

**UJI LARUTAN MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L) UNTUK PENGOBATAN IKAN  
LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) YANG TERINFEKSI BAKTERI  
*Edwardsiellatarda***

**Test Solution *Phyllanthus niruri* L for the Treatment of *Clarias gariepinus* the Infected  
Bacteria *Edwardsiellatarda***

Jarod Setiaji, T. Iskandar Johan dan Agus Pramujiono  
Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau, Jl. Kaharuddin Nasutionno.113 Pekanbaru  
Telp: 0761-72126 ext. 123, Fax: 0761-674681  
[Diterima April 2013; Disetujui Juli 2013]

**ABSTRACT**

Meniran (*Phyllanthus niruri* L) solution test for the treatment measures of *Clarias gariepinus* which was infected by bacteria *Edwardsiellatarda* was conducted. The purpose of this study was to find the effective concentration of the solution meniran for prevention of red spot disease (*edwardseliosis*) that infect catfish. The completely randomized design with 4 treatments and 3 replications was used. The treatment was worked by soaking in a solution with meniran concentrations of 3,000 ppm, 5,000 ppm, 7,000 ppm and without being given meniran solution as a control. The average of meniran solution inhibition against bacteria at concentration of 50,000 ppm of 14.3 mm, concentration of 25,000 ppm of 12 mm, concentration of 10,000 ppm of 8.7 mm and concentration of 5,000 ppm of 6 mm. Meniran L D<sub>50</sub> concentration test of 40,000 and 60,000 on the 24-hour immersion caused death by 10%. The highest survival rate was found at a concentration of 7,000 ppm as 86.67%.

**Keywords:** *Phyllanthus niruri* L, *Clarias gariepinus*, *Edwardsiellatarda*, Infection

**ABSTRAK**

Uji larutan meniran (*Phyllanthus niruri* L) untuk pengobatan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terserang bakteri *Edwardsiella tarda*. Tujuan dari penelitian ini adalah mencari konsentrasi dari larutan meniran yang efektif untuk penanggulangan penyakit bercak merah (*edwardseliosis*) yang menginfeksi Ikan lele dumbo. Metode penelitian yang digunakan yakni metode eksperimen, dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah perendaman pada larutan meniran dengan konsentrasi 3.000 ppm, 5.000 ppm, 7.000 ppm dan tanpa diberi larutan meniran sebagai kontrol. Rata-rata daya hambat larutan meniran terhadap bakteri pada konsentrasi 50.000 ppm seluas 14,3 mm, konsentrasi 25.000 ppm 12 mm, konsentrasi 10.000 ppm 8,7 mm dan konsentrasi 5.000 ppm 6 mm. Uji LD<sub>50</sub> konsentrasi meniran 40.000 dan 60.000 pada perendaman 24 jam menyebabkan kematian sebesar 10%. Tingkat kelulushidupan yang tertinggi terdapat pada konsentrasi 7.000 ppm sebesar 86,67%.

**Kata kunci:** *Phyllanthus niruri* L, *Clarias gariepinus*, *Edwardsiellatarda*, Infeksi

**PENDAHULUAN**

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) telah dibudidayakan di Indonesia secara intensif, selain memiliki nilai ekonomis tinggi ikan lele dumbo banyak digemari oleh masyarakat terutama di daerah Riau dan sekitarnya. Namun demikian dengan semakin intensifnya sistem budidaya yang digunakan dalam pemeliharaan ikan, maka semakin banyak juga serangan penyakit. Salah satunya yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda* yang masih menjadi kendala.

Afrianto dan Liviawaty (2009), menyatakan bahwa ikan yang telah terserang penyakit ini biasanya terjadi luka pada kulit yang kemudian akan mengelupas ke bagian daging, sehingga dengan segera akan mengakibatkan pendarahan. Gejala eksternal ikan yang terserang *Edwardsiellosis* pada infeksi ringan, hanya menampakkan luka-luka kecil. Pada kasus akut akan terlihat luka bernanah secara cepat bertambah dengan berbagai ukuran. Perkembangan lebih lanjut, luka-luka (rongga-rongga)

berisi gas. Terlihat bentuk cembung, menyebar keseluruhan tubuh. Ikan tampak kehilangan warna dan luka-luka kemudian merata di seluruh tubuh, jika luka digores berbau busuk (Sugianti, 2005).

Penanggulangan penyakit ikan sampai sekarang masih memakai antibiotik yang berasal dari anorganik. Penggunaan antibiotik tersebut mempunyai efek samping dan pada akhirnya menyebabkan terjadinya resistensi pathogen terhadap antibiotik tersebut. Kebutuhan dosis yang semakin meningkat akan menimbulkan resistensi terhadap bakteri serta dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, maka diperlukan upaya pengendalian yang aman bagi lingkungan serta tidak menimbulkan efek samping.

Pada saat ini antibiotik masih merupakan bahan impor dan mahal harganya, maka pengendalian alternatif dapat dilakukan dengan menggunakan bahan alami yang lebih murah, mudah didapat dan ramah lingkungan.

Pada saat ini pengobatan tradisional dengan fitofarmaka mulai menjadi perhatian dunia. Di Thailand dan Filipina fitofarmaka telah dimanfaatkan sebagai bakterisida, fungisida, algasida, virusida, herbisida dan pestisida. Penelitian mengenai fitofarmaka semakin gencar dilakukan di Thailand, sejak negara ini mencanangkan tahun 2000 sebagai tahun fitofarmaka (Muhson, 2009). Di Indonesia fitofarmaka sebenarnya telah lama dimanfaatkan untuk pengobatan manusia, dan saat ini mulai digunakan dalam budidaya ikan. Beberapa jenis fitofarmaka dapat diujicobakan untuk pengobatan penyakit ikan, selain aman dan tidak ada residu di dalam tubuh ikan, fitofarmaka juga mudah hancur secara hayati sehingga menjadi ramah lingkungan.

Bahan alami yang telah digunakan untuk menanggulangi penyakit ikan yang disebabkan oleh infeksi bakteri, jamur dan parasit antara lain seperti sambiloto, ekstrak bawang putih, daun jambu biji, daun kemboja, daun pepaya, daun ketapang dan yang lainnya. Sehingga saat ini fitofarmaka menjadi alternatif dalam mengobati penyakit ikan dan sebagai pengganti antibiotik. Salah satu tanaman obat yang potensial digunakan untuk pengobatan penyakit ikan di Indonesia adalah meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Hidayat dkk. (1993) menerangkan bahwa meniran merupakan komponen tanaman yang mempunyai nilai ekonomi karena

didalamnya terkandung senyawa alkaloid dan tanin yang berguna sebagai obat antibiotik.

Tumbuhan meniran mengandung lignan (filantin, hipofilantin, nirantin, lintetralin) flavonoid (quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragalin, caempferol-4-rhamnopynoside), triterpen dan asam lemak. Kandungan filantin, hipoflantin, hipotetralin, nirantin, alkaloid dan tanin pada meniran merupakan kandungan kimia yang mempunyai aktivitas anti bakteri (Subarnas dan Sidik, 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi dari larutan meniran yang efektif untuk mengobati ikan lele dumbo dari penyakit yang disebabkan bakteri *E. tarda*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai Oktober 2010 di Laboratorium Pemeriksaan Hama dan Penyakit Ikan Stasiun Karantina Ikan Kelas I Sultan Syarif Kasim II Pekanbaru, Riau.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele berat 100 gr sebanyak 150 ekor, isolat bakteri *E. tarda*, media TSA, TSB, ekstrak meniran, alkohol 70%, larutan saline 0,085%, bahan-bahan uji biokimia, aquades, NaCl, pelet.

Peralatan; autoclave, inkubator, uv laminary air flow, tabung reaksi, jarum ose, bunsen, hot plate, tabung erlenmeyer, lemari pendingin, pipet volumetric, rak tabung reaksi, petridish, timbangan analit, jarum suntik, hockey stick, vortex, gelas ukur, yellow tip, parafilm, kertas whatman no.4, corong, pinset, dissecting set, aluminium foil, baki, aquarium, serok.

Metode penelitian yang digunakan yakni metode eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap, dengan 4 perlakuan dan tiga kali ulangan, yaitu P<sub>0</sub>; Tanpa diberi larutan meniran sebagai kontrol, P<sub>1</sub>; perendaman larutan meniran dengan konsentrasi 3000 ppm, P<sub>2</sub>; perendaman larutan meniran dengan konsentrasi 5000 ppm, P<sub>3</sub>; perendaman larutan meniran dengan konsentrasi 7000 ppm.

Pembuatan ekstrak meniran. Tanaman meniran kering ditimbang sebanyak 2000 gr kemudian direbus dengan aquadest steril 1.000 ml. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas whatman no.4, sehingga diperoleh ekstrak meniran 2.000.000 ppm (stok).

Larutan meniran yang telah disaring disimpan dalam lemari pendingin (Iftitah, 2006).

Uji sensitivitas untuk melihat daya hambat ekstrak meniran terhadap perkembangan bakteri *E. tarda*, dilakukan dengan menggunakan kertas cakram berdiameter 5 mm dari kertas whatman no.4. Kemudian dilakukan perendaman dalam larutan meniran dengan konsentrasi 50.000 ppm, 25.000 ppm, 10.000 ppm, 5.000 ppm, 500 ppm dan aquadest sebagai kontrol selama 3 jam dalam cawan petri. Kertas saring yang telah direndam diletakkan di atas media TSA yang telah diinokulasi dengan bakteri *E. tarda*. kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27°C dan dilakukan pengamatan diameter zona hambatan (daerah bening disekitar kertas cakram).

Uji virulensi menggunakan bakteri *E. tarda* yang diinfeksi pada ikan lele dumbo sebanyak 3 ekor. Ikan diinjeksi secara intramuscular dibagian dorsal dengan dosis 0,1 ml/ 100 gram berat ikan. Pengamatan dilakukan selama 12 sampai 24 jam. Ikan yang menunjukkan gejala penyakit atau mati kemudian di isolasi kembali pada organ internal ikan yang mengalami gejala klinis, yaitu dengan cara menggunakan jarum ose yang ditusukan ke organ ikan yang sakit kemudian digores ke media TSA, selanjutnya diinkubasi 24 jam pada suhu 28°C. Setelah 24 jam koloni yang pertumbuhannya terpisah dilakukan uji biokimianya untuk membuktikan bahwa bakteri yang menginfeksi ikan lele dumbo adalah *E. tarda*.

Uji toksisitas atau LD 50% adalah dengan merendam ikan sampel sebanyak 10 ekor di dalam larutan meniran pada konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm, 40.000 ppm dan 60.000 ppm, selama 12 jam dan 24 jam. Uji ini untuk mendapatkan konsentrasi larutan meniran dengan mortalitas sebanyak 50% pada ikan yang diuji.

Pada uji penggunaan larutan meniran yaitu, ikan lele dumbo yang diuji mempunyai berat rata-rata 100 gr berjumlah 10 ekor, untuk setiap perlakuan ikan uji diinfeksi bakteri *E. tarda* dengan cara disuntik secara intramuscular (Sugiani, 2001). Kepadatan bakteri yang diinfeksi pada ikan uji 0,1 ml x 10<sup>-9</sup> sel bakteri / ml / 100 gr berat ikan. Setelah ikan uji diinfeksi kemudian ikan uji direndam di dalam larutan meniran pada konsentrasi (0 ppm sebagai kontrol, 3.000 ppm, 5.000 ppm dan 7.000 ppm)

selama 30 menit. Data kelulushidupan ikan lele dumbo yang diperoleh kemudian di analisis dengan uji statistik (Anava).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Daya Hambat Bakteri *E. tarda*

Hasil pengamatan zona hambat larutan meniran terhadap bakteri *E. tarda* menunjukkan bahwa larutan meniran mempunyai sifat antibakteri terhadap *E. tarda*, hal ini dilihat dari hasil rata-rata pengamatan zona daya hambat larutan meniran dengan konsentrasi 50.000 ppm menghasilkan 14,3 mm, pada konsentrasi 25.000 ppm menghasilkan 12 mm, pada konsentrasi 10.000 ppm menghasilkan 8,7 mm dan pada konsentrasi 5.000 ppm menghasilkan 6 mm.

Pengamatan daya hambat yang dihasilkan dari konsentrasi larutan meniran 50.000 ppm memiliki sifat antibakteri yang lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi 25.000 ppm dan 10.000 ppm. Daya hambat yang dihasilkan dari larutan meniran tersebut disebabkan karena meniran mengandung senyawa alkaloid dan tanin yang berguna sebagai obat antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin tinggi konsentrasi larutan meniran yang digunakan maka akan menghasilkan daya hambat yang lebih besar. Luasnya daya hambat (wilayah jernih) merupakan petunjuk kepekaan mikroorganisme terhadap zat antibakteri. Subarnas dan Sidik (1993) mengemukakan bahwa tumbuhan meniran menunjukkan efek antibakteria dengan zona inhibisi rata-rata 16 mm. Efek antibakteri yang dihasilkan dari setiap konsentrasi tanaman obat mempunyai efek yang berbeda-beda.

### Uji Virulensi *E. tarda*

Uji virulensi menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan bersifat patogen, hal ini terlihat setelah 24 jam ikan diinfeksi dengan bakteri *E. tarda* menunjukkan gejala-gejala klinis bahwa seperti terjadi pembengkakan dibawah kulit yang mengakibatkan menjadi luka terbuka, borok, perut gembung, sisik ikan terkuak kemudian ikan lemas, sering berada di permukaan dan di dasar atau yang dikenal dengan *Edwardsiellosis*. Selanjutnya setelah bakteri tersebut di isolasi lagi dan diinfeksi pada ikan uji, menyebabkan kematian yang lebih banyak.

Hasil pengamatan uji virulensi menunjukkan bahwa bakteri *E. tarda* sudah

patogen, hal ini dilihat dari uji biokimia dan gejala klinis pada ikan yang diinfeksi yaitu terjadi pembengkakan dibawah kulit yang menjadi luka terbuka berisi nanah, borok, perut gembung, ikan lemas sering ada di permukaan dengan posisi tegak megap-megap seperti kekurangan oksigen. Austin and Austin (1993), menyatakan bahwa *E. tarda* dapat diisolasi dari ulasan lesi pada media non selektif seperti nutrisi agar atau TSA. Bakteri *E. tarda* yang tumbuh pada media non selektif seperti TSA, dengan ciri berwarna krem, berbentuk bulat dengan tipe rata cembung.

### Uji LD<sub>50</sub> Larutan Meniran

Hasil uji LD<sub>50</sub> perendaman larutan meniran pada perlakuan ikan uji menunjukkan bahwa perendaman pada konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm dan 20.000 ppm selama 12 jam dan 24 jam, perendaman pada konsentrasi 40.000 ppm dan 60.000 ppm selama 12 jam tidak menyebabkan kematian pada ikan lele dumbo. Sedangkan perendaman pada konsentrasi 40.000 ppm dan 60.000 ppm selama 24 larutan meniran menyebabkan kematian masing-masing sebesar 10%, hal ini disebabkan karena pada konsentrasi tersebut larutan meniran tidak mampu ditoleransi oleh ikan uji. Dari hasil uji LD<sub>50</sub> perlu ada pembatasan pemakaian konsentrasi larutan meniran, sehingga dalam aplikasinya tidak bersifat racun bagi ikan. Iftitah (2004), menyatakan bahwa larutan meniran pada konsentrasi 60.000 ppm menyebabkan kematian pada ikan Mas sebanyak 10% selama pengamatan 24 jam.

Tabel 1. Hasil Uji LD<sub>50</sub> Perendaman Larutan Meniran (*Phyllanthus niruri* L) selama 12 jam dan 24 jam

Konsentrasi (ppm)	Mortalitas (%)	
	12 jam	24 jam
5.000	0	0
10.000	0	0
20.000	0	0
40.000	0	10
60.000	0	10

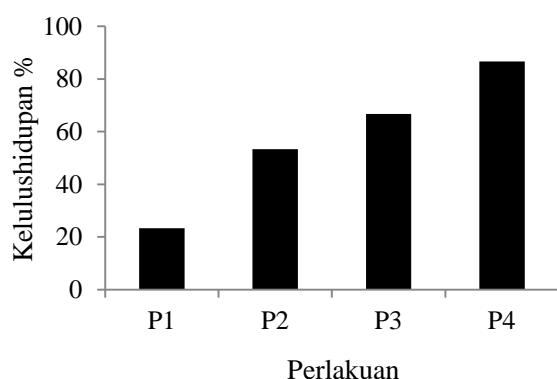
### Uji Penggunaan Ekstrak Meniran

Hasil pengamatan gejala klinis pada ikan lele dumbo sehari setelah diinfeksi Bakteri *E. tarda* pada perlakuan kontrol adalah timbulnya ulcer dan pembengkakan disekitar

area infeksi pada kulit ikan, menurunnya nafsu makan dan menurunnya aktifitas renang ikan. Hal ini terlihat dari respon ikan lele Dumbo terhadap makanan yang diberikan. Pada hari ketiga masih terjadi pembengkakan, bentuk perut sedikit membuncit serta nafsu makan ikan menurun, kemudian pada hari kesembilan menunjukkan perubahan lebih buruk yang ditandai dengan aktifitas renang ikan lebih lambat serta haemorrhage menyebar disekitar area infeksi, bentuk perut membuncit serta kulit mengeluarkan cairan, hal ini terjadi sampai pada hari keempat belas. Angka *dkk.* (2002) ikan yang terinfeksi oleh bakteri akan mengalami pembengkakan dibawah kulit yang biasanya menjadi luka terbuka, borok, perut gembung dan sisik ikan terkuak.

Perlakuan 1, 2 dan 3 pada hari pertama menunjukkan gejala klinis seperti perut buncit, aktifitas renang ikan lambat dan kondisi tubuh membengkak. Pada hari ketiga bentuk perut mulai normal, nafsu makan masih berkurang, dan aktifitas renangnya masih lambat, haemorrhage mulai hilang.

Pada hari keempat belas pada perlakuan 1, 2 dan 3 sudah menunjukkan perubahan morfologi yang normal kembali, ditandai dengan luka yang telah puih, kulit cerah, bentuk perut normal, nafsu makan mulai meningkat, aktifitas renang ikan lebih gesit. Hal ini diduga zat aktif yang terdapat dalam larutan meniran sebagai antibakteri, sehingga dapat menghambat infeksi bakteri pada tubuh ikan. Larutan meniran juga sebagai antioksidan sehingga dapat menekan kerusakan sel-sel di dalam tubuh ikan yang diakibatkan oleh infeksi bakteri. Selain itu meniran bisa meningkatkan daya tahan tubuh. Perannya sebagai *imunomodulator* membuat sistem imun lebih aktif dalam menjalankan fungsinya atau menekan reaksi imun yang berlebihan, sehingga daya tahan tetap terjaga ketika diinfeksi mikroorganisme patogen.



Gambar 2. Rata-rata Persentase Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo

Hasil uji aplikasi larutan meniran menunjukkan bahwa rata-rata persentase kelulushidupan ikan lele dumbo semakin baik pada konsentrasi yang lebih tinggi. Kelulushidupan yang tertinggi terdapat pada perlakuan perendaman dengan konsentrasi 7.000 ppm sebesar 86,67%. Hal ini diduga zat aktif yang

terdapat dalam larutan meniran dapat menghambat aktivitas bakteri *E. tarda* dan berperan dalam proses penyembuhan ikan yang terinfeksi. Muhson (2009) menggunakan larutan meniran untuk menanggulangi penyakit furunculosis yang disebabkan bakteri *Aeromonas salmonicida*, menunjukkan bahwa konsentrasi 5.000 ppm dengan lama perendaman 30 menit menghasilkan kelulushidupan ikan Mas sebesar 70%.

Berdasarkan analisis variansi diperoleh  $F_{hit}$  63,59 lebih besar dari  $F_{tab}$  0,01 yang menunjukkan bahwa perlakuan perendaman larutan meniran pada ikan Lele Dumbo yang diinfeksi bakteri *E. tarda* memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap kelulushidupannya.

### KESIMPULAN

Larutan meniran (*P. niruri* L) dapat menghambat perkembangan bakteri *E. tarda*. Tingkat kelulushidupan ikan Lele Dumbo yang terinfeksi bakteri *E. Tarda*, setelah direndam

Tabel 2. Gejala Klinis Ikan Lele dumbo Setelah Diinfeksi Bakteri *E. tarda* dan Setelah Direndam Pada Larutan Meniran (*Phyllanthus niruri* L)

	Hari ke-	Gejala Klinis					
		Tingkah Laku Ikan		Perubahan Morfologi			
		aktifitas renang	nafsu makan	warna kulit	haemorrhage	bentuk perut	kondisi tubuh
P0	1	sedikit lambat	sedikit makan	mulai memucat	sedikit	normal	mulai bengkak
	3	lambat	kurang	pucat	mulai menyebar	sedikit buncit	bengkak/ bernanah
	9	lambat	kurang	pucat	menyebarkan	membuncit	bengkak/ bernanah
	14	lambat	kurang	pucat	menyebarkan	buncit	bengkak/ bernanah
P1	1	lambat	kurang	pucat	sedikit	buncit	mulai bengkak
	3	lambat	sedikit makan	sedikit cerah	masih ada	mulai normal	bengkak
	9	mulai aktif	mulai meningkat	cerah	mulai hilang	normal	sembuh
	14	aktif	normal	cerah	sembuh	normal	sembuh
P2	1	sedikit lambat	kurang	pucat	sedikit	sedikit buncit	mulai bengkak
	3	mulai aktif	sedikit makan	sedikit cerah	mulai hilang	mulai normal	bengkak
	9	aktif	normal	cerah	mulai hilang	normal	sembuh
	14	aktif	normal	cerah	sembuh	normal	sembuh
P3	1	sedikit lambat	kurang	sedikit cerah	sedikit	sedikit buncit	mulai bengkak
	3	mulai aktif	mulai meningkat	sedikit cerah	mulai hilang	mulai normal	bengkak
	9	aktif	normal	cerah	sembuh	normal	sembuh
	14	aktif	normal	cerah	sembuh	normal	sembuh

pada larutan meniran pada konsentrasi 7000 ppm selama 30 menit sebesar 86,67%.

Sugianti, B. 2005. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional dalam Pengendalian Penyakit Ikan. IPB, Bogor.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 2009. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Kanisius, Yogyakarta.
- Angka, S. L., I. Yulita dan I. K. J. Utama. 2002. Aktivitas Antibakteri dari Fitofarmaka secara *In Vitro* dan *In Vivo* Terhadap *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo. Jurnal Mikrobiologi Indonesia, 7(1): 47-50.
- Austin, B. and D. A. Austin. 1999. Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish, 3<sup>rd</sup> (revised) ed. Springer-Praxis, Goldaming.
- Hidayat. M., E. M. Rahmat, DAN S. M. D. Rosita. 1993. Respons Meniran terhadap Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh. Prosiding Seminar Meniran dan Kedawung surabaya 13-14 Agustus. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Jakarta.
- Iftitah, 2006. Efektivitas Simplisia Meniran (*Phyllanthus niruri* L) Bagi Pengobatan Penyakit yang disebabkan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Melalui Perendaman. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor. Tidak diterbitkan.
- Muhson, N. 2009. Efektivitas Simplesia Meniran (*Phyllanthus niruri* L) untuk Pengobatan Penyakit yang Disebabkan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). Universitas Riau, Pekanbaru. (tidak diterbitkan).
- Subarnas, A. dan Sidik. 1993. *Phyllanthus niruri* Linn, Kimia, Farmakologi dan Penggunaannya Sebagai Obat Tradisional. Dalam Prosiding Seminar Meniran dan Kedawung Surabaya 13-14 Agustus. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Jakarta.
- Sugiani, D. 2001. Pengaruh Pemberian Vaksin dengan Dosis Berbeda pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy Lac.*) terhadap Infeksi Bakteri *Aeromaonas hydrophila*. Skripsi. Fakultas Ilmu Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro, Semarang.