

POTENSI KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L) YANG DICAMPUR DALAM PAKAN UNTUK MENINGKATKAN KETAHANAN TUBUH DAN KELULUSHIDUPAN IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) TERHADAP PENYAKIT *Motile Aeromonas Septicemia*

Iesje Lukistyowati¹⁾ dan Mario Syatma²⁾

Diterima : 25 September 2015 Disetujui: 28 Desember 2015

ABSTRACT

This research was conducted on 12th May until 23rd July 2015 held at Parasite and Fish Disease Laboratory. The aims of this research was to determine the potency of mangosteen pericarp (*G. mangostana* L.) in feed to increase immunity of African catfish (*C. gariepinus*) on *Motile Aeromonas Septicemia* disease seen from the hematology parameters. The treatments were addition of mangosteen pericarp in feed with different concentration i.e : Kn (without mangosteen pericarp), Kp (without mangosteen pericarp and injected using *A. hydrophila*), P₁ (addition mangosteen pericarp 2 g/kg of feed and injected using *A. hydrophila*), P₂ (addition mangosteen pericarp 4 g/kg of feed and injected using *A. hydrophila*) and P₃ (addition mangosteen pericarp 6 g/kg of feed and injected using *A. hydrophila*). Fish were maintained for 60 days. After 60 days treatment the fish were intramuscularly infected with *A. hydrophila* with density of 10⁷cell/ml in a dose of 0,1 ml/fish. The best results showed that addition mangosteen pericarp in P₃ treatment after challenged with *A. hydrophila* significantly different on haematocrit levels (22,94%), total leukocytes (104,83×10³ cells/mm³), phagocytic activity (64,80%), and survival rate (100%). Total eritrocytes were not different significantly between treatment with 2,04×10⁶ cells/mm³.

Keywords : *mangosteen pericarp, Garcinia mangostana L., immunity, African catfish, Motile A. Septicemia*

PENDAHULUAN

Budidaya ikan lele secara intensif dengan kepadatan yang tinggi dan pemberian pakan secara optimal sangat diperlukan untuk mendapatkan hasil yang optimal. Namun seringkali sistem ini tidak memberikan hasil yang memuaskan, bahkan berdampak negatif akibat masalah lingkungan dan terjadinya penyebaran penyakit. Dua faktor

yang jelas berkaitan satu sama lain yaitu toksiknya dasar kolam dapat disebabkan oleh akumulasi sedimen dari pemberian pakan yang berlebihan dan ekskresi ikan, hal ini dapat menjadi penyebab sumber patogen seperti bakteri dan protozoa. Kehadiran organisme yang tidak diharapkan ini yang menyebabkan ikan menjadi stres dan dapat menyebabkan kondisi kesehatannya menurun, aktivitasnya melemah dan dapat menyebabkan kematian (Pickering, 1981).

Penanggulangan penyakit ikan pada akuakultur telah sering

¹⁾ Staf Pengajar di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

²⁾ Alumni Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

dilakukan dengan menggunakan berbagai antibiotik, tindakan ini sangat merugikan. Pada umumnya pembudidaya sering melakukan pemberian berbagai macam antibiotik seperti *ampicillin*, *chloramphenicol*, *tetracycline* dan desinfektan pada ikan. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dan bila penggunaannya tidak tepat dapat menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten, terjadi penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan dan lingkungan perairan yang akhirnya berbahaya bagi konsumen yang mengkonsumsinya.

Untuk mengatasi permasalahan tersebut, perlu dicari alternatif lain sebagai pengganti antibiotik dengan menggunakan bahan alami yang berasal dari tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai bahan antibiotik alami (*herbal medicine*). Salah satu jenis fitofarmaka yang belum pernah dimanfaatkan dalam kegiatan budidaya perikanan khususnya dalam mengatasi penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri adalah kulit buah manggis. Kebanyakan masyarakat hanya memakan isi buah manggisnya, sedangkan kulitnya sering dibuang. Kulit buah manggis mengandung senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai antibakteri.

Skrining fitokimia yang telah dilakukan oleh Poeloengan dan Praptiwi (2010) terhadap kulit buah manggis menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, dan triterpenoid. Senyawa tersebut telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, dengan konsentrasi 50% dapat menghasilkan zona hambat sebesar 11 mm.

Pradipta *et al.*, (2007), menyatakan kulit buah manggis

ternyata memiliki kandungan senyawa aktif yang termasuk golongan xanthone. Senyawa xanthone yang telah teridentifikasi diantaranya adalah 1,3,6-trihidroksi-7-metoksi-2,8-bis (3-metil-2-butenil) - 9H-xanten-9-on dan 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-bis (3-metil-2-butenil) -9Hxanten-9-on. Keduanya lebih dikenal dengan nama alfa-mangostin dan gamma-mangostin yang memiliki sifat antibakteri. Serta senyawa golongan alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid dan triterpenoid diketahui mempunyai sifat antibakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010).

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung senyawa utama yaitu golongan xanthone. Senyawa xanthone ini telah teridentifikasi, diantaranya adalah alfa mangostin dan gamma-mangostin (Mardiana, 2012). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa xanthone pada kulit buah manggis memiliki beberapa khasiat dan manfaatnya bagi kesehatan, antara lain sebagai antiinflamasi, antialergi, antibakteri, antijamur, antivirus, antidiabetes, antikanker dan antioksidan (Anastasia, 2010). Dengan demikian diharapkan fitokimia yang terkandung dalam kulit buah manggis dapat juga digunakan untuk menekan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada ikan yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilakukan pada tanggal 12 Mei-23 Juli 2015 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Metode penelitian yang digunakan adalah

metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 5 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu memberi pakan yang mengandung tepung kulit manggis yang dicampur dalam pakan buatan yang diramu sendiri dalam bentuk pellet dengan kadar protein 35%. Adapun perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Kn (kontrol negatif tanpa pemberian tepung kulit manggis);
- Kp (kontrol positif tanpa pemberian tepung kulit buah manggis kemudian diinfeksi dengan *A. hydrophila*);
- P₁ (pemberian tepung kulit buah manggis 2 g/kg pakan, kemudian diinfeksi dengan *A. hydrophila*);
- P₂ (pemberian tepung kulit buah manggis 4 g/kg pakan, kemudian diinfeksi dengan *A. hydrophila*);
- P₃ (pemberian tepung kulit buah manggis 6 g/kg pakan, kemudian diinfeksi dengan *A. hydrophila*)

Parameter yang diamati adalah : ketahanan tubuh ikan lele dilihat dari gambaran fisiologis darah meliputi : total eritrosit, hematokrit, total leukosit, aktivitas fagositosis, kelulushidupan serta parameter penunjang yaitu kualitas air.

Bahan dan Materi Penelitian

Sampel bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan isolat murni yang diperoleh dari Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Pekanbaru dengan kode isolat ATCC 35654. Ikan sampel yang digunakan berasal dari usaha pembesaran “De Jabon Farm”

Pekanbaru dengan ukuran 8-12 cm sebanyak 150 ekor dan manggis yang digunakan berasal dari Desa Mudiak Liki Kecamatan Suliki, Kabupaten Limapuluh Kota, Payakumbuh, Provinsi Sumatera Barat.

Media tumbuh bakteri yang digunakan antara lain TSA (*Tryptic Soy Agar*), TSB (*Tryptic Soy Broth*), GSP (*Pseudomonas Aeromonas Selektif Agar*), PBS (*Phosphate Buffer Saline*), Aquabides, alkohol, ethanol 70 %, untuk membius ikan digunakan minyak cengkeh dan zat untuk pemeriksaan darah diperlukan EDTA, larutan *Turk*, lilin virtex, dan pewarna Giemsha.

Alat

Alat yang digunakan yaitu meliputi akuarium ukuran 30×40×30 cm, mikroskop, haemocitometer, jarum suntik terumo 1 ml, tabung hematocrit, eppendorf, objek glas, hot plate, cawan petri, mikro pipet, mikrotiter plate, timbangan analitik, inkubator, autoclave, lampu bunsen, jarum ose, vortex, centrifuge dan seperangkat alat untuk mengukur kualitas air (pH-meter, DO-meter dan spektrofotometer).

Prosedur Penelitian

Penyediaan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dipakai dalam penelitian ini adalah isolat murni yang diperoleh dari Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Pekanbaru dengan kode isolat ATCC 35654. Koloni bakteri yang tumbuh pada media selektif GSP berwarna kuning dengan diameter yang seragam selanjutnya dilakukan uji dasar maupun uji biokimia secara konvensional. Kemudian bakteri *A. hydrophila* tersebut disimpan dalam

agar miring dan siap untuk digunakan. Bila akan digunakan untuk ujiantang, bakteri tersebut dikultur terlebih dahulu pada media TSB agar mudah untuk penggunaannya berdasarkan kepadatan bakteri yang kita inginkan berdasarkan LD₅₀ (patogenitas dari

bakteri yang akan kita gunakan terhadap ikan) dengan menggunakan metode pengenceran (Lukistyowati, 2005).

Formulasi Pakan yang Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis untuk Ikan Lele

Tabel 1. Formulasi Pakan dan Dosis Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang diberikan pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) dengan Kandungan Protein 35%

Bahan	Protein Bahan (%)	Perlakuan (g/kg Pakan)				
		Kp/Kn	P ₁	P ₂	P ₃	
Tepung Ikan	41	400	400	400	400	
Tepung Terigu	7	140	140	140	140	
Tepung Kedelai	46	400	400	400	400	
Vitamin	2	20	20	20	20	
Mineral	2	20	20	20	20	
Minyak Ikan	2	20	20	20	20	
Tepung kulit Manggis	-	0	2	4	6	
Jumlah	100	1000	1002	1004	1006	

Keterangan : Kp = Kontrol positif ; Kn = Kontrol negatif; P₁ (2g tepung kulit manggis)/kg pakan; P₂ (4 g tepung kulit manggis)/kg pakan; P₃ (6 g kulit manggis)/kg pakan

Komposisi masing-masing bahan ditentukan sesuai dengan kebutuhan protein yang diharapkan yaitu sebesar 35%. Proporsi tepung kulit buah manggis ditentukan sesuai kebutuhan masing-masing perlakuan, sedangkan bahan-bahan lain seperti tepung ikan, tepung kedelai, tepung terigu, vitamin mix, mineral mix, serta minyak ikan disesuaikan jumlahnya berdasarkan hasil perhitungan. Bahan-bahan yang digunakan ditimbang sesuai kebutuhan. Komposisi dari pakan uji yang akan diaplikasikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Pencampuran bahan dilakukan secara bertahap, mulai dari jumlah yang paling sedikit hingga yang paling banyak agar campuran menjadi homogen. Pellet dicetak pada penggilingan, kemudian

dilakukan pengeringan dengan penjemuran.

Pemeliharaan Ikan

Ikan sebelum digunakan diaklimatisasi dengan cara diambil secara acak kemudian diukur dan ditimbang berat tubuhnya terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke wadah akuarium yang telah disiapkan, adaptasi ikan berlangsung selama 3 hari dan diberi pellet buatan (pellet ikan kontrol). Setelah hari ke empat ikan mulai diberi perlakuan dengan memberikan pakan sesuai dengan dosis yang telah ditetapkan. Pemberian pakan berlangsung selama 2 bulan dan diberikan secara *at satiation* pada pagi, siang dan sore hari. Parameter yang diamati yaitu :

Perhitungan Total Eritrosit

Total eritrosit dihitung menurut Blaxhall dan Daisley (1973) yakni : sampel darah ikan dihisap dengan pipet sampai skala 0,5 yang dilanjutkan dengan menghisap larutan Hayem sampai skala 101 kemudian homogenkan dengan menggoyang-goyangkan pipet membentuk angka 8 agar tercampur merata. Tetesan pertama dibuang dan tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam hemositometer dan tutup dengan kaca penutup. Perhitungan dilakukan di bawah mikroskop pada 5 kotak kecil hemositometer. Dengan kenormalan jumlah eritrosit dalam tubuh ikan berarti ikan berada dalam kondisi *survive* tanpa terganggu oleh aktivitas bakteri patogen.

Perhitungan Hematokrit

Ikan sebelum diambil darahnya dibius terlebih dahulu dengan menggunakan minyak cengkeh 0,5 ml/l air, setelah ikan tenang diambil darahnya dengan menggunakan jarum suntik pada vena caudalis sebanyak 0,3 ml. Darah ikan ditampung dalam eppendorf, kemudian dimasukkan ke dalam kapiler hematokrit, ditutup dengan vitrex (penutup lilin). Kapiler hematokrit yang berisi darah kemudian sentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Nilai hematokrit dihitung dengan cara menghitung persentase volume padatan sel eritrosit yang mengendap terhadap volume darah dengan rumus menurut Anderson dan Siwicki (1994).

Pemeriksaan Total Leukosit

Total leukosit dihitung menurut Blaxhall dan Daisley (1973) yakni : dengan sampel darah ikan dihisap dengan pipet leukosit sampai skala 0,5 dan dilanjutkan dengan

menghisap larutan Turk sampai skala 11, kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkan pipet tersebut membentuk angka 8 agar tercampur merata. Tetesan pertama dibuang, kemudian tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam hemositometer dan ditutup dengan kaca penutup. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada 4 kotak besar hemositometer.

Aktivitas Fagositosis

Pengukuran aktivitas fagositosis dilakukan dengan metode preparat ulas menurut Anderson dan Siwicki (1994), yaitu dengan memasukkan sampel darah ikan ke dalam mikrotiter plate sebanyak 50 μ l kemudian ditambah suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan 10^7 sel/ml dalam *Phosphate Buffer Saline* sebanyak 50 μ l, kemudian dimasukkan ke dalam mikrotiter plate yang telah berisi sampel darah ikan, dihomogenkan dengan mikro pipet dan kemudian diinkubasi selama 20 menit. Hasil inkubasi diambil sebanyak 5 μ l dan dibuat preparat ulas pada objek glas, setelah itu diwarnai dengan pewarna Giemsha. Aktivitas fagositosis dihitung berdasarkan persentase leukosit yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 jumlah sel yang dihitung.

Setelah darah ikan diambil ikan diistirahatkan selama 3 hari, kemudian ikan diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Kelangsungan hidup ikan setelah diinfeksi diamati selama 14 hari, dan pada hari ke 7 darah ikan diambil untuk diperiksa kembali dengan metoda yang sama yang bertujuan untuk mengetahui ketahanan tubuh ikan terhadap infeksi bakteri.

Kelangsungan Hidup

Kelangsungan hidup ikan lele yang diberi pakan mengandung kulit manggis selama 2 bulan dan setelah diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml dengan dosis 0,1 ml/ekor yang diberikan secara intramuscular dihitung menurut Effendi (1979).

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian adalah suhu, pH, amoniak (NH_3) dan oksigen terlarut (DO). Pengukurannya dilakukan sebanyak 2 kali yaitu pada awal dan akhir penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Eritrosit Ikan Lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perhitungan total eritrosit ikan lele dumbo setelah diberi perlakuan pakan mengandung kulit buah manggis yang diberikan selama 2 bulan kemudian diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml secara intramuscular dengan dosis 0,1 ml/ekor tidak menunjukkan perubahan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol. Setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* jumlah rata-rata eritrosit ikan kontrol maupun ikan perlakuan mengalami penurunan. Jumlah rata-rata eritrosit ikan lele dumbo yang diberi perlakuan pakan yang mengandung tepung kulit buah manggis setelah pemeliharaan selama 60 hari bila dibandingkan dengan kontrol tidak

terjadi peningkatan yang berarti dimana total eritrosit ikan lele dumbo selama penelitian berkisar antara $2,13 \times 10^6$ – $2,45 \times 10^6$ sel/mm³. Hal ini sesuai dengan pendapat Lukistyowati *et al.*, (2007) yang menyatakan bahwa jumlah eritrosit ikan normal berkisar antara $1 - 3 \times 10^6$ sel/mm³, sedangkan menurut Chinnabut *et al.*, (1991) menyatakan bahwa jumlah eritrosit normal pada ikan lele adalah sebesar $3,18 \times 10^6$ sel/mm³. Jumlah eritrosit pada ikan teleostei menurut Lagler (1977) berkisar antara $0,02 - 3 \times 10^6$ sel/mm³. Jumlah eritrosit pada ikan dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, suhu, lingkungan dan nutrisi (Salasia *et al.*, 2001). Untuk lebih jelasnya jumlah rata-rata eritrosit pada ikan lele dumbo setelah pemeliharaan 60 hari, kemudian diinfeksi dengan *A. hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 2.

Setelah dilakukan uji (ANAVA) menunjukkan bahwa jumlah eritrosit ikan lele dumbo yang diberi perlakuan tidak berbeda nyata dengan kontrol ($P > 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan mengandung tepung kulit buah manggis tidak mempengaruhi jumlah eritrosit ikan lele dumbo, pakan yang mengandung kulit manggis aman diberikan pada ikan.

Jumlah rata-rata eritrosit ikan lele dumbo setelah diinfeksi *A. hydrophila* juga tidak berbeda nyata dengan kontrol dan terjadi penurunan. Jumlah eritrosit kontrol dan perlakuan berkisar antara $1,76 \times 10^6$ – $2,04 \times 10^6$ sel/mm³. Setelah dilakukan uji (ANAVA) tidak menunjukkan berbeda nyata ($P > 0,05$), ini menunjukkan bahwa ikan yang diberi perlakuan pakan mengandung tepung kulit buah manggis secara umum kondisinya

menurun dilihat dari jumlah eritrositnya. Akan tetapi kondisi tersebut masih dapat ditolerir oleh ikan.

Kandungan tannin pada kulit buah manggis memiliki aktivitas antibakteri, dimana tannin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan pengikatan ion metal terutama ikatan yang kuat dengan Fe

(besi) dan kemudian membentuk *chelate*. *Chelate* bersifat toksik terhadap membran mikroorganisme dengan jalan mendenaturasi protein dan menghilangkan fungsinya sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri terganggu (Marisi *et al.*, 2001).

Tabel 2. Rata-rata Total Eritrosit Ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Perlakuan Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Setelah diinfeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Rata-rata Total Eritrosit pada Ikan Lele Dumbo ($\times 10^6$ sel/mm ³)	
	Setelah Pemeliharaan Selama 60 Hari	Setelah Infeksi
Kn	2,14 $\pm$ 0,22 ^a	2,14 $\pm$ 0,16 ^a
Kp	2,13 $\pm$ 0,15 ^a	1,76 $\pm$ 0,13 ^a
P ₁	2,39 $\pm$ 0,26 ^a	1,90 $\pm$ 0,24 ^a
P ₂	2,41 $\pm$ 0,06 ^a	1,99 $\pm$ 0,10 ^a
P ₃	2,45 $\pm$ 0,15 ^a	2,04 $\pm$ 0,18 ^a

Keterangan : Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P<0,05)

. Disamping itu adanya kandungan zat besi dan vitamin C pada kulit buah manggis mampu menggantikan eritrosit pasca penginfeksi *A. hydrophila*. Zat besi dan vitamin C dapat memicu pematangan eritrosit serta memicu proses perbaikan jaringan (Wedemeyer, 1996). Jumlah eritrosit memberikan informasi penting, kekurangan eritrosit menyebabkan anemia ikan kelihatan lemas dan tidak bergairah (Anderson dan Siwicki, 1995).

Kadar Hematokrit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Hematokrit merupakan persentase volume eritrosit dalam darah, hasil pemeriksaan hematokrit dapat dijadikan standar kondisi

kesehatan ikan (Morgan dan Iwama, 1977). Kadar hematokrit pada ikan teleostei normal berkisar antara 20 – 30% (Bond, 1979), sedangkan pada ikan lele berkisar 16,63 % (Yanto *et al.*, 2015).

Rata-rata kadar hematokrit ikan lele dumbo setelah diberi perlakuan pakan mengandung tepung kulit buah manggis selama 2 bulan mengalami peningkatan sesuai dengan dosis perlakuan berkisar antara 20,79% - 26,32%. Sedangkan pasca penginfeksi dengan *A. hydrophila* mengalami penurunan. Kadar hematokrit ikan lele berkisar antara 15,85- 22,94 % . Rata-rata kadar hematokrit ikan lele dumbo yang diberi perlakuan pakan mengandung tepung kulit buah manggis selama 2 bulan menunjukkan dalam kondisi yang normal, hal ini sesuai dengan pendapat Bond (1979), yang menyatakan bahwa kadar hematokrit

pada ikan teleostei normal berkisar antara 20 – 30%, sedangkan kadar hematokrit ikan lele dumbo normal berkisar antara 30,8 – 45.5 %

(Bastiawan, 2001). Untuk lebih jelasnya rata-rata persentase kadar hematokrit ikan lele dumbo dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Persentase Kadar Hematokrit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Setelah diinfeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Rata-rata Persentase Kadar Hematokrit pada Ikan Lele Dumbo (%)	
	Setelah Pemeliharaan Selama 60 Hari	Setelah Infeksi
Kn	20,79±3,93 ^a	20,90±2,56 ^b
Kp	22,17±2,18 ^a	15,85±2,39 ^a
P ₁	23,29±6,44 ^a	21,16±1,11 ^b
P ₂	25,22±4,59 ^a	21,71±3,09 ^b
P ₃	26,32±1,71 ^a	22,94±1,25 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Nilai hematokrit dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, temperatur air, metode pengambilan sampel dan lamanya anestesi (Ferguson, 1988). Setelah dilakukan uji (ANAVA) antar perlakuan dengan control tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$) ini memperlihatkan bahwa pemberian pakan yang mengandung kulit buah manggis tidak mempengaruhi nilai hematokrit ikan lele dumbo.

Nilai hematokrit ikan lele dumbo setelah diinfeksi *A. hydrophila* terlihat adanya perbedaan, setelah dilakukan uji lanjut hasil analisis variabel menunjukkan rata-rata nilai hematokrit ikan lele dumbo yang diberi perlakuan pakan mengandung tepung kulit buah manggis berbeda nyata dengan kontrol ($P < 0.05$). Nilai hematokrit dapat berubah tergantung dari musim, suhu dan pemberian pakan yang sehat serta ketahanan tubuh ikan (Bond, 1979). Kandungan pakan yang mengandung tepung kulit buah manggis dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan lele dumbo, hal ini dikarenakan adanya senyawa a-mangostin yang bekerja mengaktifkan sistem kekebalan

tubuh dengan cara merangsang pembentukan sel antibodi (Anonim, 2010). Anderson dan Siwicki (1995) menyatakan bahwa hematokrit dapat digunakan untuk mengetahui dampak pemakaian imunostimulan, karena itu dapat digunakan sebagai petunjuk kondisi kesehatan ikan. Bila nilai hematokrit lebih kecil dari 22% menunjukkan ikan mengalami anemia dan kemungkinan terinfeksi penyakit (Randal, 1970 dalam Dopongtonung, 2008).

Total Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui fagositosis. Jumlah leukosit pada ikan *chanel catfish* sebesar $64,75 \times 10^3$ sel mm^3 (Anderson, 1992). Sedangkan menurut Bastiawan *et al.*, (2001) menyatakan bahwa jumlah leukosit pada ikan lele normal berkisar antara $20 - 150 \times 10^3$ sel/ mm^3 . Rata rata

jumlah leukosit ikan lele dumbo yang diberi pakan mengandung tepung kulit buah manggis dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil penelitian menunjukkan ikan lele dumbo yang diberi pakan mengandung tepung kulit buah manggis dan ikan kontrol yang dipelihara selama 2 bulan jumlah rata-rata leukositnya bervariasi berkisar antara $54,67-100 \times 10^3$ sel/mm³. Setelah dilakukan uji lanjut, hasil analisis variabel menunjukkan berbeda nyata antara ikan perlakuan

dengan ikan kontrol ($P < 0.05$). Hal ini memperlihatkan bahwa pemberian pakan mengandung tepung kulit buah manggis dapat meningkatkan jumlah leukosit ikan lele dumbo. Akan tetapi kenaikan jumlah leukosit pada ikan perlakuan masih tergolong normal. Peningkatan jumlah leukosit disebabkan karena kulit buah manggis mengandung flavonoid yang dapat mengaktifkan sistem limfe sehingga dapat meningkatkan produksi sel leukosit.

Tabel 4. Rata-rata Total Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Setelah diinfeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Rata-rata Total Leukosit pada Ikan Lele Dumbo ($\times 10^3$ sel/mm ³)	
	Setelah Pemeliharaan Hari	Setelah Infeksi Selama 60 Hari
Kn	55,20 $\pm$ 1,60 ^a	51,00 $\pm$ 3,77 ^a
Kp	54,67 $\pm$ 5,79 ^a	91,67 $\pm$ 3,55 ^b
P ₁	74,07 $\pm$ 8,81 ^b	101,50 $\pm$ 10,69 ^b
P ₂	82,90 $\pm$ 13,78 ^b	101,67 $\pm$ 6,11 ^b
P ₃	100 $\pm$ 7,00 ^c	104,83 $\pm$ 4,16 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya berbeda nyata ($P < 0,05$)

Rata-rata total leukosit ikan lele dumbo setelah diinfeksi *A. hydrophila* mengalami peningkatan yang tidak berarti bila dibandingkan dengan kontrol hal ini terlihat setelah dilakukan perhitungan statistik tidak berbeda nyata antara ikan yang diberi perlakuan dengan kontrol ($P > 0.05$). Kenaikan jumlah total leukosit tersebut sudah mencirikan bahwa pemberian tepung kulit buah manggis dapat meningkatkan pertahanan non spesifik dengan ditandai meningkatnya jumlah leukosit, walaupun masih dalam jumlah normal. Leukosit berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh ikan yang bereaksi terhadap gangguan dari luar termasuk infeksi patogen, dimana sel diangkut dari jaringan

limphomieloid ke area area tubuh yang memerlukan, organ *limphomieloid* ini berfungsi sebagai organ pembentuk respon kekebalan dan darah (Anderson, 1992; Moyle dan Chech, 1988). Disamping itu juga terdapatnya senyawa flavonoid dalam kulit buah manggis mampu meningkatkan kerja sistem imun, karena leukosit sebagai pemakan antigen lebih cepat dihasilkan dan sistem *limfoid* lebih cepat diaktifkan. Flavonoid yang bersifat *lipofilik* akan merusak membran mikroba, disamping itu flavonoid bersifat antiinflamasi dan dapat mengurangi peradangan serta membantu mengurangi terjadinya perdarahan dan pembengkakan pada luka (Rahman, 2008).

Aktivitas Fagositosis Ikan Lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Fagositosis merupakan proses dimana tubuh berupaya untuk mempertahankan diri dengan meniadakan bakteri yang masuk ke dalam tubuh secara non spesifik. Dalam fagositosis makrofag memegang peranan penting, disamping itu juga sel leukosit yang terdiri dari sel neutrofil, sel eosinofil dan monosit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan lele dumbo yang diberi pakan mengandung tepung kulit buah manggis leukosit yang melakukan aktivitas fagositosis mengalami peningkatan sesuai dengan peningkatan dosis. Persentase leukosit lele dumbo yang melakukan aktivitas fagositosis berkisar antara 36,00- 61,67%. Untuk lebih jelasnya persentase leukosit ikan lele dumbo yang melakukan aktivitas fagositosis dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa ikan lele dumbo yang diberi pakan mengandung tepung kulit buah manggis

mengalami peningkatan yang signifikan bila dibandingkan dengan kontrol ($P < 0.05$) demikian juga pada perlakuan ikan lele dumbo pasca infeksi *A. hydrophila* juga mengalami peningkatan antara 23,33- 64,00%. Kemampuan leukosit untuk memfagosit bakteri ini merupakan salah satu cara untuk mempertahankan diri terhadap serangan patogen, sel yang berfungsi memfagosit adalah sel neutrofil dan monosit (Fletcher, 1992; Walczak, 1985)

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas fagositosis leukosit terhadap bakteri *Staphylococcus* pada ikan lele dumbo yang diberi pakan mengandung tepung kulit buah manggis mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini sesuai dengan pendapat Fletcher (1982) yang menyatakan bahwa makrofag yang diisolasi dari pronepros ikan mampu memfagosit berbagai partikel dan bekerja secara efisien dalam waktu 30 menit dan mempunyai kemampuan sebesar 90%.

Tabel 5. Rata-rata Sel Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Melakukan Aktivitas Fagositosis Setelah diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Setelah diinfeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Leukosit yang Melakukan Aktivitas Fagositosis pada Ikan Lele Dumbo (%)	
	Setelah Pemeliharaan Selama 60 Hari	Setelah Infeksi
Kn	36,00±6,56 ^a	35,67±6,51 ^{ab}
Kp	38,67±7,37 ^{ab}	23,33±6,03 ^a
P ₁	48,67±3,51 ^{bc}	51,00±8,54 ^{bc}
P ₂	56,67±6,03 ^{cd}	57,67±14,57 ^c
P ₃	61,67±3,51 ^d	64,00±7,00 ^c

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Hasil penelitian membuktikan bahwa aktivitas fagositosis leukosit pada ikan lele dumbo lebih tinggi

disebabkan karena dalam kulit buah manggis mengandung xanthone yang merupakan substansi kimia alami

yang tergolong senyawa polyphenolic dimana zat tersebut sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh dalam hal ini meningkatkan kekebalan tubuh, disamping itu adanya flavonoid pada kulit manggis mampu meningkatkan kerja sistem imun dan meningkatkan leukosit memakan antigen (Nugroho, 2011; Rahman, 2008).

Salah satu senyawa yang terdapat dalam kulit buah manggis dalam hal ini adalah xanthone, selain dapat membunuh bakteri juga dapat meningkatkan imunitas. Ini dibuktikan dengan ikan lele dumbo yang diberi perlakuan pakan mengandung tepung kulit buah manggis terjadi peningkatan jumlah leukosit dan juga aktivitas fagositosis, dimana hal tersebut dapat mengaktifkan sel T dan makrofag secara langsung dan secara tidak langsung sehingga dapat meningkatkan aktivitas sel B untuk memproduksi antibodi. Scombes (1996) menyatakan bahwa fagositosis terhadap patogen melalui proses penelanan, pembunuhan dan pencernaan patogen. Fagositosis merupakan langkah awal untuk mekanisme respon imunitas berikutnya, yakni terbentuknya respon spesifik berupa antibodi.

Setelah dilakukan uji lanjut, hasil analisis variabel menunjukkan berbeda nyata antara ikan perlakuan dengan ikan kontrol ($P < 0.05$) ini disebabkan karena pakan yang mengandung tepung kulit buah manggis dapat meningkatkan pertahanan tubuh ikan, dilihat dari jumlah leukosit, dan aktivitas fagositosis. Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui

fagositosis. Ikan dapat bertahan hidup karena pertahanan non spesifiknya meningkat, ditunjang dengan hasil pemeriksaan darah.

Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Ikan lele dumbo baik yang diberi perlakuan pakan mengandung tepung kulit buah manggis selama 2 bulan dengan dosis yang berbeda tidak berbeda nyata dengan ikan kontrol. Kelulushidupan ikan kontrol dan ikan perlakuan berkisar antara 63,33- 76,67%. Ikan lele dumbo yang diberi perlakuan dapat menerima pakan tersebut dengan kurun waktu 3 hari. Setelah 3 hari ikan dapat memakan pakan yang mengandung kulit buah manggis secara normal. Sedangkan kelulushidupan ikan lele dumbo yang diberi pakan mengandung tepung kulit buah manggis pasca infeksi *A. hydrophila* berbeda nyata dengan kontrol, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 6.

Pemberian pakan mengandung tepung kulit buah manggis dapat meningkatkan kelulushidupan ikan lele dumbo pasca infeksi dimana pada perlakuan P_1 80,00%, P_2 86,67% dan P_3 100% dan kontrol 60,00%.

Adanya kandungan xanthone pada kulit manggis dan flavonoid yang bekerja dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba sehingga dapat menekan pertumbuhan bakteri. Flavonoid akan merusak membran mikroba sehingga menyebabkan mikroba kehilangan fungsinya. Flavonoid bersifat antiinflamasi sehingga ikan yang diberi pakan mengandung tepung

kulit buah manggis, pendarahan maupun pembengkakannya dapat berkurang. Disamping itu adanya tannin pada kulit manggis juga merupakan antibakteri, dimana

tannin dapat mendenaturasi protein bakteri dan menghilangkan fungsi protein bakteri (Cowan, 1999).

Tabel 6. Rata-rata Persentase Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan Mengandung Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Setelah diinfeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Tingkat Kelulushidupan (%)	
	Setelah Pemeliharaan Selama 60 Hari	Setelah Infeksi
Kn	73,33±15,28 ^a	93,33±11,55 ^{ab}
Kp	63,33±5,77 ^a	60,00±20,00 ^a
P ₁	76,67±15,28 ^a	80,00±20,00 ^{ab}
P ₂	76,67±11,55 ^a	86,67±11,55 ^{ab}
P ₃	73,33±11,55 ^a	100±0,00 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya berbeda nyata (P<0,05)

Setelah dilakukan uji lanjut, hasil analisis variabel menunjukkan berbeda nyata antara ikan perlakuan dengan ikan kontrol (P< 0.05) ini disebabkan karena pakan yang mengandung tepung kulit buah manggis dapat meningkatkan pertahanan tubuh ikan, dilihat dari jumlah leukosit, dan aktivitas fagositosis. Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui

fagositosis. Ikan dapat bertahan hidup karena pertahanan non spesifiknya meningkat, ditunjang dengan hasil pemeriksaan darah.

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian meliputi suhu, pH, *dissolved oxygen* (DO) dan amoniak. Pengukuran dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Kisaran nilai parameter kualitas air selama penelitian dicantumkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Kisaran Kualitas Air Selama Penelitian

Perlakuan	Parameter Kualitas Air			
	Suhu (°C)	pH	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)
Kn	27,6-28,6	5,93-6,36	2,97-3,01	0,463-0,760
Kp	27,6-28,6	6,33-6,36	2,85-2,92	0,559-0,897
P ₁	27,8-28,6	6,30-6,60	2,88-3,03	0,429-0,876
P ₂	27,8-28,6	6,46-6,53	3,03-3,06	0,373-0,796
P ₃	27,9-28,7	6,20-6,43	2,90-3,00	0,345-0,760

Kisaran suhu air pada tiap-tiap perlakuan teridentifikasi berkisar antara 27,6-28,7 °C, kisaran ini masih termasuk dalam kisaran optimum bagi pemeliharaan ikan lele

dumbo, yaitu antara 28-30 °C (Boyd, 1982). Kisaran pH yang terukur selama penelitian adalah sebesar 5,93-6,60. Boyd (1982) menyatakan bahwa air dengan pH kurang dari 4

akan membunuh ikan, antara 6,5-8,5 baik untuk ikan budidaya, pH lebih dari 8,5 akan membahayakan ikan dan pH 11 dapat menyebabkan kematian pada ikan. Hasil pengukuran terhadap konsentrasi oksigen terlarut (DO) selama penelitian berkisar antara 2,85-3,06 mg/L. Menurut Boyd (1982), kandungan oksigen terlarut kurang dari 1 mg/L akan mematikan ikan, pada kandungan 1-5 mg/L cukup mendukung kehidupan ikan, tetapi pertumbuhan ikan lambat dan pada kandungan oksigen terlarut lebih dari 5 mg/L pertumbuhan ikan akan berjalan normal. Kandungan amoniak yang terukur selama penelitian berkisar antara 0,345-0,897 mg/L. Kisaran ini dinilai masih berada pada kisaran optimum bagi kelangsungan hidup ikan lele dumbo. Menurut Boyd (1982), konsentrasi amoniak yang ideal dalam air bagi kehidupan ikan tidak boleh melebihi 1 mg/L. Karena jika konsentrasinya berlebih akan menghambat daya serap hemoglobin di dalam darah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penambahan tepung kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam pakan terbukti efektif dalam meningkatkan daya tahan tubuh ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dilihat dari beberapa parameter hematologinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis efektif terdapat pada perlakuan P₃ (pemberian tepung kulit buah manggis 6 g/kg pakan) dengan nilai total eritrosit sebesar $2,04 \times 10^6$ sel/mm³, kadar hematokrit sebesar 22,94%, total leukosit sebesar $104,83 \times 10^3$ sel/mm³, aktivitas fagositosis sebesar 64,80%, dan kelulushidupan sebesar 100%.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat gambaran histopatologi dari berbagai organ tubuh ikan setelah dipelihara dengan pemberian pakan yang mengandung simplisia kulit buah manggis dan pasca ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anastasia, N. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alfa Mangotin Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten. [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, Adjuvant and Vaccine Carrier in Fish : Application to Aquaculture. Annual Review of Fish Diseases. 21 : 281-307.
- Anderson and A.K. Siwicki. 1994. Simplified Assays for Measuring Nonspecific Defense Mechanisms in Fish. Rough Draft for Presentation at the Fish Health Section/American Fisheries Society Meeting. Seattle, Washington.
- _.1995. Basic Haematology and Serology for Fish Health Program. in : Diseases in Asia Aquaculture II. Shariff, M., J.R. Arthur, P.P. Subangsinhe (Eds). Fish Health Section Asian

- Fisheries Society. p. 185-202.
- Anonim, 2010. Herbal Indonesia Berkhasiat Bukti Ilmiah dan Cara Racik. Trubus Info Kit Vol. 8. Cimanggis. Depok. 492 hlm.
- Anoraga, W. 2011. Belimbing Wuluh Menghambat Bakteri *Aeromonas salmonicida*. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan. 3 (2) :
- Bastiawan, D., A. Wahid., M. Alifudin dan I. Agustiawan. 2001. Gambaran Darah Lele Dumbo (*Clarias* spp) yang diinfeksi Cendawan *Aphanomyces* sp pada pH yang Berbeda. Jurnal Penelitian Indonesia, 7 (3) : 44 – 47.
- Blaxhall and K.W. Daisley. 1973. Routine Haematological Methods for Use With Fish Blood. Journal of Fish Biology, 5 : 577-581.
- Bond, C.E. 1979. Biology of Fishes. Sounders College Publishing. Philadelphia. 514 p.
- Boyd, C. E. 1982. Water Quality Criteria in Warmwater Fish Ponds. Auburn : United States of Amerika. 359 p.
- Chinabut, S., C. Limsuwan., P. Kitsawat. 1991. Histology of the walking Catfish (*Clarias batrachus*). Departement of Fisheries Thailand. 96 p.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial agents. American Society for Microbiology, 12 (14) : 564-582.
- Dopongtonung, A. 2008. Gambaran Darah Ikan Lele (*Clarias* spp.) yang Berasal dari Daerah Laladong Bogor. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Effendie. M.I. 1979. Biologi Perikanan. Yayasan Dewi Sri Bogor.
- Ferguson, H.W.1988. Systemic Pathology of Fish. A Text and Atlas of Comparative Tissue Responses. in : Diseases of Teleos. (Eds) Iowa USA : Iowa State Univ Press. 263 p.
- Fletcher, T.C. 1992. Non-Specific Defence Mechanisms of Fish. Devalopmental and Comperative Immunology, 2 : 123-132.
- Lagler, K.F.,J.E. Bardach, R.R. Miller and D.R.M. Pasino. 1977. Ichthyology. New York : Jhon Willey and Sons Inc. 295 p.
- Lukistyowati, I. dan M. Riauwati. 2005. Analisa Penyakit Ikan. Pekanbaru. UNRI PRESS.
- Lukistyowati, I. Windarti, M. Riauwati. 2007. Studi Hematologi Ikan-Ikan yang dipelihara di Kotamadya Pekanbaru. Laporan Hasil Penelitian Lembaga Penelitian Universitas Riau.

- Mardiana, L.2012. Ramuan dan Khasiat Kulit Manggis. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Marisi, R.T., Soetarno, S., and Yulinah, E.S. 2001. Telaah Kandungan Kimia dan Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L., Guttiferae). dalam Detail Penelitian Obat Bahan Alam. <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id> diakses Februari 2015.
- Morgan, D.J. and G.K. Iwama. 1997. Measurement of Stress in The field. in Iwama. G.K., Pickering, A.D., Supter, J.P. and Schreck, C.B. (Eds). Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge : Cambridge University Press. p 247-278.
- Moyle, P.B. and J.J. Chech. Jr. 1988. Fish . An Introduction to Ichthyology. New Jersey : Prentice-Hall Inc. A Devision of Simon and Schuster Engelwood Clifft. 597 p.
- Nugroho, A.E. 2011. Manggis (*Garcinia mangostana* L.): dari Kulit Buah yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi UGM. MOT, 12 (42) : 1-9.
- Poeloengan, M. dan Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). Media Litbang Kesehatan, 20 (2) : 66-67.
- Pradipta, V.S., T.W. Nikodemus, dan Y. Susilawati. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Xanthone dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). PDII-LIPI : 64-77.
- Rahman, M.F. 2008. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya pada Ikan Gurami yang diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 62 hlm.
- Salasia, S.I.O., D. Sulanjari dan A.Ratnawati. 2001. Studi Hematologi Ikan Air Tawar. Biologi, 2 (12) : 710-723.
- Scombes, C.J. 1996. The Non-specific Immune System, Cellular Difference in the Fish Immune System. New York : Academic Press. 367 p.
- Walczak, B.Z. 1985. Immune Capability of Fish. A. Literature Review. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences, 1334 : 1-33
- Wedemeyer, G.A. 1996. Physiology of Fish In Intensive Cultur System. Northwest Biologycal Science Center National Biological Service U.S. Departement Chamman and Hall. 232 p.

Yanto, H., H. Hasan dan Sunarto.
2015. Studi Hematologi
Untuk Diagnosa Penyakit
Ikan secara Dini di
Sentra Produksi
Budidaya Ikan Air Tawar
Sungai Kapuas Kota
Pontianak. Jurnal
Akuatik, 6 () : (11-20).