

Pengendalian Penyakit *Edwardsiellosis* Menggunakan Vaksin Alami pada Budidaya Ikan Patin (*Pangasius pangasius*)

*Edwardsiellosis Disease Control Using Natural Vaccines in Catfish (*Pangasius pangasius*) Cultivation*

Ingka Selviana¹, Imam Majid¹, Krisna Al-Rasyidin¹, M Madhat Husayn¹,
Reyfaldo Tyo Wijaya¹, Madyasta Anggana Rarassari^{1*}

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Indralaya
30662, Ogan Ilir, Sumatera Selatan, Indonesia

^{*}Penulis untuk korespondensi: madyastaangganararassari@unsri.ac.id

Sitasi: Selviana I, Majid I, Al-Rasyidin K, Husayn MM, Wijaya RT, Rarassari MA. 2021. Edwardsiellosis disease control using natural vaccines in catfish (*Pangasius pangasius*) cultivation. In: Herlinda S et al. (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-9 Tahun 2021, Palembang 20 Oktober 2021. pp. 697-704. Palembang: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI).

ABSTRACT

Catfish (*Pangasius pangasius*) is the leading freshwater consumption fish that is widely cultivated. Various efforts have been made to increase catfish production, one of which is the intensification of cultivation. However, catfish are very susceptible to Edwardsiellosis disease caused by the bacterium *Edwardsiella tarda*, so that it can cause death to fish. *E. tarda* infection can cause high enough mortality, causing a decrease in productivity in catfish and can cause losses for fish farmers. This study aims to identify edwardsiellosis disease with natural vaccines in catfish (*P. pangasius*) aquaculture. So the result of this study to treat edwardsiellosis is the administration of natural vaccines, although it is not as effective as treating extracellular with various methods that have been used to develop effective vaccines against edwardsiellosis. Microbiological testing was carried out on samples of kidney, liver, and brain organs taken at random from catfish infected with the bacterium *Edwardsiella tarda*. So there is a need for natural vaccines, because vaccines have gradually become the main product in disease prevention in catfish (*P. pangasius*) aquaculture. So it can be concluded that catfish (*P. pangasius*) infected with edwardsiellosis disease can be treated using natural vaccines in catfish culture so that farmers do not experience losses and become an inhibiting factor for the success of catfish cultivation. It is hoped that the community or catfish cultivators can pay attention and carry out good and clean cultivation so that the fish that are cultivated do not become infected with edwardsiellosis disease.

Keywords: *Edwardsiellosis*, *Edwardsiella tarda*, natural vaccines

ABSTRAK

Ikan patin (*Pangasius pangasius*) merupakan ikan konsumsi air tawar unggulan yang banyak dibudidayakan. Berbagai upaya dilakukan untuk meningkatkan produksi ikan patin, salah satunya dengan intensifikasi budidaya. Namun, ikan patin sangat rentan terhadap penyakit *Edwardsiellosis* yang disebabkan oleh bakteri *Edwardsiella tarda*, sehingga dapat menyebabkan kematian terhadap ikan. Infeksi *E. tarda* dapat menyebabkan mortalitas yang cukup tinggi sehingga dapat menyebabkan penurunan produktifitas pada ikan patin dan dapat menyebabkan kerugian bagi pembudidaya ikan patin. Penelitian ini bertujuan untuk mengenai identifikasi penyakit *edwardsiellosis* dengan vaksin alami pada budidaya ikan

Editor: Siti Herlinda et. al.

ISBN: 978-623-399-012-7

Penerbit: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI)

patin (*P. pangasius*). Maka hasil dari penelitian ini untuk mengobati *edwardsiellosis* adalah dengan pemberian vaksin alami, meskipun tidak seefektif mengobati ekstraseluler dengan berbagai metode yang telah digunakan untuk mengembangkan vaksin yang efektif melawan *edwardsiellosis*. Dilakukannya pengujian secara mikrobiologi dilakukan terhadap sampel organ ginjal, hati, dan otak yang diambil secara acak ikan patin yang terinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. Sehingga diperlukannya vaksin alami, karena vaksin memiliki secara bertahap menjadi produk utama dalam pencegahan penyakit dalam budidaya ikan patin (*P. pangasius*). Maka dapat disimpulkan bahwa ikan patin (*P. pangasius*) yang terinfeksi penyakit *edwardsiellosis* dapat di obati menggunakan vaksin alami pada budidaya ikan patin agar para pembudidaya tidak mengalami kerugian dan menjadi faktor penghambat keberhasilan budidaya ikan patin. Diharapkan masyarakat atau pembudidaya ikan patin dapat memperhatikan dan melakukan budidaya dengan baik dan bersih agar ikan yang di budidaya tidak mengalami infeksi terhadap penyakit *edwardsiellosis*.

Kata kunci: *Edwardsiellosis*, *Edwardsiella tarda*, *Pangasius pangasius*, vaksin alami

PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius pangasius*) merupakan spesies ikan air tawar dari jenis *Pangasidae* yang dapat diproduksi dan memiliki peluang pengembangan skala industri, serta mempunyai beberapa kelebihan, antara lain : pertumbuhan yang cepat dan dapat mencapai ukuran yang maksimal, sehingga dapat di budidayakan pada kepadatan tinggi dengan berbagai wadah. (Susanti, Indrawati and Pasaribu, 2016). Ikan yang sakit menunjukkan adanya banyak bintik putih di limpa dan kepala ginjal yang membengkak (Dong *et al.*, 2019). Terdapat beberapa kendala pada saat budidaya ikan patin, pengelolaan yang tidak tepat pada sistem budidaya intensif yang menyebabkan munculnya penyakit (A'yunin *et al.*, 2020). Infeksi *Edwardsiella tarda* dapat menyebabkan mortalitas yang cukup tinggi sehingga menyebabkan penurunan produktifitas pada ikan catfish dan dapat menyebabkan kerugian bagi pembudidaya ikan jenis ini (Han and goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee, 2019). *E. tarda*, sebagaimana didefinisikan saat ini, masih terkait dengan wabah penyakit pada ikan, tetapi data urutan yang diarsipkan dari laporan yang diterbitkan menunjukkan bahwa *E. piscicida* lebih umum di wabah penyakit ikan (Loch *et al.*, 2017). Kendala yang banyak di alami dalam membudidayakan kultivan yaitu terserangnya penyakit dan hama yang menyerang ikan patin adalah *Edwardsiellosis* karena serangan bakteri *E. tarda* (Setyowati & Prayitno, 2013).

Upaya yang dilakukan biasanya pembudidaya sering melakukan pemberian berbagai macam antibiotik seperti *sitokin*, *ampicillin*, *chloramphenicol*, *tetracycline* dan disinfektan pada ikan. Antibiotik dan kemoterapi digunakan secara konvensional untuk mengobati penyakit ikan (Sangma and Kamilya, 2015). Penyakit yang sering timbul pada budidaya ikan patin adalah penyakit MES (*Motile Edwardsiella Septicemia*) atau yang dikenal dengan *edwardsiellosis*. Penyakit MES disebabkan karena adanya infeksi dari bakteri *Edwardsiella tarda*. Bakteri *Edwardsiella tarda* adalah bakteri patogen yang memiliki dampak negatif bagi pembudidaya ikan air tawar. (Andayani, *et al.*, 2017). Ikan yang telah terkena penyakit *edwardsiellosis* akan menimbulkan gejala sebagai berikut, yaitu terjadi luka pada kulit yang selanjutnya akan meluas ke bagian daging, dan dengan segera akan mengakibatkan perdarahan pada ikan yang di budidayakan. Luka semacam ini sering dijumpai pada hati ikan patin. Jika tidak segera diatasi, luka-luka tersebut akan berkembang menjadi bisul dan mengeluarkan banyak nanah (*abses*). Pada jaringan daging, hati dan ginjal sering terjadi nekrosis (Nadirah, Najiah and Teng, 2012). Infeksi bakteri

Edwardsiella tarda dapat menularkan secara horizontal melalui kontak antara inang satu dengan inang lainnya dan juga dapat melalui air sebagai media budidaya.

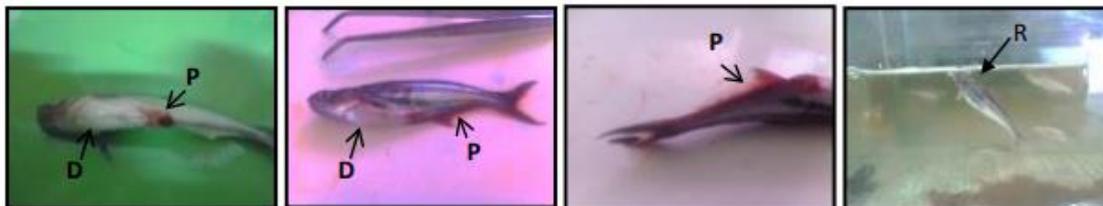
Penggunaan vaksin yang berlebihan dan penggunaannya tidak tepat akan menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten, sehingga terjadi penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan dan lingkungan perairan tersebut, yang pada akhirnya dapat membahayakan konsumen yang mengkonsumsi ikan tersebut (Han and Goleman, Daniel; Boyatzis, Richard; Mckee, 2019). Alternatif tradisional untuk penggunaan agen antimikroba termasuk vaksin ekstrak daun jambu biji, kontrol biologis, pembatasan gerakan, dan peternakan yang baik (Roh *et al.*, 2018). Berbagai bahan alami telah digunakan sebagai alternatif untuk pengobatan ikan antara lain, daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) yang memiliki manfaat sebagai alternatif obat herbal serta dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan ikan yang terinfeksi penyakit. Daun jambu biji mengandung beberapa senyawa aktif antaralain tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, minyak atsiri dan quersetin (Yuliani *et al.*, 2003). Selain itu, penggunaan adjuvant Freund juga menjadi salah satu upaya yang pernah dilakukan oleh peneliti, Sekarang terbukti bahwa sitokin sebagai adjuvant dapat memodulasi dan meningkatkan respon imun yang diinduksi oleh berbagai vaksin termasuk vaksin subunit (Tang *et al.*, 2020). Untuk mengatasi permasalahan tersebut, perlu dicari alternatif lain sebagai pengganti antibiotik yang berasal dari vaksin alami. Oleh karena itu, penyusun melakukan penelitian mengenai identifikasi penyakit *edwardsiellosis* dengan vaksin alami ekstrak daun jambu biji pada budidaya ikan patin (*Pangasius pangasius*). Penelitian ini bertujuan untuk mengenai identifikasi penyakit *edwardsiellosis* dengan vaksin alami pada budidaya ikan patin (*Pangasius pangasius*).

BAKTERI UJI

Sebelum dilakukan pengujian ikan yang digunakan adalah ikan patin (*Pangasius pangasius*) berukuran 6–10 g/ekor. Pada saat sebelum proses pengujian, ikan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 14 hari. Dalam proses karantina ikan patin, terdapat ikan yang tidak menampilkan gejala terinfeksi ESC berdasarkan diagnosis dan pengujian mikrobiologi. Pengujian mikrobiologi dilakukan terhadap sampel organ otak, hati dan ginjal yang diambil secara random. *Edwardsiella tarda* adalah patogen Gram-negatif dan tersebar luas di lingkungan perairan. Infeksi *E. tarda* pada ikan menyebabkan penyakit sistemik yang disebut *edwardsiellosis*, yang menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar di antara ikan budidaya utama di seluruh dunia. Saat ini, antibiotik sering digunakan dalam pengobatan *edwardsiellosis*, namun praktik ini akan menghasilkan resistensi mikroba, pencemaran lingkungan dan residu obat. Karena vaksin memiliki keunggulan dalam keamanan, keramahan lingkungan, dan kemanjuran perlindungan jangka panjang, vaksin memiliki secara bertahap menjadi produk utama dalam pencegahan penyakit dalam budidaya (Liu *et al.*, 2016). Selain ikan, *E. tarda* juga dikenal sebagai patogen manusia yang menyebabkan gastroenteritis dan infeksi ekstraintestinal (Tang *et al.*, 2018). Manifestasi klinis sering bervariasi di antara spesies yang terinfeksi: lesi berkisar dari beberapa nekrosis organ pada ikan patin (*Pangasius pangasius*) (Rehman *et al.*, 2021). (Gambar 1).

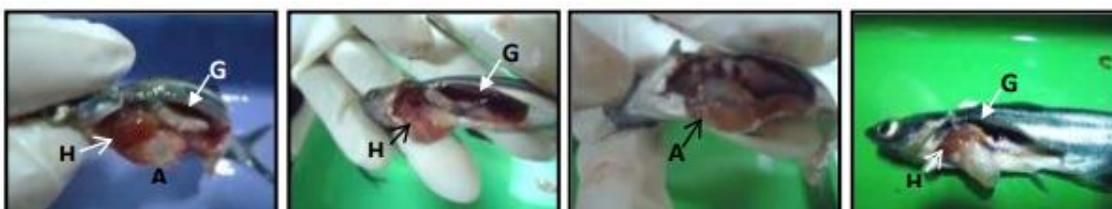
Enteric Septicemia of Catfish (ESC) adalah suatu jenis penyakit yang cukup serius yang menyerang ikan patin yang disebabkan oleh bakteri *Edwardsiella tarda*. (Gambar 2). Kematian ikan patin akibat infeksi bakteri *Edwardsiella tarda* menjadi penghambat keberhasilan produksi budidaya. Bakteri *Edwardsiella tarda* digunakan untuk pengujian Postulat Koch yang dilakukan untuk mengembalikan virulensi bakteri, sebelum digunakan untuk perlakuan dalam penelitian. *Edwardsiella tarda* (isolat IP.BK.02) dibiakan pada

media cair brain heart infusion broth atau BHIB serta diinkubasi pada suhu 25–28 °C dalam kurun waktu 24–48 jam.



Sumber : (Susanti, Indrawati and Pasaribu, 2016)

Gambar 1. Contoh gejala klinis ikan patin telah terinfeksi *E. ictaluri*. (P) ptekhie hemoragi; bercak merah; (D) dropsy; perut membesar; (R) renang menggantung di permukaan air.



Sumber : (Susanti, Indrawati and Pasaribu, 2016)

Gambar 2. Patologi anatomi organ dalam ikan patin telah terinfeksi *E. ictaluri*. (A) ascites (timbunan cairan); (H) hati berwarna pucat dan membesar; (G) ginjal berubah warna merah kehitaman.

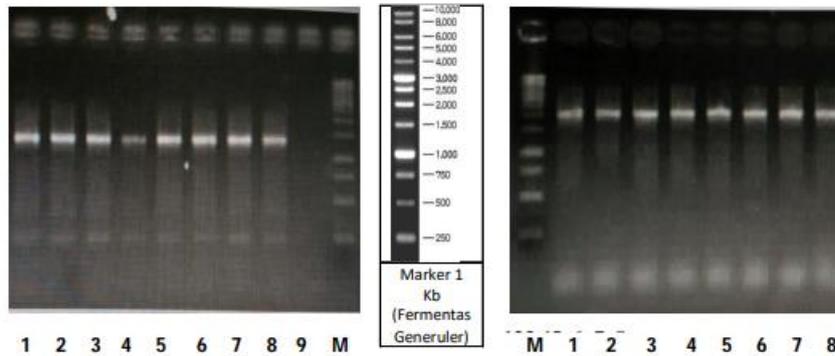
Pemanenan bakteri dilakukan dengan cara sentrifugasi pada 3.500 rpm selama 20 menit. Setelah dilakukannya pembuangan supernatan, selanjutnya ditambahkan pelarut phosphate buffer saline (PBS). Setelah itu, diaduk dengan vortex hingga menjadi homogen, lalu, lakukan penghitungan kekeruhan suspensi bakteri. Biakan *Edwarsiella tarda* konsentrasi 10⁹ cfu/mL sebanyak 0,1 mL disuntikkan secara intraperitoneal pada ikan uji. Setelah 2–3 hari masa inkubasi, ikan yang memiliki gejala penyakit ESC segera dikeluarkan dari kelompoknya. Isolasi bakteri dilakukan dari organ ginjal dan hati pada media selektif *Edwarsiella tarda* medium (EIM, Shotts dan Waltman) dan media brain heart infusion agar (BHIA) untuk mendapat isolat murni, bakteri tumbuh setelah dilakukan pemeriksaan sifat-sifat biokimianya. Setelah Isolat bakteri yang telah virulen digunakan untuk uji selanjutnya.

UJI PATOGENISITAS (*Edwarsiella tarda*)

Uji patogenesis *E. tarda* menggunakan lima perlakuan dengan kepadatan bakteri yang digunakan yaitu 10² cfu/mL; 10⁴ cfu/mL; 10⁶ cfu/ mL; 10⁸ cfu/mL; 10¹⁰ cfu/mL; dan satu kontrol dengan PBS. Penyuntikan dilakukan pada 30 ekor ikan patin yang akan di uji perlakuannya secara intraperitoneal 0,1 mL/ekor ikan. Selanjutnya, Ikan dipelihara selama tujuh hari dalam akuarium berukuran 60×40×45 cm³. Pakan komersial kandungan protein 32–34% dan kadar lemak 6% diberikan dua kali sehari selama pemeliharaan (Gambar 3).

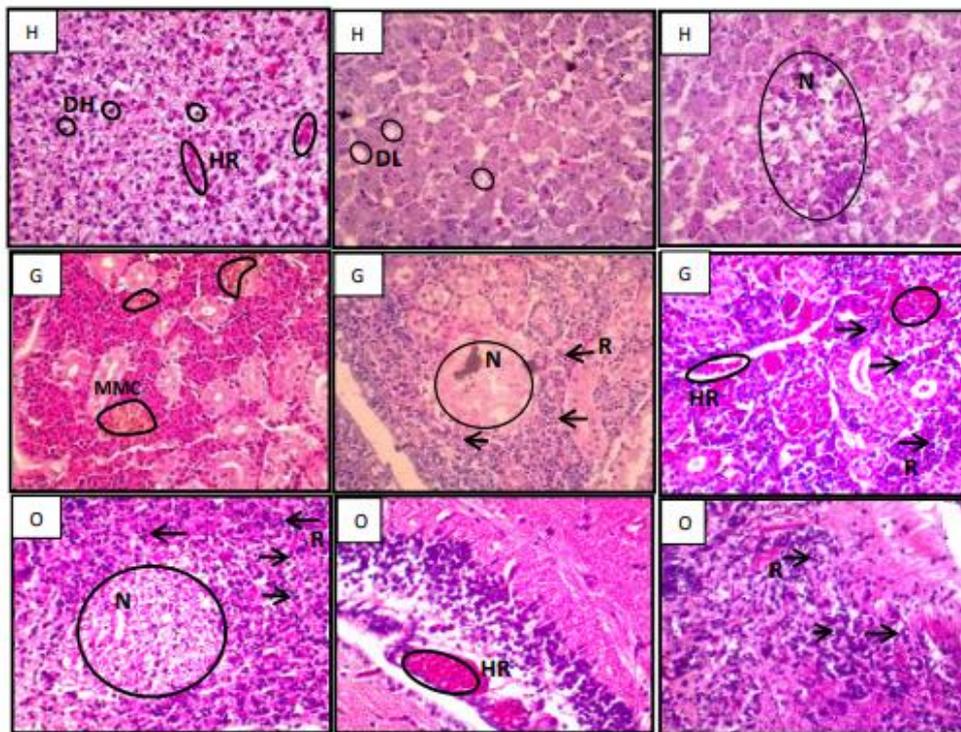
Pengamatan gejala secara klinis dan patologi anatomi dilakukan untuk mengamati perubahan yang terjadi pada patologi organ eksternal maupun internal ikan patin. Pengamatan secara mikroskopis dengan uji histopatologi (HP) dilakukan pada organ otak, hati dan ginjal. Sampel yang diambil untuk uji histopatologi pada hari kelima pascainfeksi. Pewarnaan preparat uji histopatologi menggunakan pewarnaan haematoxylin dan eosin (HE). Sampel pengamatan yang digunakan pada uji gambaran darah dilakukan pada hari pertama, hari ketiga, dan hari kelima pasca injeksi bakteri, parameter yang diamati antarlain hematokrit dan hemoglobin. Pengukuran Hematokrit dengan menggunakan tabung kapiler berlapis heparin yang selanjutnya disentrifugasi pada 12.000

rpm dalam waktu lima menit sedangkan pengukuran hemoglobin menggunakan metode Sahli (Docan *et al.*, 2010). Lakukan perhitungan Jumlah kematian ikan patin untuk mendapat nilai LD50. Sedangkan untuk Penghitungan nilai LD50 dilakukan dengan menggunakan metode Reed dan Muench (Saganuwan, 2011) (Gambar 4).



Sumber : (Purwaningsih *et al.*, 2019)

Gambar 3. Amplifikasi DNA dengan polymerase chain reaction (PCR) pada delapan isolat bakteri yang terindikasi sebagai *Edwardsiella* (A) dan *Edwardsiella ictaluri* (B) yang diisolasi dari organ ginjal ikan patin (*Pangasius* sp.). M= marker 1 kb; 1= bakteri kode PJh-01; 2= PCr-01; 3= PCr-02; 4= PCr-05; 5= PSkm-04; 6= PSkm-07; 7= PSkm 08; 8= PSkm-11; 9= kontrol negatif (A. hydrophila).



Sumber : (Susanti, Indrawati and Pasaribu, 2016)

Gambar 4. Histopatologi organ hati (H), ginjal (G) dan otak (O) ikan patin sesudah diinfeksi *E. ictaluri*. (DH) degenerasi hidropik; (DL) degenerasi lemak; (HR) hemoragi; (N) nekrosis; (MMC) melano macrophage center; (R) sel radang. (perbesaran 400 kali).

METODE MENGOBATI (*Edwardsiella ictaluri*)

Saat ini, metode umum untuk mengobati *edwardsiellosis* adalah dengan pemberian antibiotik, meskipun tidak seefektif mengobati ekstraseluler.bakteri patogen (misalnya *Vibrio* spp.). Namun, dengan antibiotik ada masalah resistensi yang berkembang dan

Editor: Siti Herlinda *et. al.*

ISBN: 978-623-399-012-7

Penerbit: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSR)

transfer resistensi ini ke patogen manusia atau hewan lainnya. Juga, ada kekhawatiran tentang nasib residu antibiotik dan dampaknya terhadap lingkungan dan konsumen. Baru-baru ini, banyak kandidat vaksin yang sangat efektif telah dikembangkan, terutama oleh para ilmuwan di Cina, beberapa di antaranya sedang dalam proses diterjemahkan ke dalam vaksin komersial. Banyak sekali metode yang telah digunakan untuk mengembangkan vaksin yang efektif melawan edwardsiellosis, termasuk bakteri sel utuh (yaitu bakteri yang dibunuh dengan formalin, yang dibunuh dengan panas atau yang dibunuh oleh kalium klorida, hantu sel, isi sel (yaitu LPS, ECP, OMP), vaksin rekombinan (yaitu rekombinan FimA, DnaJ, FlgD, dll.), vaksin DNA, dan E. tarda avirulen hidup yang dilemahkan atau liar (Xu and Zhang, 2014).

Upaya pengendalian infeksi terhadap bakteri *Edwardsiella tarda* dengan cara dengan pengelolaan kesehatan ikan dengan menggunakan antibakteri alami yang ramah lingkungan, salah satunya alternatif yang dapat di gunakan yaitu dengan menggunakan daun sirsak *Annona muricata* (M and H, 2016). Secara umum menurut Octavia, daun sirsak mengandung senyawa aktif yang bersifat toksik, hal ini dapat menyebabkan daun sirsak dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri (Nursyam, Rarassari and Maftuch, 2017) . Selain itu terdapat juga analisis fitokimia daun sirsak secara metabolit sekundernya seperti tanin, steroid, glikosida, alkaloid, saponin dan flavonoid (Wisdom et al. 2014). Dalam hal ini, dapat dikatakan bahwa terdapat senyawa antimikroba pada spesies tumbuhan ini seperti ekstrak daun jambu biji. Pembuatan ekstrak dengan menggunakan daun jambu biji segar yang berwarna hijau, selanjutnya daun dicuci dengan air bersih dan di tiriskan kemudian dikeringkan menggunakan oven yang bersuhu 400C. Daun yang telah kering selanjutnya dihaluskan sampai menjadi serbuk daun. Serbuk tersebut dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan diamkan selama 3x24 jam serta sesekali di aduk, hasil dari maserat dilakukan penyaringan. Hasil dari ke-3 penyaringan setelah itu digabungkan dan ditempatkan pada botol kaca (Rivai et al., 2009). Evaporasi dilakukan dengan menggunakan Rotary Vacuum Exaporator sampai terbentuknya pasta, penentuan dosis ekstrak dengan memakai uji sensitivitas ekstrak daun jambu biji sebagai antibakteri secara in vitro yang bertujuan untuk mengetahui kandungan bahan-bahan aktif yang terdapat dalam ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri E. tarda, dengan menggunakan metode in vitro serta menggunakan kertas cakram. Dosis yang didapatkan berkisar dari 0 ppm, 500 ppm, 700 ppm hingga 900 ppm.

Uji in vivo pada penelitian ini dilakukan dengan melakukan 4 perlakuan serta 3 kali ulangan. Ikan patin yang akan di gunakan dalam uji tantang dengan diinfeksi bakteri E. tarda secara intramuskular dengan pemberian dosis sebanyak 0,1 mL /ekor, kepadatan bakteri yang dipakai yaitu 107 CFU/mL pada hari ke-0. Setelah 24 jam pasca diinfeksi, ikan akan mengalami gejala klinis. Setelah itu dilakukan perendaman menggunakan ekstrak daun jambu biji yang dilakukan perendaman ekstrak sebanyak 1 kali dengan lama waktu selama 10 menit, dengan ketentuan dosis yang diberikan pada setiap perlakuan berbeda. Pengamatan dilakukan selama 14 hari dengan mengamati mortalitas dari ikan uji pada setiap harinya untuk mengetahui batas kemampuan ekstrak daun jambu biji dalam membantu menyembuhkan infeksi.

KESIMPULAN

Dari artikel ini kita dapat menyimpulkan bahwa dalam budidaya ikan patin adanya Infeksi *Edwardsiella tarda* menimbulkan penurunan produktivitas budidaya ikan patin sehingga menjadi penghambat keberhasilan produksi budidaya. Infeksi ini disebut dengan penyakit edwardsiellosis. Dibutuhkannya vaksin alami yaitu ekstrak daun jambu biji dalam

budidaya ikan patin (*Pangasius pangasius*) karena vaksin memiliki secara bertahap menjadi produk utama dalam pencegahan penyakit dalam budidaya ikan patin (*Pangasius pangasius*). Bagian yang di serang adalah organ ginjal, otak, dan hati. Namun, bagian paling klinis yang paling sering di serang adalah bagian kulit dekat kepala, punggung dan sirip dada ikan patin (*Pangasius pangasius*).

DAFTAR PUSTAKA

- A'yunin Q. 2020. Analisis Kondisi Kesehatan Ikan Patin *Pangasius sp.* yang Terinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 9(2): 164. DOI: 10.20473/jafh.v9i2.16192.
- Docan A. 2010. Haematological response of the European catfish, *Silurus glanis* reared at different densities in flow-through ” production system. *Atlantic*. 13(2): 63–70.
- Dong HT. 2019. Natural occurrence of edwardsiellosis caused by *Edwardsiella ictaluri* in farmed hybrid red tilapia (*Oreochromis sp.*) in Southeast Asia. *Aquaculture*. 499: 17–23. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.09.007.
- Setyowati E, Prayitno SB. 2013. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*. L) Terhadap Kelulushidupan Dan Histologi Hati Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(3): 76–85.
- Han ES, goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee A. 2019. Studi Efektifitas Sambiloto (*Andrographis Paniculata Nees*) Untukmencegah Penyakit Edwardsiellosis Pada Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*). *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9): 1689–1699.
- Liu F. 2016. DNA vaccine encoding molecular chaperone GroEL of *Edwardsiella tarda* confers protective efficacy against edwardsiellosis. *Molecular Immunology*. 79: 55–65. DOI: 10.1016/j.molimm.2016.09.024.
- Loch TP. 2017. Outbreaks of edwardsiellosis caused by *Edwardsiella piscicida* and *Edwardsiella tarda* in farmed barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*. 481: 202–210. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.09.005.
- M AR, H NM. 2016. Phytochemicals and Antibacterial Activities of Soursop Leaf (*Annona muricata*) against *Edwardsiella tarda* (In Vitro). *Journal of Life Science and Biomedicine*. 6(1): 6–9.
- Nadirah M, Najiah M, Teng SY. 2012. Characterization of *edwardsiella tarda* isolated from asian seabass, *lates calcarifer*. *International Food Research Journal*. 19(3): 1247–1252.
- Nursyam H, Rarassari MA, Maftuch. 2017. Effect of crude ethyl acetate extract and fraction of soursop (*annona muricata*) leaf on morphology of *edwardsiella tarda* with scanning electron microscopy. *Nature Environment and Pollution Technology*. 16(1): 231–235.
- Purwaningsih U. 2019. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Edwardsiella ictaluri* Penyebab Penyakit Enteric Septicemia of Catfish (ESC) pada Ikan Patin (*Pangasius sp.*). *Jurnal Riset Akuakultur*. 14(1): 47–57.
- Rehman MNU. 2021. Histological and molecular characterization of *Edwardsiella tarda* infection in Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) hatchlings. *Aquaculture*. 535(January): 736367. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.736367.
- Roh HJ. 2018. Blue light-emitting diode photoinactivation inhibits edwardsiellosis in fancy carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*. 483: 1–7. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.09.046.
- Saganuwan SA. 2011. A modified arithmetical method of Reed and Muench for determination of a relatively ideal median lethal dose (LD50). *African Journal of*

- Pharmacy and Pharmacology*. 5(12): 1543–1546. DOI: 10.5897/AJPP11.393.
- Sangma T, Kamilya D. 2015. Dietary *Bacillus subtilis* FPTB13 and chitin, single or combined, modulate systemic and cutaneous mucosal immunity and resistance of catla, *Catla catla* (Hamilton) against edwardsiellosis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 43: 8–15. DOI: 10.1016/j.cimid.2015.09.003.
- Andayani S, Heny Suprastyani GDAG. *et al.* 2017. Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* Terhadap Histopatologi dan Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*. 01(1): 31–38. DOI: 10.21776/ub.jfmr.2017.001.01.6.
- Susanti W, Indrawati A, Pasaribu FH. 2016. Kajian patogenisitas bakteri *Edwardsiella ictaluri* pada ikan patin *Pangasionodon (hypophthalmus)*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 15(2): 99. DOI: 10.19027/jai.15.99-107.
- Tang X. 2018. Recombinant NADP-dependent isocitrate dehydrogenase of *Edwardsiella tarda* induces both Th1 and Th2 type immune responses and evokes protective efficacy against *edwardsiellosis*. *Vaccine*. 36(17): 2337–2345. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.03.022.
- Tang X. 2020. Interleukin-2 (IL-2) of flounder (*Paralichthys olivaceus*) as immune adjuvant enhance the immune effects of *E. tarda* subunit vaccine OmpV against *Edwardsiellosis*. *Developmental and Comparative Immunology*. 106(December 2019): 103615. DOI: 10.1016/j.dci.2020.103615.
- Xu T, Zhang XH. 2014. *Edwardsiella tarda*: An intriguing problem in aquaculture. *Aquaculture*. 431: 129–135. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.12.001.