

Bacterial Identification of Ornamental Betta Fish (*Betta splendens*)

Safika^{1*}, Nazmi Zahir B. Mohd Zaini², Usamah Afif¹, Agustin Indrawati¹, Rahmat Hidayat¹, Titiek Sunartatie¹

¹School of veterinary medicine and biomedical sciences, IPB University, Bogor, Indonesia

²Student of School of veterinary medicine and biomedical sciences, IPB University, Bogor, Indonesia

*Corresponding author: safika@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

Betta fish (Betta splendens) are one of the most popular ornamental fish due to their gorgeous colors and various shapes. This study aimed to find pathogenic bacteria in betta fish (Betta splendens) in fish farm in Bogor. Body swabs were collected from four decorative betta fish, and from tank water. Two of the fish were dead and two of which were exhibiting symptoms of disease. Bacterial isolation was performed on multiple agar media, and bacteria were identified based on the growth characteristics of the colonies, Gram staining, and biochemical testing. The results of the analysis revealed the presence of 16 bacterial isolates, including Edwardsiella sp., Escherichia coli, and Vibrio sp. from dead fish, whereas Citrobacter sp, Providencia sp, and Vibrio sp were detected in diseased fish. In aquarium water, Escherichia coli, Citrobacter sp Proteus sp and Providencia sp. were detected. Betta fish are susceptible to suffer from diseases if the water quality is low since maintaining and enhancing the health of betta fish is highly dependent on water quality.

Keywords: bacterial diseases; betta fish; *Betta splendens*; identification of bacteria

PENDAHULUAN

Betta splendens lebih dikenal sebagai ikan cupang hias merupakan salah satu ikan hias yang sangat populer (Purivirojkul, 2012; Tavares et al., 2016). Ikan ini merupakan spesies ikan air tawar yang umumnya ditemukan pada perairan dangkal di negara-negara Asia Tenggara, khususnya di Thailand, Malaysia dan Indonesia. Sejauh ini 55 spesies ikan cupang telah ditemukan di perairan rawa dan sungai dangkal Indochina (Schindler, 2006). Ikan cupang memiliki warna yang bervariasi dan indah serta bentuknya yang bervariasi (*Polymorphisme*), seperti ekor tipe lilin/selendang (slayer) dengan sirip panjang, ekor bertipe mahkota/serit (*crown tail*), ekor setengah bulan/lingkaran (*halfmoon*) dan ekor pendek (plakat). Bentuk fisik dan warna yang menarik sangat menentukan nilai estetika dan nilai komersial ikan cupang yang tinggi (Panijpan et al., 2020; Kwon et al., 2022).

Beberapa faktor yang mempengaruhi warna pada ikan diantaranya jenis kelamin, kematangan gonad, modifikasi genetik dan

faktor geografi. Pada umumnya warna cupang jantan lebih cerah dan memiliki sirip yang mekar, lebih lebar dan panjang serta indah dibandingkan ikan cupang betina yang kurang cerah dan memiliki sirip anal pendek. Akibatnya, ikan cupang jantan memiliki nilai komersial tinggi karena sangat disukai dan diburu oleh pecinta ikan hias (Sitanggang, 2008). Menurut Perkasa, (2001) banyak warna-warna klasik yang bisa dijumpai pada ikan cupang jantan seperti hijau, merah, biru, abu-abu, juga warna kombinasinya. Program penangkaran telah menghasilkan berbagai macam warna, termasuk putih, kuning, oranye, merah, merah muda, biru, hijau, biru kehijauan, coklat, dan hitam serta kombinasi mulai dari warna solid hingga yang memiliki warna sirip dan bodi berbeda dan warna bermotif. Jenis sirip juga dapat berubah karena pembiakan selektif (Prakhongcheep et al., 2020; Lichak et al., 2022).

Ikan cupang terkenal karena sifatnya yang agresif dan kebiasaan hidupnya berkelahi dengan sesama jenis, sehingga dinamakan *fighting fish*. Ikan jantan tidak dapat dipelihara bersama kecuali ada

pemisah. Ikan betina umumnya dapat dipelihara bersama dan satu jantan dapat ditambahkan. Ikan cupang memiliki alat pernafasan tambahan (*labyrinth*) sehingga mampu hidup dalam kondisi kekurangan oksigen terlarut di dalam air dan tanpa aerator serta di air yang keruh (Graham, 1997). Ikan cupang sesekali membuka mulutnya di atas permukaan air untuk mengambil dan menyimpan oksigen. Untuk itu ikan cupang harus memiliki akses ke permukaan air untuk menghirup udara langsung dari atmosfer sehingga mampu bertahan hidup lebih lama daripada ikan hias tawar pada umumnya (Perkasa, 2001).

Habitat ikan cupang berupa perairan dangkal berair jernih dan tenang, seperti daerah persawahan atau anak sungai dan akuarium yang memiliki temperatur 22 – 23 °C dengan kisaran pH 5 – 7,5 serta tingkat kandungan mineral terlarut dalam air atau kesadahan (*hardness*) berkisar 5 – 12 *degree of hardness* (dH) (Bœuf dan Payan, 2001). Pada umumnya ikan ini meletakkan telurnya dipermukaan air. Perkembangbiakan bersifat *bubblenester*, yaitu membuat sarang busa sebelum memijah dan telur-telur dimasukkan ke dalamnya dan *mouthbrooding* yaitu ikan jantan memasukkan telur yang telah dibuahi ke dalam mulutnya dan menyimpannya di sana sampai menetas (Ruber et al., 2004; Chailertit et al., 2014; Prakhongcheep et al., 2018; Saekhow et al., 2018).

Kualitas air yang baik sangat penting untuk menjaga dan meningkatkan kesehatan ikan cupang. Seperti banyak spesies ikan akuarium lainnya, ikan cupang rentan terhadap penyakit jika air berkualitas buruk. Amoniak, produk sampingan dari penguraian limbah ikan dan makanan yang tidak termakan, memiliki efek merugikan bagi kesehatan (Lichak et al., 2022). Terdapat banyak penyakit infeksi bakterial pada ikan hias, antara lain dropsi, *fin and tail rot*, *columnaris*, dan penyakit mata.

Bakteri-bakteri yang menyebabkan penyakit-penyakit ini merugikan peternak ikan karena tingkat morbiditas dan mortalitas yang diakibatkan cukup tinggi.

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan identifikasi bakteri yang menyebabkan penyakit pada ikan cupang (*B. splendens*), sehingga hasil yang ditemukan dapat dimanfaatkan sebagai referensi ilmiah penyebab penyakit bakterial yang ditemukan di salah satu peternakan ikan cupang Kota Bogor.

MATERIAL DAN METODE

Sampel diambil dari peternakan ikan cupang hias (Bettaclub, W16 Dramaga Cantik Residence Bogor Indonesia). Sampel diambil menggunakan *cotton swab* steril dari tubuh 4 ekor ikan cupang hias, dimana 2 ekor yang baru mati (IM1 dan IM2) dan 2 ekor yang menunjukkan gejala sakit (IS1 dan IS2). Sampel juga diambil dari masing-masing air aquarium penyimpanannya (A1, A2, A3, A4) seperti yang terlihat pada Tabel 1. Hasil swab sampel lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang mengandung NaCl fisiologis aseptis dan disimpan pada suhu 4 °C. Sampel selanjutnya di bawa ke Laboratorium Bakteriologi, Divisi Mikrobiologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University untuk dilakukan uji identifikasi.

Isolasi dan Identifikasi Mikroba

Isolasi bakteri dilakukan dengan cara teknik penggoresan ke media agar *Salmonella* dan *Shigella* (SS), Mac Conkey (MCA), dan Blood agar (BA) selanjutnya diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Koloni tunggal yang tumbuh dan terpisah kemudian disubkultur pada media agar miring *Tryptic Soy Agar* (TSA) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Identifikasi bakteri

dilakukan berdasarkan hasil sifat pertumbuhan koloni, kemudian dilakukan pewarnaan Gram, uji morfologi, dan uji biokimiawi. Setelah diidentifikasi jenis Gram, selanjutnya dilakukan pengujian biokimia yaitu uji oksidase, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji urease, uji IMVIC yang terdiri dari uji *Sulfide Indol Motility*

(SIM), uji *Methyl Red-Voges Proskauer*, uji *Simmon's Citrate*, selanjutnya uji fermentasi karbohidrat yang terdiri dari glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa, dulsitol, mannitol, dan arabinose. Hasil uji kemudian di cocokkan berdasarkan Cowan dan Steel (2004).

Tabel 1: Pengambilan sampel swab tubuh dan air dari peternakan ikan hias.

NO	Sumber	Kode
1	Ikan Mati 1	IM1
2	Ikan Mati 2	IM2
3	Ikan Sakit 1	IS1
4	Ikan Sakit 2	IS2
5	Air Aquarium Ikan Mati 1	A1
6	Air Aquarium Ikan Mati 1	A2
7	Air Aquarium Ikan Mati 2	A3
8	Air Aquarium Ikan Mati 2	A4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat bakteri yang didapat dari sampel ikan cupang hias yang mati dan sakit serta air akuarium penyimpanannya diperoleh 16 isolat. Setiap isolat diidentifikasi dengan menggunakan hasil pengujian dari uji morfologi, uji biokimia dan sifat biakan pada media SS, MCA dan Blood agar. Isolat-isolat ini diidentifikasi sebagai 6 bakteri yaitu, 4 isolat *Citrobacter* sp., 1 isolat *Edwardsiella* sp., 4 isolat *Escherichia coli*, 1 isolat *Proteus* sp., 4 isolat *Providencia* sp., dan 2 isolat *Vibrio* sp. seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Pada isolat ikan mati 2 dan air akuarium 2 bakteri yang ditemukan berbeda, namun pada sampel ikan mati 1 dan air akuarium 1 ditemukan bakteri yang sama yaitu *Escherichia coli*. Hasil swab sampel ikan mati 1 ditemukan isolat bakteri *Edwardsiella* sp., dan *Escherichia coli*, sedangkan pada air akuarium 1 ditemukan isolat bakteri *Providencia* sp. dan

Escherichia coli. Hasil swab sampel ikan mati 2 ditemukan bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio* sp, namun pada air akuarium 2 ditemukan isolat bakteri *Proteus* dan *Providencia* sp.

Pada sampel ini terdapat 2 ekor ikan cupang hias yang menunjukkan gejala sakit antara lain gerakan melambat, sering berada di permukaan air, sirip robek dan warna ikan memudar. Setelah dilakukan identifikasi bakteri pada 2 ekor ikan yang sakit ditemukan isolat bakteri *Citrobacter* sp (pada IS1 dan IS2) *Providencia* sp. (IS1), dan *Vibrio* sp. (IS2). Pada air akuarium ikan yang sakit ditemukan *Citrobacter* sp (pada A3 dan A4), *Escherichia coli* (A3) dan *Providencia* sp (A3). Ikan yang sakit kemungkinan disebabkan adanya bakteri di lingkungan air yaitu *Citrobacter* sp yang ditemukan pada ikan yang sakit dan air penyimpanannya.

Isolat 1.1 teridentifikasi sebagai bakteri *Edwardsiella* sp. Hasil pewarnaan Gram mendapatkan hasil Gram negatif dan

berbentuk batang. Hasil dari uji biokimiawi yang dijalankan mendapatkan isolat ini bersifat, katalase(+), oksidase(-), indol(+), Mr/VP(+/-), sitrat(-), urea(-) dan motil pada uji motilitas. Bakteri ini juga dapat menghasilkan gas pada uji TSIA dan mempunyai sifat memfermentasikan laktosa yang perlahan. Ini menjelaskan kenapa isolat 1.1 belum memfermentasikan laktosa saat diamati. Pada uji gula-gula bakteri ini dapat memfermentasikan glukosa dengan baik (Cowan dan Steel 2004). Bakteri ini diisolasi dari hasil swab tubuh ikan mati (IM1) yang menunjukkan simptom gripis yang parah pada sirip dan ekor. Menurut Buján et al. (2018) *Edwardsiella* sp.

merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit pada ikan karantina. *E. piscicida* salah satu spesies yang sangat patogen pada *zebra fish*. Tanda-tanda klinis infeksi *E. Piscicida* yaitu perubahan warna pada bagian kulit dengan hilangnya pigmentasi, perdarahan eksternal dan septikemia umum pada otot ventral (Shetty, et al., 2014). *E.ictaluri* diidentifikasi sebagai penyebab penyakit pada ikan *Eigenmannia virescens*, *Puntius conchonus*, dan *zebra fish*. Edwardsiellosis yang disebabkan oleh *E. Tarda* merupakan penyakit dengan banyak gejala, seperti hilangnya pigmentasi, exophthalmia, dan gerakan spiral (Park, et al., 2014).

Tabel 2: Hasil isolasi dan identifikasi sampel hasil swab ikan dan air.

Isolat	Sumber	Kode	Spesies Bakteri
1.1	Ikan Mati 1	IM1	<i>Edwardsiella</i> sp.
1.2	Ikan Mati 1	IM1	<i>Escherichia</i> sp.
2.1	Air Aquarium Ikan Mati 1	A1	<i>Providencia</i> sp.
2..2	Air Aquarium Ikan Mati 1	A1	<i>Escherichia coli</i>
3.1	Ikan Mati 2	IM2	<i>Escherichia coli</i>
3.2	Ikan Mati 2	IM2	<i>Vibrio</i> sp.
4.1	Air Aquarium Ikan Mati 2	A2	<i>Proteus</i> sp.
4.2	Air Aquarium Ikan Mati 2	A2	<i>Providencia</i> sp.
5.1	Ikan Sakit 1	IS1	<i>Providencia</i> sp.
5.2	Ikan Sakit 1	IS1	<i>Citrobacter</i> sp.
6.1	Air Aquarium Ikan Sakit 1	A3	<i>Citrobacter</i> sp.
6.2	Air Aquarium Ikan Sakit 1	A3	<i>Escherichia coli</i>
7.1	Ikan Sakit 2	IS2	<i>Vibrio</i> sp.
7.2	Ikan Sakit 2	IS2	<i>Citrobacter</i> sp.
8.1	Air Aquarium Ikan Sakit 2	A4	<i>Providencia</i> sp.
8.2	Air Aquarium Ikan Sakit 2	A4	<i>Citrobacter</i> sp.

Isolat yang teridentifikasi sebagai bakteri *Escherichia coli* ditemukan pada isolat 1.2, 2.2, 3.1, dan 6.2. Hasil dari pewarnaan Gram mendapatkan hasil Gram negatif dan berbentuk batang. Hasil dari uji biokimiawi yang dijalankan mendapatkan isolat-isolat ini bersifat, katalase(+), oksidase(-), indol(+), Mr/VP(+/-), sitrat(-), urea(-) dan motil pada uji motilitas. Isolat-isolat ini tidak memproduksi H₂S pada uji TSIA. Selain itu bakteri ini mempunyai sifat memfermentasikan laktosa pada media MCA dan dapat menghasilkan warna hijau metalik pada media Eosin Methylene Blue (EMB) akibat sifat metachromic pewarna MB terhadap *E. Coli* (Cowan dan Steel, 2004). Isolat-isolat ini di ambil dari tubuh ikan mati 1 (1.2), ikan mati 2 (3.1), air aquarium ikan mati 2 (2.2) dan air aquarium ikan sakit 1 (6.2). Menurut Chaplen, et al (2002) bakteri *E. coli* sering ditemukan di air akuarium ikan cupang sebagai bakteri kontaminan.

Pada isolat 2.1, 4.2, 5.1 dan 8.1 hasil dari uji identifikasi ditemukan bakteri *Providencia* sp. Hasil pada uji pewarnaan Gram mendapatkan hasil Gram negatif dan berbentuk batang. Hasil dari uji biokimiawi yang dijalankan mendapatkan isolat-isolat ini bersifat katalase(+), oksidase(-), indol(+), Mr/VP(+/-), sitrat(+), urea(-) dan motil pada uji motilitas. Pada uji gula-gula hasil yang di dapatkan beragam, ini adalah karena sifat dari bakteri ini seharusnya dapat memfermentasikan gula-gula akan tetapi produksi gas dapat beragam. Isolat-isolat ini adalah hasil sampel dari air aquarium ikan mati 1 (2.1) dan 2 (4.2), tubuh ikan sakit 1 (5.1) dan air aquarium ikan sakit 2 (8.1). Menurut Gonzales (2000) bakteri ini sangat mudah ditemukan pada tubuh ikan dan di dalam air. *Providencia rettgeri* dapat menghasilkan tetrodotoxin (TTX) yang diisolasi dari hati dan usus ikan buntal (Tu, et al., 2014).

Pada isolat 5.2, 6.1, 7.2 dan 8.3 teridentifikasi bakteri *Citrobacter* sp. Hasil dari pewarnaan Gram menghasilkan warna merah muda dan berbentuk batang apabila diamati dibawah mikroskop. Uji biokimiawi menunjukkan isolat ini bersifat katalase(+), oksidase(-), indol(+), Mr/VP(+/-), sitrat(+), urea(-) dan motil dalam uji motilitas. Isolat-isolat ini juga bersifat positif(+) memfermentasi laktosa apabila ditumbuhkan di media MCA (Cowan dan Steel 2004). Uji gula-gula mendapatkan hasil yang beragam. *Citrobacter* sp. seharusnya mempunyai sifat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan gas pada isolat 5.2 dan 7.2, akan tetapi pada isolat 6.1 dan 8.3 laktosa tidak terfermentasi. Hal ini dapat diakibatkan oleh sifat *Citrobacter* sp. yang perlahan memfermentasikan laktosa (Al-mohanna 2006). Bakteri ini sangat mudah ditemukan pada tanah dan air. *Citrobacter* sp. dapat menyebabkan penyakit gripis pada sirip dan ekor (Walczak et al., 2017; Handayani, 2005). *Citrobacter* dapat menyebabkan infeksi pada ikan hias yaitu *C. freundii* dan *C. Braakii* yang menyebabkan kekurusan dan abses pada ikan. Selain itu *Citrobacter* merupakan bakteri potensial zoonosis (Walczak et al., 2017).

Bakteri yang teridentifikasi selanjutnya adalah *Proteus* sp. dari isolat 4.1. Hasil pada uji pewarnaan Gram mendapatkan hasil Gram negatif dan berbentuk batang. Hasil dari uji biokimiawi yang dijalankan mendapatkan isolat ini bersifat katalase(+), oksidase(-), indol(+), Mr/VP(+/-), sitrat(+), urea(-) dan motil pada uji motilitas. Pada media TSIA ditemukan warna hitam yang menunjukkan ada nya H₂S. Pada uji gula-gula bakteri ini dapat memfermentasikan sukrosa, laktosa, maltosa, glukosa dan manitol dengan produksi gas bagi semua gula. Hasil dari sifat biakan isolat ini pada media TSA memperlihatkan sifat yang spesifik yaitu

koloni dari bakteri ini mempunyai pola pertumbuhan yang khas yang disebut *swarming*. Menurut Hatmanti (2003) bakteri ini merupakan bakteri yang patogen pada ikan dan udang.

Bakteri yang teridentifikasi seterusnya adalah *Vibrio* sp. dari isolat 3.2 dan 7.1. Hasil uji pewarnaan Gram mendapatkan hasil Gram negatif dan berbentuk batang. Hasil dari uji biokimiawi menunjukkan hasil katalase(+), oksidase(-), indol(+), Mr/VP(+/-), sitrat(+), urea(-) dan motil pada uji motilitas. Bakteri dari spesies *Vibrio* sp. seringkali bersifat negatif(-) memfermentasi lakosa. Hasil dari penelitian ini mendapatkan hasil positif, ini dapat disebabkan oleh subspecies bakteri *Vibrio* sp. ini yang berkemungkinan adalah dari *V. vulnificus*. Bakteri ini sangat mudah di temukan di perairan yang bersifat payau (Guentzel 1996). Bakteri ini hidup di kisaran pH 6.4–9.6 dengan pH optimum 7.8–8.0. Sesuai parameter air aquarium penyimpanan ikan ini. *Vibrio* sp. merupakan jenis bakteri yang hidupnya saprofit di air, air laut, dan tanah namun dapat juga hidup pada salinitas yang relatif tinggi. *Vibrio* dapat menyebabkan vibriosis pada ikan hias. Ikan mengalami ulserasi kulit dan pendarahan karena pencairan organ dalamnya yang dapat terlihat sebagai kemerahan dan ulserasi pada kulit, wajah, sirip, dan ekor. Hasilnya kemerahan di seluruh tubuh, sirip, ekor, mata, dan mulut. (Frans, et al., 2011).

Kualitas air yang baik sangat penting untuk menjaga dan meningkatkan kesehatan ikan cupang. Ikan cupang rentan terhadap penyakit jika air berkualitas buruk. Amoniak, produk sampingan dari penguraian limbah ikan dan makanan yang tidak termakan, memiliki efek merugikan bagi kesehatan (Lichak et al 2022). Ikan cupang memiliki lapisan lendir (mucoprotein *coating*) yang disebut '*slime coat*' merupakan pertahanan utama ikan terhadap infeksi dan penyakit. Lapisan

lendir Ini bertindak sebagai sistem pertahanan terhadap mikroba penyebab penyakit di lingkungan luar ikan. Jika air tempat ikan hidup mengandung racun atau bahan kimia dapat mempengaruhi lapisan *slime*, menyebabkan keropos dan pembusukan, yang kemudian membuat ikan rentan terhadap infeksi bakteri. Meskipun akuarium tampak bersih, jika ikan tidak sehat, bakteri tertentu akan mulai menginfeksi ikan. Ini kemudian dapat mempengaruhi sisik dan kulit ikan. Untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri sebaiknya dilakukan penggantian air 80%, pH air dijaga antara 5 – 7,5 serta tingkat kesadahan (*hardness*) berkisar 5 – 12 dH. Kotoran apa pun harus dibuang, seperti makanan dan kotoran yang tidak dimakan dari air akuarium. Selain itu ikan yang terinfeksi harus diisolasi dalam akuarium yang terpisah.

KESIMPULAN

Dari hasil identifikasi bakteri pada ikan cupang hias (*Betta splendens*) yang mati dan sakit, serta air akuarium ditemukan bakteri *Citrobacter* sp., *Edwardsiella* sp., *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Providencia* sp., dan *Vibrio* sp. Ikan cupang rentan terhadap penyakit jika kualitas air buruk, karena kualitas air yang baik sangat penting untuk menjaga dan meningkatkan kesehatan ikan cupang.

DAFTAR PUSTAKA

- Boeuf, G., dan Payan, P. (2001). How should salinity influence fish growth?. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology* : CBP, 130(4), 411–423. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(01\)00268-x](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(01)00268-x).
- Buján, N., Toranzo, A. E., & Magariños, B. (2018). *Edwardsiella piscicida*: a significant bacterial pathogen of cultured fish. *Diseases of aquatic organisms*, 131(1), 59–71. <https://doi.org/10.3354/dao03281>.
- Chailertit, V., Swatdipong, A., Peyachoknagul, S., Salaenoi, J., & Srikulnath, K. (2014). Isolation

- and characterization of novel microsatellite markers from Siamese fighting fish (*Betta splendens*, Osphronemidae, Anabantoidei) and their transferability to related species, *B. smaragdina* and *B. imbellis*. *Genetics and molecular research : GMR*, 13(3), 7157–7162. <https://doi.org/10.4238/2014>.
- Chaplen, F. W., Upson, R. H., Mcfadden, P. N., & Kolodziej, W. (2002). Fish chromatophores as cytosensors in a microscale device: detection of environmental toxins and bacterial pathogens. *Pigment cell research*, 15(1), 19–26. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2002.00069.x>
- Cowan and Steel's. (2004). *Manual for the identification of medical bacteria*. Publisher: Cambridge University Press, Cambridge.
- Frans, I., Michiels, C. W., Bossier, P., Willems, K. A., Lievens, B., & Rediers, H. (2011). *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. *Journal of fish diseases*, 34(9), 643–661. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01279.x>.
- Graham JB. (1997). *Air-breathing fishes: Evolution, diversity, and adaptation*. San Diego (CA): Academic Press.
- Handayani, H., Samsudari, S. (2005). *Parasit dan Penyakit Ikan*: 26-27. Malang (ID): UMM Press.
- Hatmanti A. (2003). Penyakit Bakterial Pada Budidaya Krustasea Serta Cara Penanganannya. *Oseana, Volume XXVIII*, Nomor 3, 2003 : 1-10. Jakarta (ID): Pusat Penelitian Oseanografi – LIPI, Jakarta.
- Kwon, Y. M., Vranken, N., Hoge, C., Lichak, M. R., Norovich, A. L., Francis, K. X., Camacho-Garcia, J., Bista, I., Wood, J., McCarthy, S., Chow, W., Tan, H. H., Howe, K., Bandara, S., von Lintig, J., Rüber, L., Durbin, R., Svoldal, H., & Bendesky, A. (2022). Genomic consequences of domestication of the Siamese fighting fish. *Science advances*, 8(10), eabm4950. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abm4950>.
- Lichak, M. R., Barber, J. R., Kwon, Y. M., Francis, K. X., & Bendesky, A. (2022). Care and Use of Siamese Fighting Fish (*Betta Splendens*) for Research. *Comparative medicine*, 72(3), 169–180. <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-22-000051>.
- Panijpan, B., Sriwattanarothai, N., Laosinchai, P. (2020). Wild betta fighting fish species in Thailand and other Southeast Asian countries. *Sci Asia* 46:382–391. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2020.064>.
- Purivirojkul W. (2012). Potential application of extracts from Indian almond (*Terminalia catappa* Linn.) leaves in Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan) culture. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 77(4), 439–448.
- Park, S. B., Aoki, T., & Jung, T. S. (2012). Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary research*, 43(1), 67. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-67>.
- Prakhongcheep, O., Muangmai, N., Peyachoknagul, S., & Srikulnath, K. (2017). Complete mitochondrial genome of mouthbrooding fighting fish (*Betta pi*) compared with bubble nesting fighting fish (*B. splendens*). *Mitochondrial DNA. Part B, Resources*, 3(1), 6–8. <https://doi.org/10.1080/23802359.2017.1413294>.
- Saekhow, S., Thongprajukaew, K., Phromkunthong, W., & Sae-Khoo, H. (2018). Minimal water volume for intensively producing male Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910). *Fish physiology and biochemistry*, 44(4), 1075–1085. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0495-z>.
- Schindler, J., Schmidt, J. (2006). Review of the mouthbrooding *Betta* (*Teleostei*, *Osphronemidae*) from Thailand, with descriptions of two new species. Solingen (DE): *Bibliothek Natur & Wissenschaft*.
- Shetty, M., Maiti, B., Venugopal, M. N., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2014). First isolation and characterization of *Edwardsiella tarda* from diseased striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage). *Journal of fish diseases*, 37(3), 265–271. <https://doi.org/10.1111/jfd.12039>.
- Sitanggang, M. 2008. *Panduan Lengkap Budidaya dan Perawatan Cupang Hias*. Jakarta. Hal 164.
- Tavares, L. H., Appoloni, A. M., Fernandes, J. B., & Millan, R. N. (2016). Feed of Siamese fighting fish, *Betta splendens*, (Regan, 1910) in open pond: live and formulated diets. *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia*, 76(2), 292–299. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.11514>.
- Tu, N., Tu, Q., Tung, H., Hieu, D., & Romero-Jovel, S. (2014). Detection of tetrodotoxin-producing *Providencia rettgeri* T892 in *Lagocephalus pufferfish*. *World journal of microbiology & biotechnology*, 30(6), 1829–1835. <https://doi.org/10.1007/s11274-014-1601-8>.
- Walczak, N., Puk, K., & Guz, L. (2017). Bacterial Flora Associated with Diseased Freshwater Ornamental Fish. *Journal of veterinary research*, 61(4), 445–449. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0070>.