

PENAMBAHAN BUNGA ROSELLA (*HIBISCUS SABDARIFFA L.*) PADA PAKAN TERHADAP KETAHANAN TUBUH IKAN GURAMI (*OSPHRONEMUS GOURAMY*) YANG DIUJI TANTANG DENGAN BAKTERI *AEROMONAS HYDROPHILA*

SUPPLEMENTATION OF ROSELLA (*HIBISCUS SABDARIFFA L.*) IN THE FOOD AGAINST IMMUNITY OF GIANT GOURAMY (*OSPHRONEMUS GOURAMY*) FRY HAD BEEN CHALLENGED WITH *AEROMONAS HYDROPHILA* BACTERIA

Annita Mustikhasary¹, Mulyana¹ dan Rosmawati¹

¹Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Djuanda Bogor

ABSTRACT

This research is aimed to know the dosage of rosella against immunity of giant gouramy fry had been challenged with *Aeromonas hydrophila* bacteria. The treatments are 0 g of rosella/kg of food (control), 10 g of rosella/kg of food, 20 g of rosella/kg of food, and 30 g of rosella/kg of food. The challenged test is done after the fishes had been given the food for 30 days. Each giant gouramy fry is injected by 10^6 cell of bacteria via intramuscular. Total leucocyte, hematocrite, phagocytic index, and mortality of giant gouramy fry had been evaluated. The result of research showed that the best of total leucocyte and hematocrite get from the fish had been given the 20 g dosage of rosella/kg of food, but phagocytic index, immunity, and fish mortality get from the fish had been given the 30 g dosage of rosella/kg of food. Supplementation of rosella in the food could increased immunity of giant gouramy fry.

Key Words: *Aeromonas hydrophila*, giant gouramy fry, immunity, rosella.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) terhadap ketahanan tubuh benih ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Perlakuan yang diberikan yaitu: (A) pakan tanpa penambahan bunga Rosella, (B) pakan dengan penambahan bunga Rosella 10 g/kg, (C) pakan dengan penambahan bunga Rosella 20 g/kg, dan (D) pakan dengan penambahan bunga Rosella 30 g/kg. Uji tantang dilakukan setelah ikan uji diberi pakan sesuai perlakuan selama 30 hari. Setiap benih ikan gurami disuntik dengan 10^6 sel bakteri via intramuskular, Parameter yang diamati adalah total leukosit, indeks fagosit, kadar hematokrit serta mortalitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total sel darah putih dan hematokrit terbaik diperoleh pada ikan yang diberi 20 g rosella/kg pakan, tetapi fagositik indeks, imunitas dan mortalitas terbaik diperoleh pada ikan yang diberi 30 g rosella/kg pakan. Penambahan rosella ke dalam pakan dapat meningkatkan imunitas benih ikan gurami.

Kata Kunci: *Aeromonas hydrophila*, benih ikan gurami, imunitas, rosella.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan yang wilayahnya mencakup 70% perairan yang terdiri dari sungai, rawa, danau, tambak, dan laut. Kekayaan alam ini merupakan salah satu kesempatan besar bagi pengembangan perikanan, baik perikanan darat maupun perikanan laut. Berbagai macam hasil perikanan merupakan sumber bahan makanan berprotein tinggi yang sangat berguna untuk memenuhi kebutuhan gizi penduduk Indonesia (Sutisna dan Sutarmanto 1995).

Budidaya ikan secara intensif semakin berkembang sejalan dengan meningkatnya permintaan ikan sebagai sumber protein hewani. Ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) adalah salah satu ikan ekonomis penting yang menjadi sasaran utama peningkatan produksi dan pendapatan budidaya ikan air tawar di Indonesia. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan sistem budidaya adalah sistem pemeliharaan, nutrisi, kualitas benih, kualitas air, dan serangan hama dan penyakit. Salah satu penyakit yang ditakuti oleh para pembudidaya ikan adalah penyakit bercak merah atau *Motile Aeromonas Septicemia*

yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini sering menyerang ikan budidaya air tawar seperti mas, gurami, nila, dan ikan-ikan peliharaan dalam akuarium (Bullock *et al.* 1971). Ikan yang terserang bakteri ini akan mengalami pendarahan pada bagian tubuh terutama di bagian dada, perut, dan pangkal sirip. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* ini mudah menular. Penyebaran penyakit ini yaitu melalui air yang telah terkontaminasi *Aeromonas hydrophila* atau penularan dari ikan yang sakit.

Penyakit ikan disebabkan adanya interaksi yang tidak serasi antara ikan, patogen dan lingkungan, sehingga menyebabkan stres pada ikan dan mengakibatkan melemahnya pertahanan tubuh sehingga penyakit mudah menginfeksi. Penyakit bakterial dapat diobati menggunakan antibiotika. Namun, penggunaan antibiotika yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotika tersebut dan dampak dari bahaya residu antibiotika. Untuk menghindari hal tersebut dapat diupayakan melalui peningkatan kekebalan tubuh. Salah satu cara untuk meningkatkan kekebalan

tubuh ikan adalah dengan penambahan immunostimulan pada ikan.

Beberapa vitamin seperti vitamin A, B dan vitamin C juga dapat digunakan sebagai imunostimulan. Berbagai kandungan yang terdapat dalam tanaman rosella membuatnya populer sebagai tanaman obat tradisional. Kandungan vitamin dalam bunga rosella cukup lengkap, yaitu vitamin A, C, D, B1, dan B2. Bahkan kandungan vitamin C atau asam askorbat diketahui 3 kali lebih banyak dari anggur hitam, 9 kali dari jeruk sitrus, 10 kali dari buah belimbing, dan 2,5 kali dari jambu biji. Vitamin C merupakan salah satu antioksidan penting (Tanjung 2011). Oleh sebab itu perlu dikaji penambahan rosella dalam pakan untuk meningkatkan ketahanan tubuh ikan.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) terhadap ketahanan tubuh benih ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) yang diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Hipotesis

Semakin tinggi dosis bunga rosella pada pakan akan meningkatkan ketahanan tubuh ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila*.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan April-September 2012, bertempat di Laboratorium Perikanan, Universitas Djuanda Bogor. Untuk pengujian darah dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor.

Alat dan Bahan

Wadah yang digunakan untuk kegiatan penelitian ini antara lain dua belas unit akuarium dengan ukuran 50 x 30 x 30 cm³, blower, timbangan elektrik digital Hitachi dengan ketelitian 0,01 gram, thermometer air raksa, heater dan lampu 50 watt. Adapun alat tambahan yang digunakan untuk menghaluskan bunga rosella yaitu oven, blender, wadah dan saringan 100 mesh, cawan petri, sentrifuse, jarum ose, gelas objek, mikropipet, penggaris, alat bedah, tabung mikrohematokrit, *critoseal*, sentrifuge, haemositometer, kaca penutup, mikroskop, eppendorf, dan inkubator. Bahan lain digunakan untuk analisis kualitas air (pH, oksigen terlarut, CO₂ dan NH₃).

Bahan yang digunakan adalah bunga rosella, benih ikan gurami sebanyak 300 ekor dengan ukuran 3-4 gram, pelet komersil (hiprovit), akuades, larutan turks, suspensi *Staphylococcus aureus*, metanol, pewarna giemsa, dan bakteri *Aeromonas*

hydrophila yang berasal dari Balai Penelitian Perikanan Air Tawar Sempur Bogor.

Prosedur Penelitian

Tahap persiapan dimulai dengan membersihkan semua akuarium dengan menggunakan air bersih dan dijemur selama 24 jam. Setelah kering, akuarium diletakkan pada rak kayu dan diisi air sebanyak 34 liter dengan menggunakan air tandon. Setelah akuarium terisi air selanjutnya pemasangan instalasi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut (DO) dalam air kemudian memasang heater dan lampu 50 watt untuk menstabilkan suhu dalam akuarium.

Benih ikan gurami yang baru datang kemudian diadaptasi terhadap pakan dan lingkungannya selama 1 minggu di dalam tandon sebelum ikan dimasukkan kedalam akuarium uji. Selama masa adaptasi, ikan diberi pakan pellet komersil dengan frekuensi pemberian pakan 2 kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari yaitu jam 09.00 WIB dan 16.00 WIB. Untuk menjaga kualitas air, dilakukan penyiponan dan pergantian air satu kali sehari. Setelah masa adaptasi, ikan diseleksi dan ditimbang sebanyak 25 ekor ikan per akuarium.

Ikan dipelihara selama 30 hari dan selama pemeliharaan ikan diberi pakan sesuai dengan perlakuan, diberikan secara *ad libitum* atau sampai sekenyang-kenyangnya dengan frekuensi pemberian

pakan dua kali sehari, yaitu pada jam 09.00 dan 16.00 WIB.

Kualitas air merupakan faktor yang paling penting dalam budidaya ikan sebab air diperlukan sebagai media hidup ikan. Air yang digunakan berasal dari sumber air tanah yang kemudian diendapkan terlebih dahulu selama tiga hari dan diberikan aerasi. Untuk menjaga kualitas air di dalam akuarium percobaan tetap stabil, maka dilakukan penyiponan setiap hari dan penambahan air. Penyiponan dilakukan dengan cara mengangkat sisa pakan dan kotoran hasil metabolisme benih ikan gurami sebanyak 70 % dari jumlah total air per akuarium percobaan dan penambahan air sebanyak jumlah total air per akuarium yang disipon. Penyiponan dilakukan pada jam 07.00 WIB sebelum pemberian pakan pertama diberikan. Suhu media pemeliharaan diusahakan konstan antara 28 - 30 °C, dan untuk menjaga suhu media pemeliharaan dipasang lampu 50 watt dan heater pada setiap akuarium percobaan.

Uji Tantang

Setelah semua ikan uji memperoleh perlakuan pemberian pellet selama 30 hari yang mengandung rosella dengan dosis yang berbeda kemudian dilakukan uji tantang. Sebelum dilakukan uji tantang, ikan diambil darahnya untuk mengetahui gambaran darah (total leukosit, indeks pagositik, kadar hematokrit) sebelum uji

tantang. Ikan kemudian diuji tantang yaitu dengan menyuntikkan bakteri *Aeromonas hydrophila* 10^7 /mL secara intra muscular yaitu pada otot punggung ikan sebanyak 0,1 mL. Ikan yang telah disuntik dimasukkan kembali ke dalam akuarium untuk pengamatan selama 24 jam terhadap ikan-ikan yang telah terinfeksi dan mortalitas. Dua puluh empat jam setelah uji tantang dilakukan kembali uji darah untuk mengetahui gambaran darah ikan setelah uji tantang.

Parameter Pengamatan

Pengukuran Kadar Hematokrit (Anderson dan Siwicky, 1993)

Sampel darah ikan dihisap menggunakan tabung mikrohematokrit berlapis heparin dengan kapiler. Fungsi heparin adalah untuk mencegah pembekuan darah di dalam tabung (Amlacher 1970). Setelah darah mencapai $\frac{3}{4}$ bagian tabung, kemudian salah satu ujung tabung disumbat dengan *critoseal*. Tabung kapiler yang berisi darah kemudian disentrifusi pada 600 rpm selama 5 menit. Pengukuran dilakukan dengan membandingkan volume sel darah terhadap volume seluruh darah dengan menggunakan skala hematokrit.

Total Leukosit (Blaxhall and Daisley 1973)

Perhitungan dilakukan dengan mengencerkan darah dengan larutan Turks

di dalam pipet pencampuran berskala maksimum 11. Darah dicampur dengan pipet pencampur hingga skala 0,5 kemudian pipet yang sama dihisap larutan Turks hingga skala 11. Pipet kemudian digoyang membentuk angka delapan selama 3-5 menit agar tercampur secara merata. Sebelum dilakukan perhitungan, larutan pada ujung pipet yang tidak teraduk dibuang, tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam haemositometer yang telah dilengkapi dengan kaca penutup kemudian diamati di bawah mikroskop.

Indeks Fagositik (Anderson and Siwicky 1993)

Pengukuran indeks fagositik dilakukan dengan cara: sebanyak 50 μ L sampel darah dimasukkan ke dalam eppendorf, ditambahkan 50 μ L suspensi *Staphylococcus aureus* dalam PBS (10^8 sel/mL). Sampel darah dihomogenkan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit. Selanjutnya 5 μ L sampel darah dibuat sediaan ulas dan dikeringudarkan, kemudian difiksasi dengan metanol selama 5 menit dan dikeringkan. Sediaan ulas direndam dalam pewarna Giemsa selama 15 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan tissue. Selanjutnya dihitung jumlah sel yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 sel fagosit yang diamati dengan rumus :

injeksi												
H1-H2												
H3				1								
H4	5	6	2						1			
H5	6	1	3	2		1	3	3				
H6		4	3	3	4	1	5	1	2	2	3	3
H7	1			1		2	2	1			3	
H8		1			4	2	1		1	1	2	2
H9		2	1	3		1		2	1	3		
H10	1	1		1	2	2	2	2	2	1	1	1
H11	1		1	1				2	2	2	1	
H12			2	1	2			1			2	1
H13			3	1		3	1		3	2		
H14				1		3	1			3	2	1
H15					1			2	1			
H16	1											
H17									2		1	4
H18								1				
H19												1
H20												1
H21-H23												
H24					2							
Jumlah	15	15	15	15	15	15	15	15	15	14	15	14

Kematian ikan pertama terjadi pada jam ke-3 setelah ujiantang. Hasil pengamatan tingkat kematian ikan dari jam ke-3 sampai jam ke-24 semakin tinggi. Setelah dilakukan ujiantang menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* melalui penyuntikan secara intramuscular, mortalitas ikan gurame mencapai lebih dari 50 persen pada 6 jam pasca penyuntikan pada perlakuan A, pada 10 jam pasca penyuntikan pada perlakuan B, pada 11 jam pasca penyuntikan pada perlakuan C, dan pada 14 jam pasca penyuntikan pada perlakuan D. Mortalitas ikan gurami mencapai lebih dari 75 persen pada 12 jam pasca penyuntikan pada perlakuan A, pada 13 jam pasca penyuntikan pada

perlakuan B dan C, dan pada 17 jam pasca penyuntikan pada perlakuan D. Mortalitas ikan gurami mencapai 100 persen terjadi dalam waktu 24 jam pasca penyuntikan pada perlakuan A, B dan C, dan lebih dari 24 jam pasca penyuntikan pada perlakuan D. Penggunaan pemberian bunga rosella yang ditambahkan ke dalam pakan ikan gurami pada perlakuan A terkontrol, 10 g/kg pakan pada perlakuan B, 20 g/kg pakan pada perlakuan C dan 30 g/kg pakan pada perlakuan D, ternyata telah memberikan rangsangan bagi sel darah putih ikan gurami untuk meningkatkan ketahanan ikan terhadap serangan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* melalui peningkatan antibodi. Hasil

tersebut dapat dilihat dari mortalitas setiap perlakuan (Tabel 2), yakni semakin rendah dosis pemberian rosella maka mortalitas akan semakin tinggi dan sebaliknya semakin besar dosis yang diberikan maka mortalitas ikan akan semakin rendah.

Sel Darah Putih (Lekosit) dan Hematokrit

Total lekosit dan hematokrit pada ikan gurami sebelum dan setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2 Total lekosit dan hematokrit pada ikan gurami sebelum dan setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Total Leukosit (sel/mm ³)		Hematokrit (%)	
	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang
A1	855		12,82	
A2	691		16,66	
A3	1.046		20,93	
Rataan	864		16,80	
B1	972		21,87	
B2	928		16,66	
B3	412		19,04	
Rataan	771		19,19	
C1	1.026		20,93	
C2	902		17,14	
C3	638		23,07	
Rataan	855		20,38	
D1	927	987	16,21	7,14
D2	627		7,50	
D3	635	953	18,60	7,14
Rataan	730	970	14,10	7,14

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata total sel darah putih pada perlakuan A sebesar 864 sel/mm³, pada perlakuan B 771 sel/mm³, pada perlakuan C 855 sel/mm³, dan pada perlakuan D 730 sel/mm³, nilai ini sangat rendah karena ikan mengalami stres. Setelah dilakukan uji tantang rata-rata total leukosit pada perlakuan D 970 sel/mm³ (Tabel 2).

Terjadinya peningkatan jumlah leukosit dapat dijadikan sebagai tanda adanya infeksi, stres ataupun leukemia. Adanya infeksi akan menyebabkan "inflamasi" yang merupakan karakteristik tanggapan kebal nonspesifik. Respon serupa juga akan muncul akibat adanya beberapa faktor seperti trauma, bahan kimia,

toksin, parasit, bakteri, dan virus (Anderson dan Siwicki 1993).

Hasil percobaan memperlihatkan bahwa rata-rata kadar hematokrit sebelum uji tantang adalah perlakuan A 16,80%, B 19,19%, C 20,38 %, D 14,10%, dan setelah uji tantang nilai kadar hematokrit lebih rendah dari 22% yakni 7,14%, ini menunjukkan bahwa ikan gurami yang terdapat dalam wadah percobaan diduga kuat terdapat dalam keadaan stress dan dianggap mengalami anemia. Penurunan hematokrit merupakan petunjuk akan rendahnya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin atau ikan terkena infeksi. Sedangkan peningkatan kadar hematokrit menunjukkan bahwa ikan

dalam keadaan stress. Menurut Anisha *dkk* (2012) hasil pengukuran hematokrit ikan gurami sakit memiliki nilai yang rendah (dibawah 22%) hal ini diduga karena ikan berada dalam keadaan sakit. Hal ini didukung oleh pendapat Randal (1970) dalam Doppingtanung (2008) dalam Anisha *dkk* (2012) yang menyatakan bahwa bila nilai hematokrit ikan di bawah 22% menunjukkan bahwa ikan mengalami anemia dan kemungkinan mengalami infeksi penyakit bakteri.

Indeks Pagositik

Indeks pagositik yang diperoleh sebelum dan sesudah uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila* tercantum pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3 Indeks pagositik sebelum dan setelah uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Indeks Pagositik (%)	
	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang
A1	3	
A2	3	
A3	3	
B1	3	
B2	3	
B3	3	
C1	5	
C2	5	
C3	5	
D1	7	-
D2	7	
D3	6	-

Hasil penelitian menunjukkan indeks fagositik ikan gurami yang diberi rosella berkisar antara 3-7 % dan ada peningkatan pada perlakuan C dan D dibandingkan dengan kontrol walaupun nilai ini masih belum optimal karena nilainya masih rendah. Menurut Brown dalam Zakki (2007), meningkatnya indeks fagositik menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh yaitu peningkatan kekebalan tubuh dapat diketahui dari peningkatan aktivitas sel fagosit dari hemosit. Sel fagosit berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Fagositosis adalah ingesti bahan partikel terutama bakteri ke dalam sitoplasma sel darah. Pola peningkatan persentase indeks fagositik ini merupakan fungsi dari peningkatan total leukosit maupun prosentase jenis leukosit masing-masing pada limfosit, monosit, dan neutrophil (Amrullah 2004 dalam Zakki 2007)

Sedangkan menurut Spector (1993) dalam Mudjiutami dkk (2002) proses fagositosis terjadi apabila kontak antara partikel dengan permukaan sel fagosit. Membran sel kemudian mengalami invaginasi dimana dua lengan sitoplasma menelan partikel sehingga terkurung dalam sitoplasma sel, terletak dalam vakuola yang dilapisi membran (fagosom). Lisosom yang ada di dekatnya melebur ke dalam fagosom dan mengeluarkan enzim-enzim membentuk fagolisosom atau lisosom sekunder sehingga bakteri atau partikel tersebut mati dan hancur dalam sel fagositosis tersebut.

Kualitas Air

Data parameter kualitas air selama percobaan disajikan pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4 Kisaran hasil kualitas air selama penelitian

Parameter Kualitas Air	Perlakuan				
	A	B	C	D	Tandon
Suhu (°C)	28-30	28-30	28-30	28-30	26-28
DO (ppm)	4,2	4,4	3,8	3,5	2,9
pH	5,5	5,4	5,0	5,0	5,0
Amoniak (ppm)	0,027	0,035	0,037	0,037	0,0012
CO ₂ (ppm)	7,49	8,79	8,93	8,99	8,95

Rendahnya nilai pH 5,0 – 5,5 pada percobaan ini menyebabkan ikan stres karena menurut Susanto (1987), pH yang sesuai untuk semua jenis ikan berkisar antara 6,7 – 8,6. Sedangkan menurut Cholik *et al.* (1986) dalam Hastuti (2010) ikan akan mati pada kondisi pH lebih kecil dari 4 dan lebih besar dari 11 karena pH yang demikian itu bersifat toksik pada ikan dan menyebabkan ikan mati. Nilai pH yang rendah bukan disebabkan karena adanya penambahan rosella, tetapi sumber air yang berasal dari sumur yang memiliki pH rendah yaitu sebesar 5. Menurut Hickling (1962) dalam Sriharti (1992), batas minimum toleransi ikan air tawar pada umumnya adalah pH 4 dan batas maksimum 11. Kadar karbondioksida yang diperuntukkan bagi kepentingan perikanan sebaiknya mengandung kadar karbondioksida bebas < 5 mg/L. Karbondioksida bebas sebesar 10 mg/L masih dapat ditolerir oleh organisme akuatik, asal disertai dengan kadar oksigen yang cukup (Effendi 2003).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, semakin tinggi dosis bunga rosella pada pakan akan meningkatkan sistem ketahanan tubuh

bagi ikan gurami yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Total rataan leukosit yang masih rendah, namun terjadi peningkatan setelah ujiantang sebagai tanda adanya infeksi. Rataan kadar hematokrit dan indeks pagositik masih rendah dikarenakan kondisi ikan stres. Adapun penyebab stres pada ikan dikarenakan pH air rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson DP, Siwicky AK. 1993. Basic Haematology and Serology for Fish Health Program. Paper Presented in Second Symposium on Disease in Asia Aquaculture Aquatic Animal Health and Environment, Phuket, Thailand. 25-29.
- Minaka A, Sarjito, Hastuti S. 2012. Identifikasi Agensia Penyebab dan Profil Darah Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) yang Terserang Penyakit Bakteri. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Journal of Aquaculture Management and Technology 1 (1): 249-263.
- Baxhall PC, Daisley KW. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Fish Biology* 5: 577-581.
- Effendi H. 2003. Telaah Kualitas Air. Yogyakarta: Kanisius.
- Mudjiutami E, Ciptoroso, Zainun Z, Sumarjo, Rahmat. 2007. Pemanfaatan Immunostimulan Untuk Pengendalian Penyakit

Pada Ikan Mas. Jurnal Budidaya Air Tawar 4 (1):1-9.

Sriharti. 1992. Budidaya Ikan. Balai Pengembangan Teknologi Tepat Guna – P3FT-LIPI. Subang

Sutisna HD, Sutarmanto R. 1995. Pembenihan Ikan Air Tawar. Yogyakarta: Kanisius.

Tanjong A. 2011. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Terhadap Koloni *Candida albicans* yang Terdapat Pada Plat Gigi Tiruan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanudin. Makasar.

Zainun Z. 2000. Pengamatan Parameter Hematologis Pada Ikan Mas Yang Diberi Immunostimulan. Jurnal Balai Besar Pengembangan Budidaya Ikan Air Tawar Sukabumi. Sukabumi