + B1	0:100	H1
10	D1 + B1	100:0	H2
11	<i>Tryptic Soy Broth</i>	-	Kontrol ( <i>Control</i> )
12	<i>Brain Heart Infussion</i>	-	Kontrol ( <i>Control</i> )

Keterangan (*Descriptions*):

A1 : *A. hydrophila* dalam TSB dengan masa inkubasi 24 jam

A1 : *A. hydrophila* in TSB, incubated for 24 hours

E3 : *S. agalactiae* dalam BHIA dengan masa inkubasi 72 jam

E3 : *S. agalactiae* in BHIA, incubated for 72 hours

D1 : *A. hydrophila* dalam TSA dengan masa inkubasi 24 jam

D1 : *A. hydrophila* in TSA, incubated for 24 hours

B1 : *S. agalactiae* dalam BHIA dengan masa inkubasi 24 jam

B1 : *S. agalactiae* in BHIA, incubated for 24 hours

## HASIL DAN BAHASAN

Sebagai data pendukung, telah dilakukan survai kerentanan ikan tilapia terhadap infeksi MAS dan *Streptococcosis* pada budidaya ikan Karamba Jaring Apung (KJA) di Waduk Cirata yaitu pada Blok Jangari-Mande dan Blok Pasir Pogor-Bobojong, diperoleh data insidensi *Aeromonas hydrophila* sebesar 100% dan insidensi *Streptococcus* sp. sebesar 20% yang merupakan hasil isolasi bakteri pada organ ginjal dan otak, serta luka dari 10 ekor ikan sakit dan 5 ekor ikan sehat dari populasi di setiap KJA. Maka, ikan tilapia secara alami dapat terindikasi terjadi ko-infeksi dari penyakit MAS dan *Streptococcosis* sebesar 20% dari ikan yang menunjukkan gejala sakit, dengan gejala klinis eksopthalmi, opaque, ascites, haemorrhage, sirip gripis dan pangkal sirip berwarna pucat, ginjal dan hati berwarna pucat, serta saluran intestin kosong.

Apabila terjadi suatu serangan patogen atau benda asing pada ikan maka akan terjadi respons imun alami yang melibatkan sirkulasi dan perbaikan jaringan melalui respons fagosit granulosit (neutrofil, eosinofil sel granular) monosit, dan sel makrofag. Ikan dapat membentuk pertahanan diri terhadap serangan infeksi bakteri. Akan tetapi, respons imun alami ini hanya dapat bertahan dan berfungsi dengan baik pada beberapa hari atau minggu setelah adanya invasi bakteri ke dalam tubuh, dan berfungsi sebagai respons imun anti-infeksi fase awal.

Hasil perlakuan ko-infeksi (Kode A, B, C, E, F, dan G) dengan perbandingan komposisi cfu bakteri yang berbeda antara *A. hydrophila* dan *S. agalactiae* menunjukkan adanya peningkatan jumlah hemosit darah berupa plasma darah pada setiap perlakuan, jika dibandingkan dengan kontrol terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,05$ ), namun tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan infeksi tunggal *A. hydrophila* (Kode D2 dan H2) dan infeksi tunggal *S. agalactiae* (Kode D1 dan H2). Jumlah monosit, neutrofil, dan limfosit mengalami fluktuasi membentuk suatu homeostasi total leukosit dengan rata-rata terlihat adanya peningkatan jumlah limfosit dan monosit serta adanya penurunan jumlah neutrofil jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 1). Hal ini menunjukkan adanya aktivitas pertahanan non spesifik dari ikan berupa peningkatan monosit darah yang berfungsi sebagai sel fagosit (makrofag) yang akan memfagositosis antigen bakteri dalam

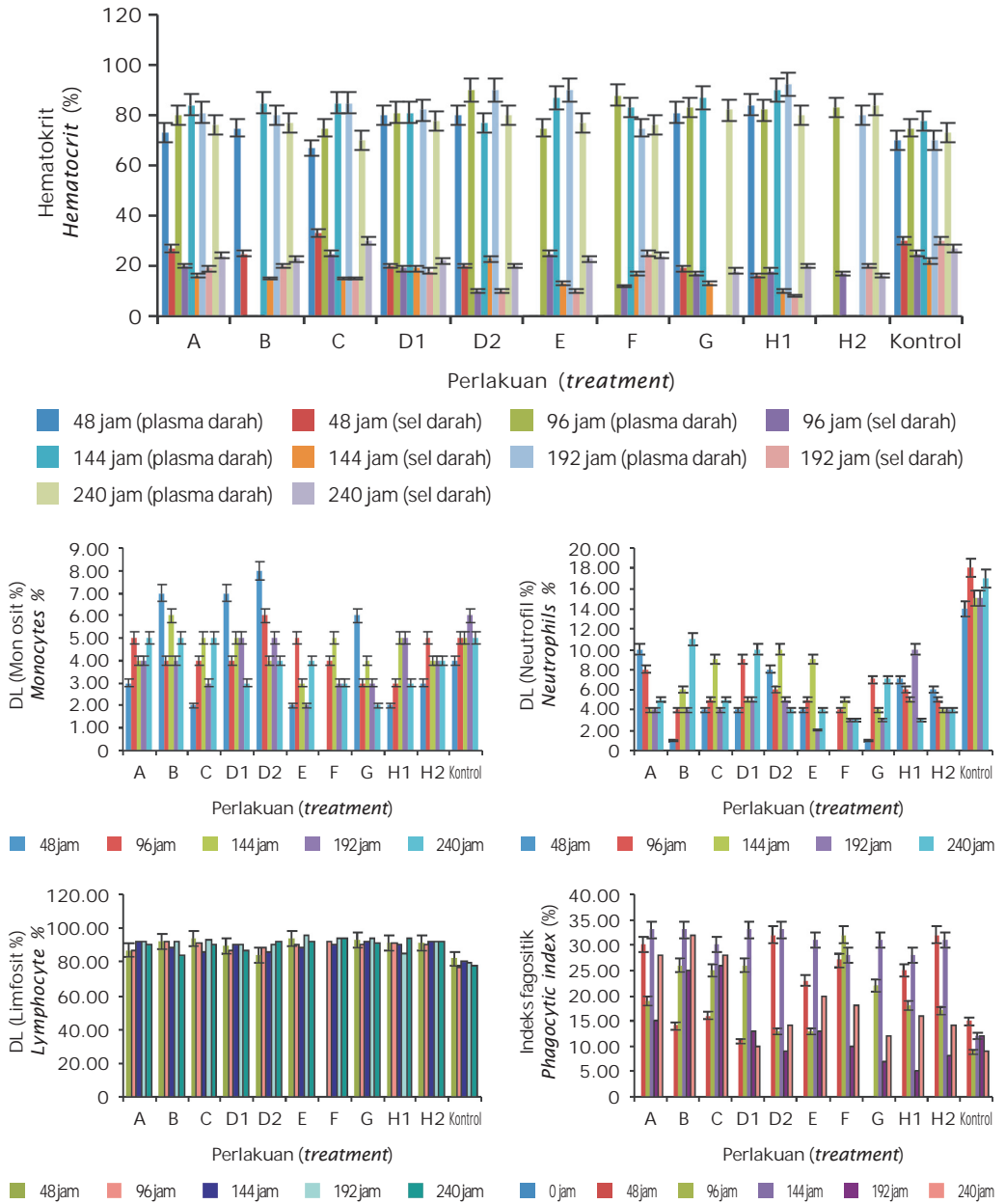
tubuh ikan, sedangkan adanya peningkatan jumlah limfosit menunjukkan bahwa ada aktivitas pertahanan selular spesifik yang memungkinkan adanya pembentukan antibodi atau memori pada ikan yang dapat bertahan dari serangan ko-infeksi *S. agalactiae* dan *A. hydrophila*. Nilai indeks fagositik yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol pada setiap perlakuan menunjukkan adanya peningkatan kemampuan aktivitas fagositik dari ikan terhadap adanya serangan infeksi bakteri.

Makrofag atau aktivasi sel mast oleh adanya invasi bakteri dapat mempengaruhi pembentukan mediasi inflamasi, dan merangsang transfer serta akumulasi leukosit ke daerah yang terinfeksi. Peningkatan jumlah leukosit selama respons pertahanan ikan terhadap infeksi bakteri berlangsung, banyak leukosit yang ditransfer sehingga akan nampak adanya peningkatan jumlah leukosit dalam darah yang berfungsi untuk mengeliminasi serangan bakteri yang ada di dalam tubuh ikan (Caruso *et al.*, 2002). Beberapa tipe leukosit, terutama monosit dan neutrophil memiliki fungsi untuk mencerna dan memfagosit partikel (*phagocytosis*), sehingga akan terjadi peningkatan yang signifikan dari aktivitas fagositosis oleh neutrofil darah selama masa infeksi (Pan, 1999).

Mian *et al.* (2009) menemukan bahwa pada suhu perairan hangat lebih dari 27°C *S. agalactiae* lebih bersifat virulen. Setelah uji tantang dengan LD<sub>50</sub> (strain SA 20-06 LD<sub>50</sub> pada  $6,14 \times 10^7$  cfu) menyebabkan kematian 90%-100%. Gejala klinis muncul 24 jam pasca infeksi, dengan gerakan renang tak menentu merupakan gejala yang umum terjadi apabila terjadi infeksi pada bagian otak. Kematian terjadi pada 72 jam pasca infeksi, namun beberapa ikan akan mati setelah 14 hari pasca infeksi.

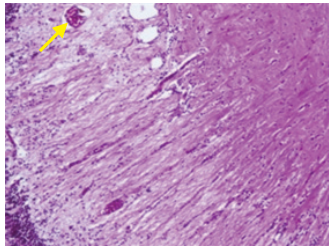
Pengaruh injeksi *A. hydrophila*  $5,2 \times 10^6$  cfu/mL terhadap *bullfrog* menunjukkan tren penurunan secara *gradual* dari persentasi tingkat fagositosis darah, total leukosit dan eritrosit lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, serta aktivitas antibakterial meningkat. Infeksi *A. hydrophila* dapat mempengaruhi reaksi imun non-spesifik pada *bullfrog* (Zhang *et al.*, 2008).

Hasil pengamatan histopatologi organ otak menunjukkan suatu kongesti pada daerah *optic tectume* di mesencephalon dan pada *mauthner cell* terdapat perdarahan

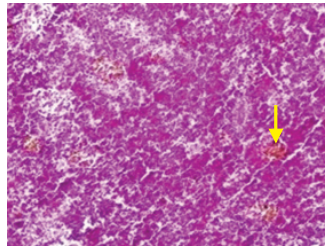


Gambar 1. Total hematokrit, monosit, neutrofil, limfosit, dan indeks fagositik ikan tilapia hasil ko-infeksi *S. agalactiae* dan *A. hydrophila*. (A) tipe bakteri A1 +E3 50:50 (B) tipe bakteri A1:E3 75:25 (C) tipe bakteri A1:E3 25:75 (D1) tipe bakteri A1:E3 0:100 (D2) tipe bakteri A1:E3 100:0 (E) tipe bakteri D1:B1 50:50 (F) tipe bakteri D1:B1 75:25 (G) tipe bakteri D1:B1 25:75 (H1) tipe bakteri D1:B1 0:100 (H2) tipe bakteri D1:B1 100:0, dan kontrol

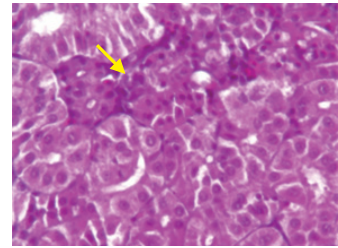
Figure 1. Hematocrit, monocytes, neutrophils, lymphocyte, and phagocytic index of tilapia with co-infections *S. agalactiae* and *A. hydrophila*. (A) bacteria A1+E3 50:50 (B) bacteria A1:E3 75:25 (C) bacteria A1:E3 25:75 (D1) bacteria A1:E3 0:100 (D2) bacteria A1:E3 100:0 (E) bacteria D1:B1 50:50 (F) bacteria D1:B1 75:25 (G) bacteria D1:B1 25:75 (H1) bacteria D1:B1 0:100 (H2) bacteria D1:B1 100:0, and control



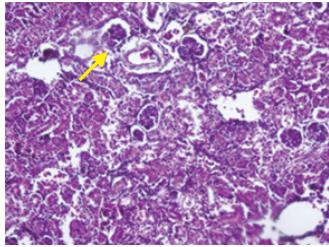
Otak (perbesaran 200x)



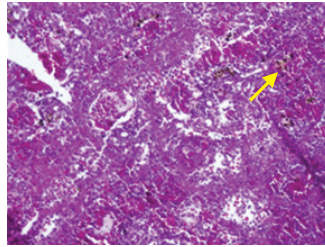
Limfa (perbesaran 200x)



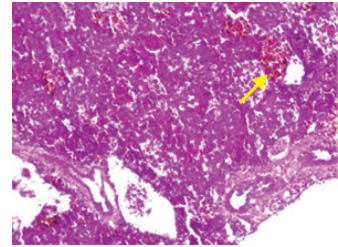
Ginjal (perbesaran 400x)



Ginjal (perbesaran 200x)



Otak (perbesaran 200x)



Limfa (perbesaran 200x)

Gambar 2. Histologi organ dari ikan hasil ko-infeksi *A. hydrophila* + *S. agalactiae*

Figure 2. Histopathology of tilapia with co-infection *A. hydrophila* + *S. agalactiae*

(*haemorrhage*). Terjadi suatu infiltrasi limfosit di antara tubuli ginjal dan ada sel yang nekrosis sehingga membentuk suatu deformasi sel. Pada organ limfa terdapat *melano macrofag centre* (MMC) yang bersifat *multifocal*. Hasil pengamatan histopatologi dibandingkan dengan kontrol organ yang sehat dari *Atlas Fish Histology* (Takashima & Hibiya, 1995) (Gambar 2).

Hasil histopatologi terhadap luka terbagi ke dalam dua pola karakter luka. Pola pertama, luka yang *focal* sampai *multifocal*, luka yang *mild* sampai terlihat adanya inflamasi granuloma. Granuloma berisi kumpulan sel-sel yang rusak, yang diselubungi oleh kapsul tebal dari kumpulan makrofag. Pusat makrofag dan melanomakrofag juga teramati banyak menyelubungi granuloma. Pola kedua, luka yang *multifocal*, luka parah (*acute*), nekrotik, luka inflamasi yang melibatkan leucocytes, makrofag, fibrin, dan sel granular eosinofilik. Kedua pola luka biasanya teramati ada pada bagian otak dan mata (Hernandez *et al.*, 2009).

## KESIMPULAN

Hasil dari uji patogenesis ko-infeksi bakteri *S. agalactiae* dan *A. hydrophila* dapat disimpulkan bahwa setelah injeksi secara intraperitoneal dari kedua jenis bakteri

tersebut pada ikan tilapia dapat merangsang homeostasi respons imun non-spesifik (monosit, neutrofil, limfosit, dan hematokrit) dan meningkatkan kemampuan fagositosis darah. Sedangkan, hasil histopatologi organ ginjal, otak, dan limfa memperlihatkan dua pola karakter luka. Pola pertama, luka yang *focal* sampai terlihat adanya inflamasi dan perdarahan. Pola kedua, luka yang *multifocal*, luka parah (*acute*), nekrotik, dan luka inflamasi yang mengakibatkan deformasi sel-sel organ.

## DAFTAR ACUAN

- Anderson, D.P. & Siwicki, A.K. 1995. Basic hematology and serology for fish health programs. *In* Disease in Asian Aquaculture II. Shariff, M., Arthur, J.R., and Subasinghe R.P. (Eds.), Fish Health Section, Asia Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 185-202.
- Blaxhall, P.C. & Daisley, K.W. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal Fish Biology*, 5: 577-581.
- Caruso, D., Schlumberge, O., Dahm, C., & Proteau, J.P. 2002. Plasma lysozyme levels in sheatfish *Silurus glanis* L. subjected to stress and experimental infection with *Edwardsiella tarda*. *Aquacult. Res.*, 33: 999-1,008.

- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M.S. 2010. *Lactobacillus sakei* BK19 enriched diet enhances the immunity status and disease resistance to Streptococcosis infection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 29: 1,037-1,043.
- Hernandez, E., Figueroa, J., & Iregui, C. 2009. Streptococcosis on a red tilapia, *Oreochromis* sp., farm: a case study. *Journal of Fish Diseases*, 32: 247-252.
- Ibrahem, M., Mostafa, M., Arab, R.M.H., & Rezk, M.A. 2008. Prevalence of *Aeromonas hydrophila* infection in wild cultured tilapia nilotica (*O. niloticus*) in Egypt. 8<sup>th</sup> *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, p. 1,257-1,271.
- Mian, G.F., Godoy, D.T., Leal, C.A.G., Yuhara, T.Y., Costa, G.M., & Figueiredo, H.C.P. 2009. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile Tilapia. Short communication. *Veterinary Microbiology*, 136: 180-183.
- Musa, N., Wei, L.S., Hamdan, R., Leong, L.K., Wee, W., Amal, M.N., Kutty, B.M., & Abdullah, S.Z. 2009. Streptococcosis in red hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*) commercial farms in Malaysia. Short Communication. *Aquaculture Research*, 40: 630-632.
- Pan, H.C. 1999. Ultrastructure of peripheral blood cells of *Rana rugulosa*. *Chinesse J. Anat.*, 18: 71-74.
- Sugiani, D., Komarudin, O., Wajjdi, E.F., Mikadarullah, & Wibawa, B.M. 2010. Efektivitas aplikasi rendaman ulang sediaan produk vaksin Hydrovac. *Seminar Nasional Ikan VI & Kongres Masyarakat Ikhtologi Indonesia III*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, 08-09 Juni 2010, 11 hlm.
- Sugiani, D. & Lusastuti, A.M. 2011. Kerentanan ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) terhadap serangan ko-infeksi Streptococcosis dan MAS. SEMNASKAN VIII Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, 16 Juli 2011, 9 hlm.
- Takashima, F. & Hibiya, T. 1995. An atlas of fish histology: normal and pathological features. Kodansha Ltd. Tokyo, 195 pp.
- Taukhid & Purwaningsih, U. 2010. Penapisan isolat bakteri *Streptococcus* spp. sebagai kandidat antigen dalam pembuatan vaksin, serta efikasinya untuk pencegahan penyakit *Streptococcosis* pada ikan Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J. Ris. Akuakultur*, 6(1): 103-117.
- Toranzo, A.E., Romalde, J.L., Magariños, B., & Barja, J.L. 2009. Present and future of aquaculture vaccines against fish bacterial diseases. The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. *Options Méditerranéennes*, A, 86: 155-176.
- Zhang, J., Zou, W., & Yan, Q. 2008. Non-Specific immune response of Bullfrog *Rana catesbeiana* to intraperitoneal injection of bacterium *Aeromonas hydrophila*. *Chinesse Journal of Oceanology and Limnology*, 26(3): 248-255.