

EFEKTIVITAS EKSTRAK BAWANG PUTIH UNTUK PENGOBATAN INFEKSI *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN SIDAT *Anguilla bicolor* DITINJAU DARI PERUBAHAN HEMATOLOGI

Endang Wulandari Suryaningtyas¹⁾, Alfi Hermawati Waskita Sari¹⁾

¹⁾Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan,
Fakultas Kelautan dan Perikanan Universitas Udayana

ABSTRAK

Ikan sidat (*Anguilla* sp.) merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia berskala internasional dan merupakan komoditas ekonomi tinggi karena mempunyai kandungan protein tinggi sehingga menjadi daya tarik bagi para konsumen. Pasokan benih sidat masih tergantung pada hasil penangkapan di alam, sehingga terjadi keterbatasan dalam kontinuitas. Kondisi tersebut diperparah dengan infeksi bakteri patogen, khususnya *aeromonas hydrophila* yang menyebabkan angka kematian tinggi pada budidaya sidat. Upaya untuk mencegah dan menanggulangi serangan bakteri *A. hydrophila* pada kegiatan budidaya ikan sidat dapat dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan alami yang aman dan ramah lingkungan seperti bawang putih, yang mengandung zat aktif allicin dan minyak atsiri yang dapat membunuh bakteri merugikan. Pada penelitian ini digunakan ekstrak bawang putih sebagai pengobatan infeksi bakteri *aeromonas hydrophila* dengan dosis yang berbeda, yaitu Perlakuan 1 sebesar 15 mg/ml, Perlakuan 2 sebesar 25 mg/ml dan Perlakuan 3 sebesar 35 mg/ml dengan cara disuntikkan pada intramuskuler. Ikan yang terinfeksi patogen akan terjadi perubahan pada darahnya, melalui pemeriksaan hematologi dapat dijadikan salah satu cara untuk membantu diagnosa penyakit dan mengetahui proses penyembuhan pada ikan secara efektif. Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan hematologi ikan sidat yang terinfeksi bakteri *aeromonas hydrophila*, yaitu terjadi penurunan jumlah eritrosit, penurunan kadar hemoglobin, peningkatan jumlah leukosit dan peningkatan kadar hematokrit. Perubahan hematologi menunjukkan terjadinya perubahan fisiologis ikan. Berdasarkan hasil uji F (Anova) membuktikan bahwa pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih dengan dosis 15 mg/ml, 25 mg/ml dan 35 mg/ml berpengaruh secara nyata (signifikan) terhadap jumlah leukosit, eritrosit, kadar hemoglobin dan hematokrit ikan sidat ($P < 0,05$). Namun perlakuan ekstrak bawang putih sebesar 15 mg/ml, 25 mg/ml, 35 mg/ml berbeda secara nyata dengan kontrol positif dan kontrol negatif dalam mempengaruhi jumlah leukosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan kadar hematokrit.

KATA KUNCI : *Anguilla bicolor*, *aeromonas hydrophila*, perubahan hematologi

PENDAHULUAN

Kebutuhan ikan sidat *Anguilla* sp. dalam pasar internasional pada tahun 2014 mencapai 600 ribu ton—130 ribu ton, sedangkan produksi budidaya sidat di Indonesia baru mencapai 12.000 ton/tahun (Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, 2014). Permintaan ikan sidat datang dari Jepang yang merupakan konsumen ikan sidat terbesar di dunia. Peluang pasar ini harus dimanfaatkan oleh pelaku budidaya dan perlu pengembangan insentif dari budidaya sampai ke pemasaran.

Pasokan benih sidat sepenuhnya masih bergantung pada hasil penangkapan di alam

* Korespondensi penulis : endangwulandari.unud@gmail.com

karena sampai saat ini masih kesulitan penguasaan teknik untuk memijahkan. Ikan sidat makan dan tumbuh di perairan tawar, untuk memijah atau bertelur harus kembali ke laut dan proses pemijahan berlangsung di laut berkedalaman 400-500 meter. Produksi sidat mempunyai keterbatasan karena permasalahan utama dalam budidaya ikan sidat adalah pertumbuhannya yang lambat, ukuran benih yang tidak seragam dan benih yang rentan terserang penyakit pada pendederan benih (*glass eel* dan *elver*). Serangan patogen merupakan permasalahan utama yang dapat mengancam keberlangsungan hidup ikan sidat karena dapat me-

nyebabkan kematian dalam jumlah besar (Robin, 2012).

Upaya untuk mencegah dan mengobati infeksi bakteri *aeromonas hydrophila* selama ini menggunakan antibiotik yang dapat menyebabkan bakteri bersifat resisten dan membahayakan manusia (zoonotik) karena adanya residu kimia dari antibiotik pada produk perikanan yang dikonsumsi dan dapat mencemari lingkungan perairan. Untuk itu perlu dilakukan pengobatan menggunakan bahan alami yang aman dan ramah lingkungan, yaitu dengan menggunakan bawang putih. Bawang putih mengandung zat aktif allicin dan minyak atsiri yang dapat menekan bakteri merugikan. Yuhana et al. (2008) membuktikan bahwa dosis ekstrak bawang putih sebesar 25 mg/ml mampu mencegah infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan patin dengan cara disuntikkan.

Ikan yang terinfeksi penyakit akan mengalami perubahan komposisi pada darahnya. Adanya gangguan di dalam tubuh ikan diperlihatkan oleh adanya perubahan pada gambaran darah, seperti nilai hematokrit, konsentrasi hemoglobin, jumlah sel darah putih (leukosit) dan jumlah sel darah merah (eritrosit) (Lagler et al. 1977 dalam Affandi dan Tang 2002). Hematologi dan patologi merupakan salah satu cara diagnostik penting untuk menentukan status kesehatan ikan. Penyimpangan fisiologis ikan akan menyebabkan terjadinya perubahan pada komponen-komponen darah sehingga perlu dilakukan pemeriksaan hematologi untuk mengetahui kondisi atau status kesehatan ikan (Angka et al. 2004).

Penelitian tentang infeksi *aeromonas hydrophila* dengan pengobatan bawang putih melalui perubahan hematologi sidat belum pernah dilakukan, oleh karena itu perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bawang putih, terhadap perubahan hematologi ikan sidat yang terinfeksi *aeromonas hydrophilla*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Ilmu Perikanan, Fakultas Kelautan dan Perikanan Universitas Udayana, menggunakan metode eksperimen dengan melakukan pengamatan perubahan hematologi ikan sidat *Anguilla bicolor* menggunakan lima perlakuan dengan tiga kali ulangan, yaitu : kontrol negatif (K-) merupakan ikan sidat yang disuntik dengan PBS; kontrol

positif (K+) adalah ikan sidat yang diinfeksi *A. hydrophila* dengan konsentrasi sebanyak 10⁵ cfu/ml secara intramuskuler sebanyak 0,1 ml/ekor tanpa diberikan pengobatan; perlakuan 1 (P1) merupakan pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 15 mg/ml; perlakuan 2 (P2) pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 25 mg/ml; perlakuan 3 (P3) pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 35 mg/ml. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Ikan sidat ukuran *fingerling* sebanyak 75 ekor dengan berat per ekor \pm 50 gram yang diperoleh dari BLUP-PB Karawang dan isolat murni bakteri *A. hydrophila* yang diperoleh dari Balai Karantina Ikan Pengendali Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Denpasar.

Ikan sidat diadaptasikan terhadap lingkungannya selama 3 hari dalam wadah yang dilengkapi dengan penutup waring dan dinding wadah dilapisi plastik hitam, dengan kepadatan 5 ekor/wadah. Selama masa adaptasi, ikan diberi pakan berupa pakan pasta. Sebelum diinfeksi, darah ikan sidat dianalisa terlebih dahulu untuk mengetahui parameter hematologi. Selanjutnya ikan sidat diinfeksi dengan bakteri *aeromonas hydrophila* sebanyak sebanyak 10⁵ cfu/ml, sesuai dengan dosis yang diperoleh berdasarkan Lethal Concentration (LC50) pada uji in vitro (Wahjuningrum (2007). Nilai LC50 adalah nilai yang dapat mematikan 50% jumlah ikan uji. Uji patogenitas dilakukan dengan cara menyuntikkan isolat murni dengan konsentrasi 10⁵ cfu/ml sebanyak 0.1 ml/ekor secara intramuskular. Ikan sidat yang telah disuntik selanjutnya dimasukkan kembali dalam wadah, dan dibiarkan selama 48 jam atau sampai tampak gejala klinis pada ikan. Setelah 48 jam atau pada saat ikan sidat memperlihatkan gejala klinis maka diambil sampel darah ikan menggunakan spuit yang didalamnya telah diisi EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan. Pengobatan dengan ekstrak bawang putih (konsentrasi 15 mg/ml, 25 mg/ml dan 35 mg/ml) dilakukan pada hari ke tujuh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Haematologi

Hasil analisis hematologi menunjukkan adanya perubahan yang signifikan pada beberapa nilai parameter hematologi. Hal ini menunjukkan

adanya perubahan kondisi fisiologis ikan sidat. Nilai parameter hematologi dipengaruhi oleh perubahan musim, adanya infeksi patogen maupun stress karena tekanan lingkungan yang tidak mendukung kehidupan ikan seperti adanya pencemaran maupun kualitas nutrisi yang diperoleh. Ikan sidat yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* menunjukkan peradangan pada kulit dan kerusakan jaringan (nekrosis), selanjutnya akan timbul kerusakan jaringan yang parah atau borok (Gambar 1).

Jumlah Leukosit

Jumlah leukosit ikan sidat setelah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan peningkatan yang sangat dratis pada semua perlakuan (K+), P1, P2 dan P3, dengan nilai tertinggi sebesar 82.523 ± 8.035 (sel/mm³) yang terjadi pada ikan sidat perlakuan 2 (P2). Shoemaker et al. (2012) melaporkan bahwa peningkatan jumlah leukosit dari ikan *channel catfish* disebabkan karena infeksi bakteri *Edwardsiella ictaluri* dan parasit *Ichthyophthirius*

multifiliis dengan jumlah leukosit tertinggi sebesar $91,1 \pm 67,1.103$ sel/mm³. Grafik perubahan jumlah leukosit pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2. Peningkatan jumlah leukosit yang tinggi karena infeksi bakteri menunjukkan terjadinya proses sistem pertahanan tubuh ikan sidat dalam menghadapi infeksi patogen.

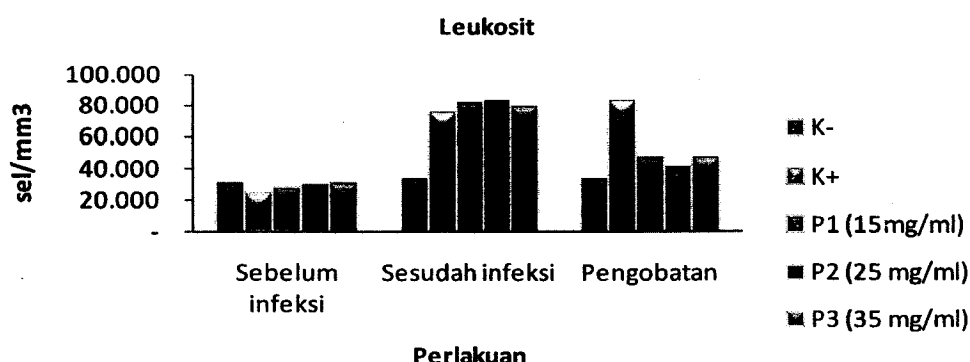
Pada perlakuan kontrol positif (K+) jumlah leukosit semakin tinggi karena tidak diberikan pengobatan dengan ekstrak bawang putih, sehingga ikan sidat terus meningkatkan sistem imun dari infeksi bakteri.

Eritrosit

Jumlah eritrosit ikan sidat sebelum diinfeksi bakteri *A. hydrophila* berada pada kisaran normal ikan sehat antara 1.960.000 – 2.476.733 sel/mm³. Menurut Roberts (1978), ikan sehat mempunyai jumlah eritrosit sebanyak 1.050.000 – 3.000.000 sel/mm³. Jumlah eritrosit mengalami penurunan setelah diinfeksi oleh bakteri yang menyebabkan terjadinya anemia (Gambar 3).



Gambar 1. Ekor dan sirip dada ikan sidat yang mengalami radang berwarna kemerahan yang memperlihatkan gejala terinfeksi bakteri *A. hydrophila*



Gambar 2. Grafik perubahan jumlah leukosit pada masing-masing perlakuan

Pengamatan secara mikroskopis leukosit dan eritrosit ikan sidat disajikan pada Gambar 4. Ukuran leukosit ikan sidat sebesar $\pm 8 \mu\text{m}$ sedangkan ukuran eritrosit ikan sidat $\pm 13,02 \mu\text{m}$. Menurut Hoffman (1977) leukosit terdiri dari neutrofil, monosit, limposit dan trombosit. Monosit pada ikan berbentuk oval atau bundar, berdiameter 8-15 μm , dengan nukleus oval berdekatan tepi sel dan mengisi sebagian isi sel dan terkadang inti juga terletak ditengah. Chinabut et al. (1991) menyatakan bahwa eritrosit ikan lele mempunyai inti dengan sel lonjong, berwarna merah kekuningan dan berukuran 12 – 13 μm dengan diameter 4 – 5 μm .

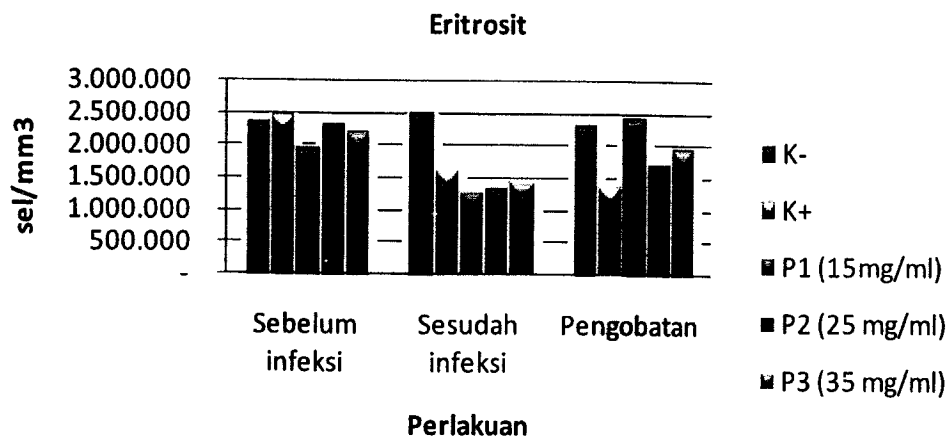
Kadar Hemoglobin

Hemoglobin dalam darah ikan teleostei berkisar antara 37 – 70 % (Lagler et al., 1977) dan ikan yang sehat memiliki hemoglobin yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan yang

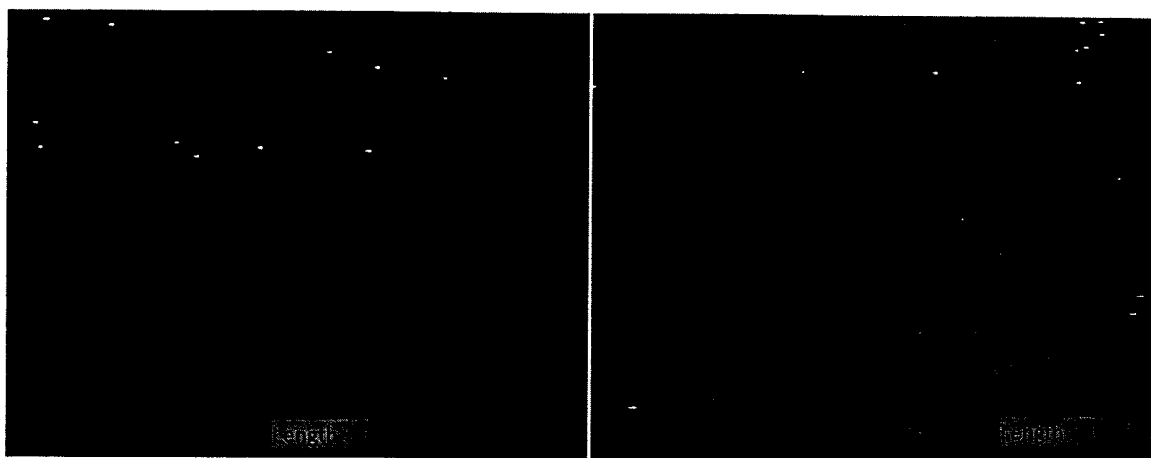
sakit. Kadar hemoglobin ikan sidat yang terinfeksi menunjukkan penurunan yang merupakan indikator anemia dan kadar oksigen dalam darah menurun. Setelah diberikan pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih terjadi peningkatan kadar hemoglobin (Gambar 5). Kadar hemoglobin terkait dengan jumlah sel darah merah, namun belum tentu berkorelasi sama dengan jumlah sel darah merah, dikarenakan hemoglobin merupakan kandungan pigmen sel darah merah. Hemoglobin adalah protein dalam eritrosit yang tersusun atas protein globin tidak berwarna dan pigmen heme yang dihasilkan dalam eritrosit dan kemampuan darah untuk mengangkut oksigen bergantung pada kadar Hb dalam darah (Lagler et al. 1977).

Kadar Hematokrit

Kadar hematokrit ikan sidat mengalami kenaikan setelah terinfeksi oleh bakteri



Gambar 3. Perubahan jumlah eritrosit pada masing-masing perlakuan

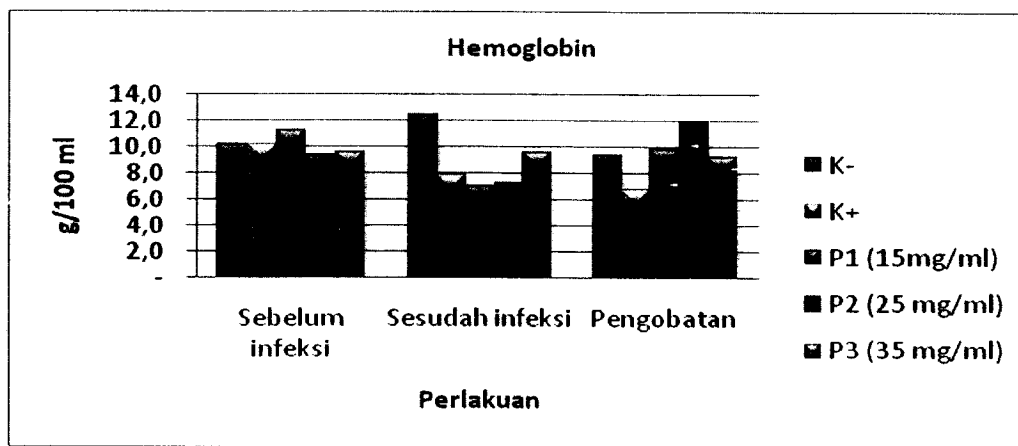


Gambar 4. Monosit (leukosit) dan eritrosit dan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

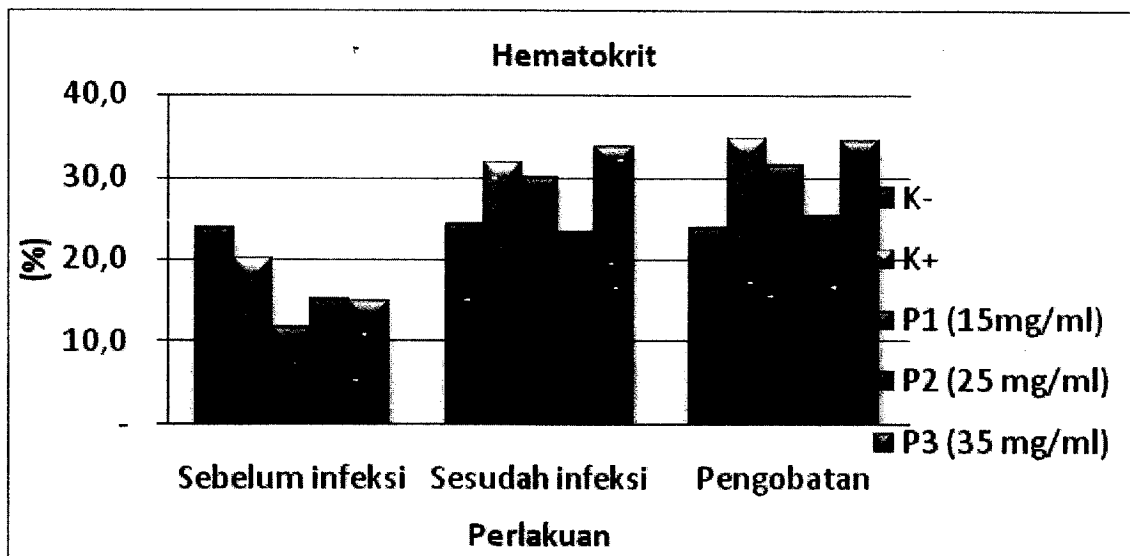
A. hydrophila. Setelah diberikan pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih, kadar hematokrit ikan sidat masih terjadi sedikit kenaikan. Hal ini menunjukkan ikan dalam kondisi stress. Perubahan kadar hematokrit dapat dilihat pada Gambar 6. Hematokrit merupakan perbandingan antara sel darah merah (eritrosit) dan plasma darah dan berpengaruh terhadap pengaturan sel darah merah. Peningkatan kadar hematokrit ini dipengaruhi oleh dua faktor yaitu perubahan parameter lingkungan terutama suhu perairan dan keadaan fisiologi ikan terkait dengan energi yang dibutuhkan (Jawad et al. 2004 dalam Marthen, 2005). Menurut Bond (1979) hematokrit ikan ber-

kisar antara 5 – 60%, ikan yang mengalami anemia kadar hematokritnya kurang dari 22% (Gallaugher et al., 1995). Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk untuk mengetahui apakah pakan memiliki kandungan protein yang rendah, defisiensi vitamin, atau ikan terkena infeksi sehingga nafsu makan menurun. Sedangkan meningkatnya kadar hematokrit dalam darah menunjukkan bahwa ikan dalam keadaan stress (Wedemeyer dan Yasutake, 1977).

Berdasarkan hasil analisis menggunakan uji F (Anova) menunjukkan bahwa semua perlakuan pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih P1 (15 mg/ml), P2 (25 mg/ml) dan P3



Gambar 5. Grafik perubahan kadar hemoglobin pada masing-masing perlakuan



Gambar 6. Perubahan kadar hematokrit pada masing-masing perlakuan

(35 mg/ml) berpengaruh secara nyata (signifikan) terhadap perubahan hematologi yang meliputi : jumlah leukosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit ($P < 0,05$). Namun perlakuan ekstrak bawang putih sebesar 15 mg/ml, 25 mg/ml, 35 mg/ml berbeda secara nyata dengan kontrol positif dan kontrol negatif dalam mempengaruhi penurunan jumlah leukosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan kadar hematokrit. Parameter hematologi disajikan pada Tabel 1.

Pengukuran Kualitas Air

Kisaran parameter kualitas air selama penelitian berlangsung relatif homogen antar perlakuan dan masih berada pada batas toleransi pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan sidat. Parameter kualitas air dapat dilihat pada Tabel 2. Parameter kualitas air yang diukur tiap hari adalah pH, oksigen terlarut (DO) dan suhu air yang dilakukan selama proses penelitian sebanyak dua kali perhari, yaitu pagi dan sore.

Tabel 1. Parameter Hematologi ikan sidat *A. bicolor*

| Perlakuan | Parameter | | | | |
|-----------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| | Leukosit (sel/mm ³) | Eritrosit (sel/mm ³) | Hemoglobin (g/100 ml) | Hematokrit (%) | |
| Sebelum infeksi | (K-) | 30.517 ± 10.250 | 2.380.033 ± 465.674 | 10,3 ± 2 | 23,9 ± 4,71 |
| | (K+) | 23.803 ± 5.626 | 2.476.733 ± 503.665 | 10,2 ± 1,9 | 20,1 ± 2,01 |
| | P1 (15mg/ml) | 27.600 ± 6.391 | 1.960.033 ± 575.790 | 11,3 ± 0,6 | 11,7 ± 1,53 |
| | P2 (25 mg/ml) | 29.600 ± 12.083 | 2.340.000 ± 70.000 | 9,3 ± 2,3 | 15,2 ± 3,86 |
| | P3 (35 mg/ml) | 31.067 ± 3.808 | 2.214.667 ± 402.027 | 9,6 ± 1,1 | 15 ± 5,34 |
| | Setelah infeksi | (K-) | 33.600 ± 6.062 | 2.516.667 ± 344.867 | 12,5 ± 6,6 |
| (K+) | | 74.800 ± 12.468 | 1.620.000 ± 105.357 | 7,8 ± 0,7 | 31,6 ± 2,87 |
| P1 (15mg/ml) | | 80.540 ± 15.768 | 1.286.667 ± 113.725 | 7 ± 1,1 | 29,9 ± 3,78 |
| P2 (25 mg/ml) | | 82.523 ± 8.035 | 1.376.667 ± 275.015 | 7,3 ± 2,5 | 23,3 ± 3,26 |
| P3 (35 mg/ml) | | 78.893 ± 11.716 | 1.445.000 ± 235.060 | 9,6 ± 2 | 33,6 ± 4,67 |
| Pengobatan | | (K-) | 33.337 ± 5.079 ^a | 2.316.667 ± 587.566 ^{ab} | 9,3 ± 1,9 ^{ab} |
| | (K+) | 82.890 ± 6.370 ^b | 1.363.333 ± 237.136 ^a | 6,8 ± 0,3 ^a | 34,6 ± 2,27 ^b |
| | P1 (15mg/ml) | 47.100 ± 5.458 ^a | 2.453.333 ± 482.113 ^b | 9,9 ± 0,6 ^b | 31,3 ± 4,46 ^{ab} |
| | P2 (25 mg/ml) | 40.350 ± 9.950 ^a | 1.720.000 ± 285.832 ^{ab} | 12 ± 1,2 ^b | 25,3 ± 2,98 ^a |
| | P3 (35 mg/ml) | 47.000 ± 5.992 ^a | 1.963.333 ± 225.019 ^{ab} | 9,3 ± 0,3 ^{ab} | 34,3 ± 1,35 ^a |

Mean Value ± Standart Deviation; a,b Angka-angka pada urutan baris yang sama dalam satu kolom diikuti dengan huruf (superscrip) yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji F)

Tabel 2. Parameter Kualitas Air

| Parameter Kualitas Air | Kontrol | | | Perlakuan 1 | | | Perlakuan 2 | | | Perlakuan 3 | | |
|------------------------|---------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| pH | 8,3 | 8,6 | 8,7 | 8,7 | 8,2 | 8,5 | 8,6 | 8,9 | 8,6 | 8,6 | 8,6 | 8,6 |
| DO (ppm) | 8,2 | 8,3 | 9,1 | 8,1 | 8,2 | 8,1 | 7,9 | 7,7 | 7,8 | 8,1 | 8,1 | 8,4 |
| Suhu (° C) | 24,9 | 24,6 | 24,5 | 22,6 | 23,5 | 24,7 | 24,7 | 23,5 | 23,6 | 24,6 | 24,3 | 23,3 |

KESIMPULAN

1. Terjadi perubahan hematologi ikan sidat setelah diinfeksi bakteri *aeromonas hydrophila*, yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah eritrosit, penurunan kadar hemoglobin dan terjadi peningkatan jumlah leukosit
2. Pengobatan menggunakan ekstrak bawang putih dengan dosis yang berbeda berpengaruh secara nyata (signifikan) terhadap hematologi ikan sidat, yang meliputi : jumlah leukosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit.
3. Dosis ekstrak bawang putih sebesar 15 mg/ml, 25 mg/ml, 35 mg/ml tidak berbeda secara nyata dalam mempengaruhi jumlah leukosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit
4. Namun perlakuan ekstrak bawang putih sebesar 15 mg/ml, 25 mg/ml, 35 mg/ml berbeda secara nyata dengan kontrol positif dan kontrol negatif dalam mempengaruhi jumlah leukosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit

DAFTAR PUSTAKA

- Chinabut S, Limsuwan C and Kitsawat P. 1991. Histology of the Walking Catfish (*Clarias batrachus*). Departemen of Fisheries Thailand. Thailand. 96p.
- Jakob E, Hanel R, Klimpel S, Zumholz K. 2009. Salinity dependence of parasite infestation in the european eel *Anguilla anguilla* in northern Germany. ICES Journal of Marine Science. 66:358-366.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2014. Tinggi, Permintaan Ikan Sidat. <http://www.djpb.kkp.go.id/berita.php?id=1091>
- Lagler, K.F., J.E. Bardach, R.R. Miller dan D.R. Passino. 1977. Ichthyology. New York. John Willey and Sons Inc. 506 hal.
- Marthen, DP. 2005. Gambaran Darah Ikan Nila *Oreochromis sp.* yang diberi Pakan Lemak Patin sebagai Sumber Lemak dalam Pakan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Roberts RJ and RH Richards. 1978. The Bacteriology of Teolost in Fish Pathology. Roberts RJ, editor. Bailliere Tindal Book Publ, London. Hlm 205-318.
- Robin, 2012. Potensi dan Permasalahan Pengembangan Budidaya Ikan Sidat. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Shoemaker, C., et al. 2012. Effect of *Ichthyophthirius multifiliis* parasitism on the survival, hematology and bacterial load in channel catfish previously exposed to *Edwardsiella ictaluri*. Parasitol Res (2012) 111:2223-2228. DOI 10.1007/s00436-012-2988-5. Springer-Verlag
- Wahjuningrum, D., E.H. Solikhah, T. Budiardi, dan M. Setiawati. 2007. Pengendalian Infeksi *Aeromonas hydrophilla* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) Dengan Campuran meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) Dalam Pakan. Jurnal Akuakultur Indonesia 9(2), 93 - 103.
- Wedemeyer GA and WT Yasutake. 1977. Clinical Methods for the Assessment of the Effect Environment Stress on the Fish Health. Technical Papers of the US Fish and Wildlife Service. US Depart of the Interior Fish and Wildlife Service. 89:1-17p
- Yuhana, M., Nirmalina, Sukendra. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Putih *Allium sativum* untuk Pencegahan dan Pengobatan pada Ikan Patin Pangasionodon *Hypophthalmus* Yang Diinfeksi *Aeromonas Hydrophila*. Jurnal Akuakultur Indonesia, 7(1): 95-107 (2008).