

## EFEKTIVITAS HIDROLISAT PEPTIDA UNTUK PENGOBATAN INFEKSI *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus*

### EFFECTIVITY OF PEPTIDE HYDROLYZATE FOR THE TREATMENT OF *Aeromonas hydrophila* INFECTION IN TILAPIA *Oreochromis niloticus*

Herawati Rasid<sup>1)</sup>, Dinamella Wahjuningrum<sup>2)</sup>, dan Widanarni<sup>2)</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Teknologi dan Manajemen perikanan Budidaya

<sup>2</sup>Porgram Studi Teknologi dan Manajemen Perikanan Budidaya

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Kampus IPB Dramaga-Bogor 16680

[herawatirasid@gmail.com](mailto:herawatirasid@gmail.com)

#### ABSTRAK

Penyakit yang menyerang ikan nila salah satunya adalah penyakit *motile aeromonad septicaemia* (MAS). Hidrolisat peptida merupakan alternatif untuk mengendalikan infeksi *A. hydrophila* penyebab penyakit MAS. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dosis optimal penggunaan hidrolisat peptida untuk pengobatan infeksi *A. hydrophila* pada ikan nila. Penelitian terdiri dari lima perlakuan dan tiga ulangan yaitu K- (tanpa injeksi *A. hydrophila* dan tanpa hidrolisat peptida), HP 0% (injeksi *A. hydrophila* dan tanpa hidrolisat peptida), HP 50% (injeksi *A. hydrophila* dan hidrolisat peptida 50  $\mu$ L + 50  $\mu$ L PBS), HP 100% (injeksi *A. hydrophila* dan hidrolisat peptida 100  $\mu$ L), dan OTC (injeksi *A. hydrophila* dan oxytetracyclin 50 ppm). Uji tantang dilakukan pada awal pemeliharaan dengan menginjeksikan bakteri *A. hydrophila* sebanyak 0.1 mL per ekor ikan dengan kepadatan  $10^6$  CFU mL<sup>-1</sup>. Pengobatan dengan hidrolisat peptida dan oxytetracyclin sebanyak 0.1 mL per ekor ikan dilakukan pada hari ke tiga setelah uji tantang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian hidrolisat peptida dengan dosis 50% efektif untuk mengobati ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan nilai kelangsungan hidup sebesar 70%.

**KATA KUNCI:** *Aeromonas hydrophila*, antibakteri, hidrolisat peptida, *Oreochromis niloticus*, oxytetracyclin

#### ABSTRACT

*One of the diseases that attack tilapia is motile aeromonad septicemia (MAS). Peptide hydrolyzate is an alternative to controlling *A. hydrophila* infection that causes MAS disease. The purpose of this research is to know the optimal dose of the use peptide hydrolyzate for the treatment of *A. hydrophila* infection in tilapia. This research consisted of five treatments and three replications which are K- (without *A. hydrophila* injection and without peptide hydrolyzate), 0% HP (*A. hydrophila* injection and without peptide hydrolyzate), 50% HP (*A. hydrophila* injection and 50  $\mu$ L peptide hydrolyzate + 50  $\mu$ L PBS), 100% HP (injection of *A. hydrophila* and peptide hydrolyzate 100  $\mu$ L), and OTC (injection of *A. hydrophila* and oxytetracyclin 50 ppm). The challenge test was started at the beginning of maintenance by injecting *A. hydrophila* bacteria as much as 0.1 mL per fish with a density of  $10^6$  CFU mL<sup>-1</sup>. Treatment with peptide hydrolyzate and oxytetracyclin of 0.1 mL per fish was carried out on the third day after the challenge test. The results showed that the administration of peptide hydrolyzate at a dose of 50% was effective for treating tilapia infected with *A. hydrophila* bacteria with a survival rate of 70%.*

**KEYWORDS:** *Aeromonas hydrophila*, antibacterial, peptide hydrolyzate, *Oreochromis niloticus*, oxytetracyclin

## PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah salah satu komoditas akuakultur yang berpotensi dan bernilai ekonomis tinggi. Menurut data DJPB (2017), produksi ikan nila pada tahun 2016 mencapai 1.187.812 ton, sedangkan produksi ikan nila pada tahun 2017 mencapai 1.245.746 ton dengan kenaikan produksi rata-rata yaitu 8,04%. Budidaya ikan nila yang semakin berkembang secara intensif menyebabkan munculnya perubahan lingkungan lahan budidaya sehingga memicu timbulnya masalah penyakit. Salah satu kendala yang dihadapi oleh pembudidaya ikan adalah penyakit bercak merah atau *Motile Aeromonad Septicaemia* (MAS). Penyakit MAS disebabkan oleh invasi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang merupakan bakteri oportunistik dan berada di perairan tawar. Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dalam waktu yang relatif singkat dapat mengalami kematian hingga mencapai lebih dari 80% (Tantu, *et al.* 2013).

Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* lebih sering dilakukan menggunakan berbagai jenis antibiotika tertentu seperti *oxytetracyclin*, *chloramphenicol*, *erythromycin*, *kanamycin*, dan *rifampicin*. Penggunaan antibiotik pada skala besar dan tidak sesuai aturan dapat menimbulkan dampak negatif yakni bakteri akan menjadi resisten, meninggalkan residu pada daging ikan, dan mencemari lingkungan (Aniputri, *et al.* 2014). Oleh karena itu perlu dilakukan suatu pengobatan dengan bahan-bahan alami yang aman dan ramah lingkungan, salah satunya adalah penggunaan hidrolisat peptida (Masso-Silva dan Diamond, 2014).

Peptida merupakan salah satu bahan alami yang memiliki senyawa antibakteri yang dapat membunuh patogen secara langsung dan dapat mengganggu keseimbangan membran mikroba (Rajanbabu dan Chen, 2011). Peptida bioaktif umumnya mengandung residu 20 asam amino panjang yang dapat dicerna menjadi asam amino tunggal. Peptida dapat berperan sebagai immunomodulator, antibakteri, dan antioksidan (Luo, *et al.* 2018). Peptida bioaktif dapat berasal dari kasein, laktobumin dan laktoglobulin, protein whey, kolagen, albumin, dan gelatin (Oseguera-Toledo, *et al.* 2014). Dalam penelitian ini menggunakan hidrolisat peptida yang berasal dari kolagen kulit ikan patin yang difermentasi menggunakan *Bacillus thuringiensis*. Penelitian ini bertujuan mengetahui dosis optimal penggunaan hidrolisat peptida untuk pengobatan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila *Oreochromis niloticus*.

## METODE

Penelitian dilaksanakan pada Januari hingga Juni 2019, bertempat di Laboratorium Kesehatan Organisme Akuatik, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, dan Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan dengan tiga kali ulangan pada setiap perlakuan. Perlakuan yang digunakan yaitu hidrolisat peptida dengan dosis 0%, 50%, 100%, kontrol (-) dan *oxytetracyclin* (OTC). Rancangan percobaan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Rancangan percobaan pemberian hidrolisat peptida dengan dosis berbeda pada ikan nila

Perlakuan	Keterangan
K-	Ikan nila diinjeksi dengan <i>Posphate Buffer Saline</i> (PBS)
HP 0% (v/v)	Ikan nila diinjeksi dengan <i>A. hydrophila</i>
HP 50% (v/v)	Ikan nila diinjeksi <i>A. hydrophila</i> dan diobati dengan hidrolisat peptida dengan dosis 50% per ikan
HP 100% (v/v)	Ikan nila diinjeksi <i>A. hydrophila</i> dan diobati dengan hidrolisat peptida dengan dosis 100% per ikan
OTC 50 ppm	Ikan nila diinjeksi <i>A. hydrophila</i> dan diobati dengan OTC dengan dosis 50 ppm per ikan

Keterangan : Kontrol negatif (K-), Hidrolisat peptida (HP), *Oxytetracyclin* (OTC)

## Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian diawali dengan uji pendahuluan yang terdiri dari penyediaan hidrolisat peptida, penyediaan bakteri *Aeromonas hydrophila*, penentuan nilai LD<sub>50</sub>, uji toksitas, dan uji *in-vitro*. Wadah akuarium yang digunakan pada penelitian ini yaitu akuarium berukuran 50 x 30 x 30 cm<sup>3</sup> sebanyak 15 buah. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari PT. Xpro Agrotama Cinangneng, Bogor. Ikan yang digunakan memiliki panjang total  $7,35 \pm 0,93$  cm dengan bobot tubuh  $7,51 \pm 0,39$  g sebanyak 150 ekor. Isolat bakteri *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Organisme Akuatik, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Uji tantang dilakukan dengan menginjeksikan 0,1 ml/ekor bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10<sup>6</sup> CFU/mL pada ikan uji secara intramuskular. Pakan harian diberikan secara *at satiation* dengan frekuensi pemberian pakan tiga kali sehari yaitu pada pagi hari (09.00-10.00 WIB), siang hari (13.00-14.00 WIB), dan sore hari (16.00-17.00 WIB). Pemantauan kualitas air dilakukan selama pemeliharaan dengan melakukan sifon pada pagi hari, pengecekan suhu, dan DO. Pergantian air dilakukan minimal 30% setiap dua hari sekali. Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi uji *in-vitro*, tingkat kelangsungan hidup (TKH), konsumsi pakan (KP), total sel darah merah (SDM), total sel darah putih (SDP), *relative percent survival* (RPS), gejala klinis dan kondisi organ dalam. Data homogenitas dan normalitas dianalisis menggunakan aplikasi Minitab 16 dengan selang kepercayaan 95%. Hasil pengukuran parameter dianalisis secara statistik menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pada program SPSS 22.0. Jika hasil ANOVA berbeda nyata, dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan. Data hasil uji ditabulasi menggunakan program MS. Excel 2013. Adapun data gejala klinis dan pengamatan organ dalam dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN BAHASAN

### **Uji *In Vitro* Metode Kultur Bersama**

Aktivitas antibakteri dari peptida dianalisis dengan metode kultur bersama melalui uji *in vitro*. Jumlah pertumbuhan *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 Jumlah pertumbuhan *A. hydrophila* pada uji *in vitro* dengan metode kultur bersama

Kepadatan bakteri (CFU/mL)	Rata-rata pertumbuhan bakteri (koloni)	
	Kontrol	HP
10 <sup>2</sup>	$7.67 \pm 4.51^a$	$1.33 \pm 2.31^a$
10 <sup>3</sup>	$21.67 \pm 6.81^b$	$2.00 \pm 2.00^a$
10 <sup>4</sup>	$200.67 \pm 10.02^d$	$41.33 \pm 8.08^c$

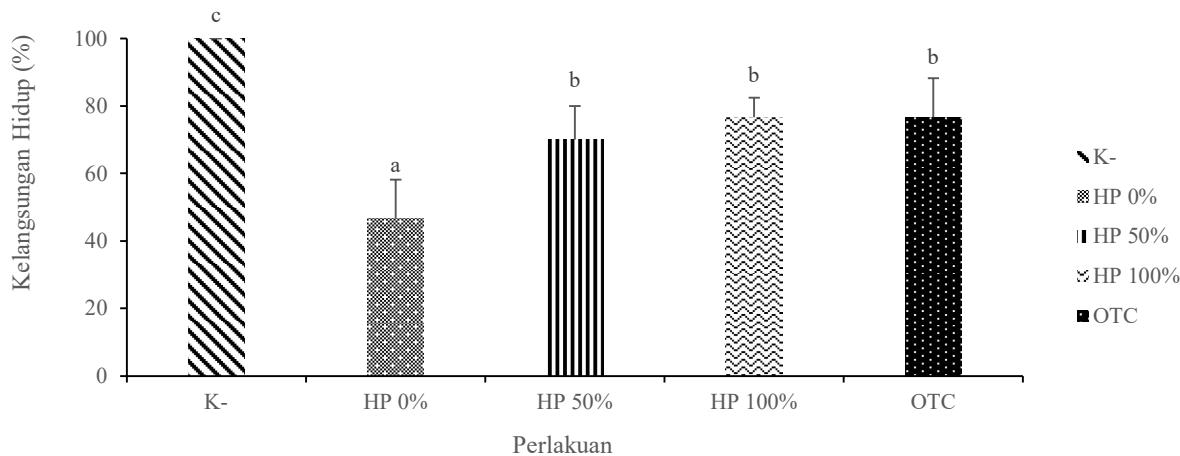
Keterangan: K: perlakuan kontrol (*A. hydrophila*), HP: perlakuan hidrolisat peptida (*A. hydrophila* + hidrolisat peptida). Huruf superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P<0.05).

Pertumbuhan *A. hydrophila* pada kontrol negatif mengalami peningkatan selama 24 jam pada setiap kepadatan bakteri. Adapun pertumbuhan bakteri yang diberi perlakuan hidrolisat peptida menunjukkan adanya penekanan terhadap pertumbuhan bakteri berdasarkan kepadatan yang digunakan. Ditinjau dari pernyataan Kusumaningtyas, (2013), bahwa proses hidrolisis fermentatif dapat menghasilkan peptida bioaktif yang mempunyai aktivitas biologis, salah satunya adalah antibakteri.

### **Tingkat Kelangsungan Hidup**

Tingkat kelangsungan hidup ikan nila pada perlakuan hidrolisat peptida dan OTC lebih baik dari kontrol positif (HP 0%). Kelangsungan hidup perlakuan HP 100% ( $76.67 \pm 5.77\%$ ) dan perlakuan HP 50% ( $70.00 \pm 10.00\%$ ) berbeda nyata (P<0.05) terhadap perlakuan K- ( $100 \pm 0.00\%$ ) dan perlakuan HP 0%

( $46.67 \pm 11.55\%$ ). Namun tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) terhadap perlakuan OTC ( $76.67 \pm 11.55\%$ ). Tingkat kelangsungan hidup disajikan pada gambar 1.

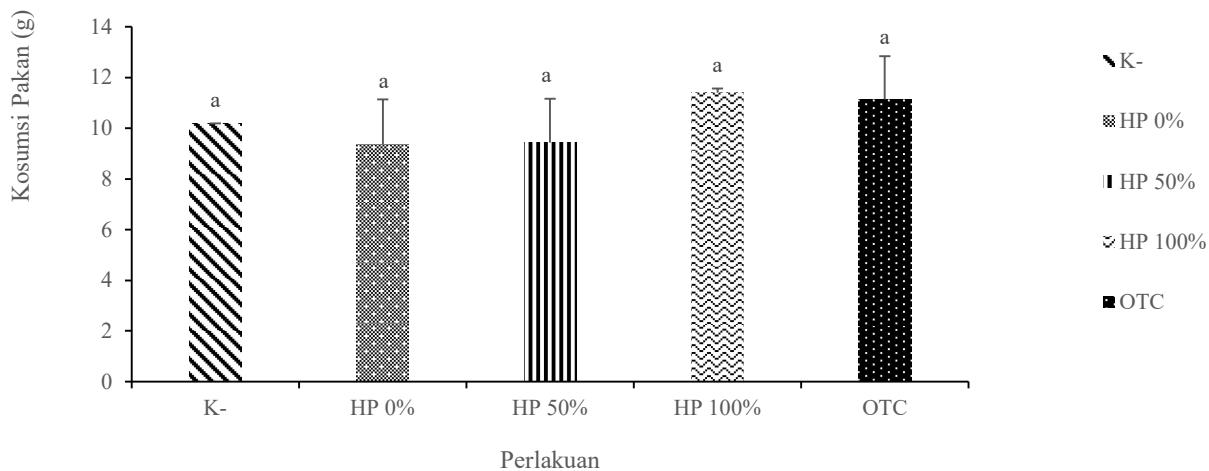


Gambar 1 Tingkat kelangsungan hidup ikan nila setelah uji tantang bakteri *A. hydrophila* pada perlakuan kontrol negatif (K-), perlakuan hidrolisat peptida (HP) dosis 0%, 50%, 100%, dan perlakuan *oxytetracyclin* (OTC). Huruf yang berbeda di atas diagram batang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0.05$ ).

Tingkat kelangsungan hidup tertinggi yang diperoleh perlakuan HP 100% diduga akibat adanya pengaruh hidrolisat peptida yang berperan sebagai antibakteri. Antimikroba peptida (AMP) berperan aktif sebagai antibakteria dan anti jamur, sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai pengganti antibiotik konvensional untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resisten (Fitri, 2013).

### Konsumsi Pakan (KP)

Jumlah konsumsi pakan ikan nila selama pemeliharaan disajikan pada gambar 2. Jumlah konsumsi pakan (g) pada perlakuan K- ( $10.19 \pm 0.00$ ), perlakuan HP dosis 100% ( $11.40 \pm 0.17$ ), perlakuan HP dosis 50% ( $9.43 \pm 1.73$ ), dan perlakuan OTC ( $11.13 \pm 1.71$ ) tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) terhadap perlakuan HP dosis 0% ( $9.4 \pm 1.77$ ).



Gambar 2 Jumlah konsumsi pakan ikan nila selama pemeliharaan. Perlakuan kontrol negatif (K-), perlakuan hidrolisat peptida (HP) dosis 0%, 50%, 100%, dan perlakuan *oxytetracyclin* (OTC). Huruf yang sama di atas diagram batang menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ).

Jumlah konsumsi pakan pada setiap perlakuan menunjukkan hasil yang sama. Tidak ada peningkatan konsumsi pakan dengan adanya penambahan hidrolisat peptida. Nafsu makan yang rendah diduga memiliki Rasid *et al.* 2021

hubungan dengan proses metabolisme tubuh ikan yang mengalami gangguan akibat infeksi *A. hydrophila*. Rendahnya nafsu makan pada ikan merupakan salah satu gejala infeksi *Aeromonas* sp. (Kurniawan, et al. 2014).

### Total Sel Darah Merah (SDM) dan Sel Darah Putih (SDP)

Total SDM ikan nila yang diberi perlakuan HP 0%, HP 50%, HP 100%, dan OTC setelah H+3 uji tantang menunjukkan hasil berbeda nyata ( $P<0.05$ ) terhadap perlakuan K-. Adapun total SDM setelah H+6 uji tantang menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ( $P>0.05$ ) pada setiap perlakuan. Total SDP setelah H+3 uji tantang pada perlakuan K- tidak berbeda nyata ( $P>0.05$ ) terhadap perlakuan HP 50% dan HP 100%. Setelah H+6 uji tantang total SDP pada setiap perlakuan berbeda nyata ( $P<0.05$ ) terhadap perlakuan HP 0%. Total sel darah merah dan sel darah putih ikan nila disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Total sel darah merah dan sel darah putih ikan nila yang diberi perlakuan hidrolisat peptida, sebelum dan setelah uji tantang bakteri *A. hydrophila*

Waktu	SDM ( $\times 10^6$ sel/mm <sup>3</sup> )				
	K-	HP 0%	HP 50%	HP 100%	OTC
Sebelum UT	1.10 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.10 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.10 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.10 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.10 ± 0.21 <sup>a</sup>
H+3 Uji Tantang	1.65 ± 0.42 <sup>b</sup>	0.87 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.55 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.09 <sup>a</sup>
H+6 Uji Tantang	1.24 ± 0.33 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.40 <sup>a</sup>	1.00 ± 0.26 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.05 ± 0.12 <sup>a</sup>

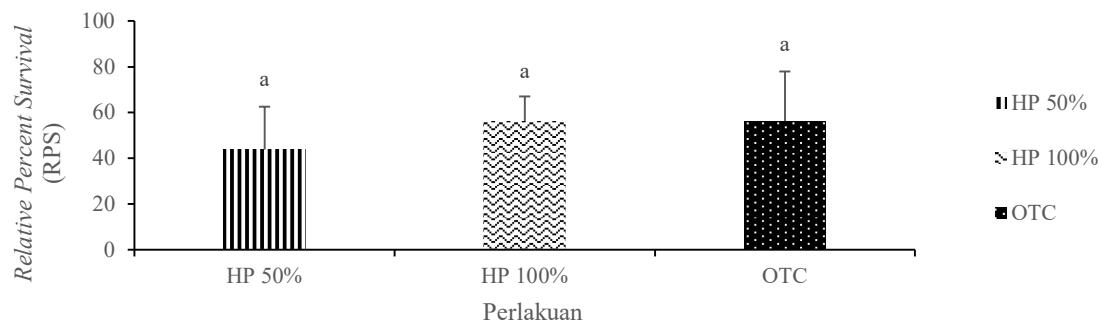
Waktu	SDP ( $\times 10^4$ sel/mm <sup>3</sup> )				
	K-	HP 0%	HP 50%	HP 100%	OTC
Sebelum UT	8.03 ± 1.00 <sup>a</sup>	8.03 ± 1.00 <sup>a</sup>	8.03 ± 1.00 <sup>a</sup>	8.03 ± 1.00 <sup>a</sup>	8.03 ± 1.00 <sup>a</sup>
H+3 Uji Tantang	7.94 ± 1.72 <sup>a</sup>	16.23 ± 1.21 <sup>c</sup>	9.43 ± 1.40 <sup>a</sup>	8.3 ± 0.52 <sup>a</sup>	12.67 ± 0.64 <sup>b</sup>
H+6 Uji Tantang	7.47 ± 0.68 <sup>a</sup>	9.33 ± 0.51 <sup>b</sup>	7.57 ± 0.96 <sup>a</sup>	7.73 ± 0.55 <sup>a</sup>	7.40 ± 0.00 <sup>a</sup>

Keterangan : Kontrol negatif (K-), hidrolisat peptida 0% (HP 0%), hidrolisat peptida 50% (HP 50%), hidrolisat peptida 100% (HP 100%), *oxytetracycline* (OTC). Data menunjukkan nilai rata-rata ± standar deviasi. Huruf superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P<0.05$ ).

Jumlah sel darah yang meningkat diduga merupakan respon ikan dalam mempertahankan kekebalan tubuhnya dari serangan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini didukung oleh Zou, et al. (2000), yang menyatakan bahwa peningkatan jumlah sel darah disebabkan oleh meningkatnya aktivitas pembelahan sel yang berperan dalam mengeliminasi benda asing yang masuk kedalam tubuh.

### Relative Percent Survival (RPS)

Nilai *Relative Percent Survival* (RPS) yang diperoleh setelah uji tantang pada setiap perlakuan disajikan pada Gambar 3. Nilai RPS yang diperoleh pada perlakuan HP 50%, HP 100%, dan OTC mengalami peningkatan masing-masing sebesar  $47.75 \pm 18.75\%$ ,  $56.25 \pm 10.83\%$ ,  $56.25 \pm 21.65\%$ .



Gambar 3 *Relative Percent Survival (RPS)* ikan nila setelah uji tantang bakteri *A. hydrophila*. Hidrolisat peptida dosis 50% (HP 50%), hidrolisat peptida dosis 100% (HP 100%), *oxytetracyclin* (OTC). Huruf yang berbeda di atas diagram batang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P<0.05$ ).

Berdasarkan pernyataan Grizes dan Tan (2005), bahwa nilai RPS dikatakan efektif apabila nilai yang diperoleh sebesar  $\geq 50\%$ . Hasil yang diperoleh dari perlakuan HP 100% dan OTC menunjukkan nilai RPS yang diduga dapat mengobati ikan nila dari infeksi *A. hydrophila*. Adapun nilai RPS perlakuan HP 50% yang menunjukkan hasil  $\leq 50\%$  diduga karena rendahnya dosis hidrolisat peptida untuk meningkatkan sistem imun ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila*.

### Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis pada ikan uji selama pemeliharaan disajikan pada Tabel 4. Perlakuan kontrol negatif tidak terdapat gejala klinis berupa hemoragi (pendarahan), radang, tukak, dan kematian setelah diinjeksi PBS 0.1 mL.

Tabel 4 Nilai skor gejala klinis ikan nila setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Hari ke-	Perlakuan				
	K-	HP 0%	HP 50%	HP 100%	OTC
1	0	5	5	5	5
2	0	16	12	13	13
3	0	10	12	13	11
4	0	9	9	11	8
5	0	8	5	7	7
6	0	5	5	3	3
Total skor	0	53	48	52	47

Keterangan: Kontrol negatif (K-), hidrolisat peptida dosis 0% (HP 0%), hidrolisat peptida dosis 50% (HP 50%), hidrolisat peptida dosis 100% (HP 100%), *oxytetracyclin* (OTC). Semakin tinggi nilai skor menunjukkan kondisi ikan yang lebih parah.

Ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* menimbulkan gejala klinis yang diawali dengan penurunan nafsu makan dan ikan berenang di dasar. Gejala klinis lainnya yang muncul setelah dua hari uji tantang yaitu hemoragi (pendarahan), radang, tukak, dan kematian. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hardi, Rasid *et al.* 2021

*et al.* (2014), bahwa ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila* ditandai dengan adanya pendarahan pada organ yang terinfeksi, ikan cenderung diam, pergerakan ikan lambat, pendarahan, perut buncit, luka atau borok, dan terjadi pembengkakan organ dalam.

## Pengamatan Organ Dalam

Organ dalam ikan nila yang diamati yaitu ginjal, hati, dan limfa. Warna dan bentuk organ dalam ikan nila pada kontrol negatif berbeda dengan ikan yang terinfeksi *A. hydrophila*. Warna organ dalam ginjal, hati, dan limfa pada kontrol negatif masing-masing yaitu merah pucat, merah pucat, merah tua. Sedangkan warna organ dalam ginjal, hati, dan limfa pada ikan yang diinfeksi *A. hydrophila* yaitu merah kehitaman, merah tua, dan merah kecoklatan.

## KESIMPULAN

Dosis optimal penggunaan hidrolisat peptida yang efektif mengobati infeksi *A. hydrophila* pada ikan nila yaitu hidrolisat peptida dosis 100% dengan nilai kelangsungan hidup sebesar 76.67% dan nilai gambaran darah yang baik.

## SARAN

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk pengobatan penyakit *motile aeromonad septicaemia* (MAS) melalui pakan pada komoditas ikan dan patogen yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aniputri FD, Hutabarat J, dan Subandiyono. (2014). Pengaruh ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap tingkat pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan kelulushidupan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3:20, pp. 1-10.
- [DJPB] Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. (2017). *Laporan kinerja LKj DJPB 2017*. Jakarta (ID): DJPB. p. 36.
- Fitri N. 2013. *Antimicrobial peptides* sebagai obat alternatif pada resistensi antibiotik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2:2, pp. 62-67.
- Grizes L, Tan AZ. (2005). Vaccine development for asian aquaculture. *Disease in Asian Aquaculture*. 5, pp. 483-439.
- Hardi EH, Pebrianto CA, Hidayanti T, Handayani RT. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* melalui jalur yang berbeda pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8:2, pp. 130-133.
- Kurniawan A, Sarjito, Prayitno SB. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) pada pakan terhadap kelulushidupan dan profil darah lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi *Aeromonas caviae*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3:3, 76-85.
- Kusumaningtyas E. (2013). Peran peptida susu sebagai antimikroba untuk meningkatkan kesehatan. *WARTAZOA*. 23:2, pp. 63-75.
- Luo C *et al.* (2018). Bitter peptides from enzymatically hydrolyzed protein increase the number of leucocytes and lysozyme activity of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Fish and Shellfish Immunology*. pp. 130-134.
- Masso-Silva JA, Diamond G. (2014). Antimicrobial peptides from fish. *Pharmaceuticals*. 7, pp. 265-310.
- Oseguera-Toledo ME, González de ME, Reynoso CR, Cardador MA, Amaya SL. (2014). Protein and bioactive peptides: Mechanism of action on diabetes management. *Nutrafoods* 13, pp. 147-157.
- Rajanbabu V, Chen J-Y. 2011. Applications of antimicrobial peptides from fish and perspectives for the future. *Peptides*. 32:2, 415-20.

- Tantu W, Reiny A. Tumbol, Sammy NJ. Longdong. 2013. Deteksi keberadaan bakteri *Aeromonas* sp. pada ikan nila yang dibudidayakan di karamba jaring apung danau Tondano. *J. Budidaya Perairan*. 1:3, 74-80.
- Zou J, Holland J, Pleguezuelos O, Cunningham C, Secombes CJ. (2000). Factors influencing the expression of Interleukin-1 $\beta$  in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leukocytes. *Developmental and Comparative Immunology*. 24, pp. 575–582.