

**PERUBAHAN HEMATOLOGI DAN JARINGAN IKAN
LELE DUMBO *Clarias gariepinus* YANG DIINFEKSI
CENDAWAN *Aphanomyces* sp.**

Dayat Bastiawan^{*)}, Taukhid^{*)}, Mohamad Alifuddin^{**)}
dan Tri S. Dermawati^{***)}

ABSTRAK

Tujuh puluh ekor lele dumbo dikerok bagian punggungnya, spora cendawan *Aphanomyces* sp. diinfeksi dengan kepadatan 200 spora/ml. Setiap dua hari sekali dilakukan pengambilan sampel untuk pembuatan histologi dan pengamatan perubahan gambaran darah meliputi: kadar hematokrit, haemoglobin, jumlah eritrosit dan diferensiasi leukosit meliputi limfosit, monosit dan neutrofil.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa nilai-nilai hematokrit, haemoglobin dan jumlah leukosit menurun sampai hari ke-10, dan meningkat lagi mulai hari ke-12. Limfosit jumlahnya menurun sampai hari ke-14, sedangkan monosit dan neutrofil menaik.

Ikan uji yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces* sp. menunjukkan gejala klinis adanya warna kemerahan pada organ kulit yang terus berkembang menjadi luka yang semakin lebar dan dalam.

Hasil pemeriksaan histologi menunjukkan luka di luar diikuti dengan adanya degradasi lapisan epidermis, dan terbentuknya sel granuloma pada lapisan otot. Ikan uji mulai hari ke-10 menunjukkan adanya pemulihan secara fisiologis, dan mulai hari ke-19 terjadi pemulihan fisik.

ABSTRACT: *Haemathologic and Hithology Changes of Dumbo catfish (Clarias gariepinus) Infected by Aphanomyces sp. By: Dayat Bastiawan, Taukbid, Mobamad Alifuddin and Tri S. Dermawati.*

Seventy dumbo catfish (*Clarias gariepinus*) abraded laterally and infected by 200 spores/ml of *Aphanomyces* sp. The observation were carried out every 2 days after infection for histology and haematologic changes consist of: hematocryte, haemoglobine, erythrocyte, lymfocyte, monocyte and neutrophile.

The result showed that hematocryte, haemoglobine and erythrocyte decreased until 10th day, and increased on 12th day. Lymfocyte decreased until 14th day, and increased after that, but monocyte and neutrophile increase until 14th day.

Red haemorrhagic lesion was observed at the site of abradation of almost all the experimnt fish 2 days after infected. Histological examination showed the degradation of epidermis, and many granulomas cell in musculature.

KEYWORDS: *Clarias, infection, haemathologic, Aphanomyces sp.*

^{*)} Peneliti Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Sukamandi

^{**)} Pengajar Fakultas Perikanan, IPB Bogor

^{***)} Mahasiswa Fakultas Perikanan, IPB Bogor

PENDAHULUAN

Pada tahun 1984 cendawan *Aphanomyces* sp. diketahui telah menjadi penyebab wabah penyakit EUS (*Epizootic Ulcerative Syndrome*) di Kalimantan Timur, keberadaannya berhasil dideteksi secara histologi dari sampel ikan gabus (*Ophiocephalus* spp.) dan ikan lele (*Clarias* sp.) (Rukyani, 1994). Hasil isolasi dari *ulcer* ikan lele serta beberapa karakterisasi menunjukkan bahwa status *Aphanomyces* sp. dalam penyakit EUS pada ikan lele dumbo merupakan *primary pathogen* (Bastiawan dan Taukhid, 1995). Sedangkan pada penelitian EUS di Philipina, *Fish Health Section of The Bureau Fisheries and Aquatic Resources* berhasil mengisolasi cendawan patogen yang diduga *Aphanomyces* sp. dari luka ikan yang diserang penyakit (Catap dan Paclibare, 1994).

Terjadinya *epizootic* infeksi *Aphanomyces* sp. pada budidaya ikan ayu (*Plecoglossus altivelis*) di Jepang ditemukan pertama kali oleh Egusa dan Madusa (Hatai, 1994). Sejak saat itu infeksi oleh *Aphanomyces* sp. terjadi setiap tahun. Pada hampir semua kasus menunjukkan tanda-tanda klinis dari ikan yang terinfeksi yaitu mempunyai satu atau beberapa luka dengan noda merah di permukaan tubuh saat terjadinya pertumbuhan cendawan dalam otot. Pada beberapa kasus, luka ikan yang terinfeksi keadaan luarnya menunjukkan beberapa gejala termasuk bengkak, erosi dan borok.

Pada ikan lele dumbo, *Aphanomyces* sp. parasitik merupakan patogen primer dalam EUS, yang menyebabkan kerusakan jaringan. Akibat invasi cendawan tersebut, menunjukkan gejala spesifik yang ditandai dengan adanya sel *granuloma* dengan hifa *Aphanomyces* sp. di bagian sentral (Bastiawan dan Taukhid, 1995).

Salah satu aspek dari infeksi adalah terjadinya perubahan gambaran darah. Pada ikan yang terinfeksi terjadi perubahan kandungan haemoglobin, jumlah sel darah putih dan sel darah merah (Lagler *et al.*, 1977). Hesser (1960) menyatakan bahwa susunan darah ikan merupakan faktor penting dalam diagnostik, prognosis dan terapi suatu penyakit. Selanjutnya Snieszko (1960) dalam Primandaka (1992) menyatakan bahwa kadar hematokrit dapat menunjukkan berkurangnya sel darah merah (anemia). Amlacher (1970) menyatakan, bahwa darah mengalami perubahan yang sangat serius khususnya bila terkena infeksi. Roberts (1978) menyatakan bahwa leukosit secara aktif bergerak melalui dinding kapiler untuk memasuki jaringan yang terkena infeksi.

Hasil pemeriksaan darah dapat digunakan sebagai indikator keparahan suatu penyakit tertentu (Sastradipradja *et al.*, 1989). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada gambaran darah dan jaringan ikan lele dumbo yang diinfeksi dengan cendawan *Aphanomyces* sp.

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan uji, isolat murni cendawan *Aphanomyces* sp. dan bahan untuk pengukuran kadar haemoglobin, jumlah eritrosit dan leukosit. Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele dumbo berukuran rata-rata 30-50 gram per ekor sebanyak 70 ekor.

Sebelum digunakan isolat murni cendawan *Aphanomyces* sp. ditanam pada media *Glucosa Yeast Agar* (GYA) selama 4 hari, kemudian dipindahkan pada media cair *Glucosa Yeast* (GY) dengan cara memotong ujung hifa pada media agar sebesar 0,5 cm x 0,5 cm yang disebut mat dan dibiarkan selama 3 hari. Untuk menghasilkan spora dari hifa, cendawan yang ditanam pada media cair GY diambil dan dicuci dengan menggunakan akuades steril. Kemudian dimasukkan dalam kotak plastik berlubang sebanyak 4 mat. Kotak plastik berlubang berisi mat ini dimasukkan ke dalam akuarium yang berisi ikan. Kepadatan spora yang digunakan untuk menginfeksi ikan adalah 200 spora/ml.

Akuarium yang dipakai berkapasitas 40 liter, bagian atas akuarium ditutup dengan plastik tebal, dengan tujuan agar ikan yang dipelihara tidak meloncat keluar. Ikan uji diinfeksi secara buatan dengan cara dilukai bagian permukaan tubuhnya (organ kulit) sebesar 1 cm². Pembuatan lukanya adalah dengan cara pengerokan menggunakan pisau bedah. Pengerokan dilakukan agar spora cendawan dapat dengan cepat menyerang tubuh ikan.

Pengamatan dilakukan dua hari sekali mulai ikan diinfeksi spora dengan mengamati gejala klinis yang terdapat pada ikan uji serta dilakukan pengambilan sampel untuk pembuatan histologi dan mengamati gambaran darah ikan yang terinfeksi *Aphanomyces* sp.

Darah diambil dari *arteri caudalis* dengan memotong bagian batang ekor menggunakan pisau bedah yang steril. Jumlah ikan yang diambil pada setiap sampling adalah 5 ekor. Dalam pengambilan darah melalui pemotongan pangkal ekor ini digunakan larutan Na-Sitrat 3,8% sebagai antikoagulan (zat pencegah pembekuan darah). Darah yang diperoleh segera ditampung pada mikrotiter *plate* yang sebelumnya telah dibasahi dengan Na-Sitrat 3,8%. Pemberian Na-Sitrat pada darah dilakukan bersamaan dengan jatuhnya tetesan darah ke dalam mikrotiter *plate* dengan perbandingan darah: Na-Sitrat 3,8% sebanyak 4 : 1. Selanjutnya dilakukan pengamatan kadar hematokrit, Hb darah, penghitungan jumlah eritrosit serta pembuatan preparat ulas darah untuk diferensiasi leukosit. Untuk pengukuran kadar hematokrit, darah langsung diambil dengan tabung mikrohematokrit berlapis heparin.

Pengukuran kadar hematokrit menggunakan tabung mikro hematokrit yang berupa pipa kapiler berlapis heparin. Darah dihisap dengan menggunakan pipa hematokrit dengan sistem kapiler. Setelah kira-kira mencapai kurang lebih 3/4 bagian pipa, ditutup dengan bahan penutup (*critoseal*) (Angka *et al.*, 1985).

Pipa kapiler yang berisi darah kemudian dipusing dengan kecepatan putaran 1500 rpm selama 5 menit. Pengukuran dilakukan dengan membandingkan bagian darah yang mengendap dengan seluruh bagian darah yang ada dalam tabung mikrohematokrit.

Pengukuran kadar haemoglobin dilakukan dengan metode Sahli. Metode ini didasarkan atas konversi Hb darah ke dalam bentuk asam hematin oleh asam klorida (Hesser, 1960). Pembacaan skala dilakukan dengan melihat permukaan cairan dan dicocokkan dengan skala tabung Sahli yang dilihat pada skala jalur g%, yang berarti banyaknya haemoglobin dalam gram per 100 ml darah.

Penghitungan jumlah sel darah merah dilakukan dengan cara mengencerkan darah dengan menggunakan larutan Hayem dalam pipet pencampur berskala maksimum 101. Penghitungan sel darah dilakukan di bawah mikroskop dengan menggunakan *haemocytometer* tipe *Neubauer* (Husein, 1993).

Pengamatan diferensiasi leukosit dilakukan untuk menentukan persentase tiap macam leukosit yang ada dalam darah. Pengamatan diferensiasi leukosit dilakukan dengan mengamati preparat ulas darah di bawah mikroskop.

Perkembangan luka pada ikan perlakuan diamati setiap hari dan untuk mengetahui perubahan jaringan diambil sampel untuk pembuatan histofat menggunakan 5 ekor ikan sampel bekas pemeriksaan darah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penginfeksian ikan lele dumbo dengan cendawan *Aphanomyces* sp. menyebabkan terjadinya luka yang ditandai dengan terlihatnya warna kemerahan pada organ kulit mulai hari ke-2 setelah infeksi. Warna kemerahan ini berkembang menjadi luka yang berwarna merah kekuning-kuningan pada lingkaran luar dan berwarna merah cerah pada daerah pusat luka yang semakin lebar dan dalam. Pada hari berikutnya yaitu pada hari ke-8 sampai ke-10 luka menjadi semakin lebar dan dalam yang terkadang tulang-tulangannya terlihat jelas dan hal ini menyebabkan kematian sejumlah 8 ekor ikan (11,4%).

Hal yang sama juga terlihat pada ikan *Carassius auratus* yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces* sp. menunjukkan gejala warna kemerahan, sisik tanggal, erosi dan luka (Hatai *et al.*, 1994). Respon nafsu makan ikan uji cenderung mulai berkurang sejak infeksi dilakukan. Berkurangnya nafsu makan ikan berlangsung sampai pada hari ke-10, ikan terlihat diam di dasar akuarium dan ada beberapa ikan yang menggantung di bawah permukaan air serta ada juga yang mati. Kemudian pada hari berikutnya nafsu makan ikan mulai meningkat. Menurut Bastiawan dan Taukhid (1995) perkembangan luka pada ikan lele dumbo yang cepat dari stadia awal ke stadia berikutnya serta kerusakan jaringan yang terjadi akibat invasi cendawan hingga mengakibatkan kematian, menunjukkan bahwa patogenitas *Aphanomyces* sp. parasitik cukup tinggi.

Pada saat terjadinya luka pada tubuh ikan, ternyata terjadi penurunan nilai-nilai hematokrit, haemoglobin dan jumlah eritrosit sampai hari ke-10 dibandingkan dengan ikan sebelum diinfeksi. Sehingga dalam kondisi seperti itu dapat dikatakan ikan menderita anemia. *Figure 1* menunjukkan bahwa nilai hematokrit pada saat terjadinya luka menurun dari 34,2% menjadi 22,1% seiring dengan perkembangannya luka akibat infeksi. Hal ini terjadi karena pada stadia awal perkembangan luka, terjadi pendarahan lewat luka akibat dari pembuluh darah ikan yang pecah sehingga darah yang berasal dari pembuluh darah berkurang. Hal lain yang menyebabkan rendahnya nilai hematokrit kemungkinan adalah organ *hematopoietic* tidak dapat memproduksi darah lebih banyak untuk mengganti darah yang keluar lewat luka. Smith *dalam* Primandaka (1992) menyatakan bahwa sel darah di produksi di ginjal dan limpa. Selanjutnya Ferguson *dalam* Primandaka (1992) menyatakan bahwa penyakit seperti IHN (*Infectious Hematopoietic Nekrose*) mengakibatkan produksi darah di limpa tidak dapat mengimbangi hilangnya eritrosit karena hemoragi. Sedangkan menurut Roberts *et al.* (1993), serangan hifa *Aphanomyces sp.* pada ikan *Channa striatus* bisa sampai ke ginjal dan organ viseral lainnya. Pada hari ke-12 nilai hematokrit kembali meningkat menjadi 28,6% meskipun nilai ini masih jauh di bawah sebelum diinfeksi (34,2%). Kondisi ini disebabkan oleh perdarahan dari luka mulai berkurang dan menunjukkan luka mulai menutup.

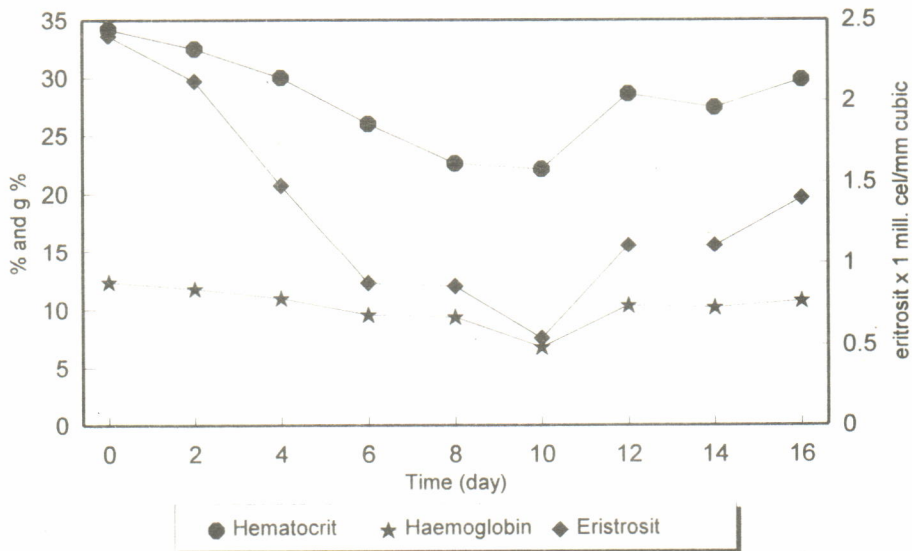


Figure 1. Haemathologic changes of Dumbo catfish infected by Aphanomyces sp.

Haemoglobin berfungsi mengikat oksigen yang kemudian akan digunakan untuk proses katabolisme sehingga menghasilkan energi (Lagler *et al.*, 1977). Kadar haemoglobin ikan lele dumbo menurun bersamaan dengan terjadinya

luka. Nilai kadar haemoglobin terendah tercapai pada pengamatan hari ke-10 yaitu 6,8 gr %. Rendahnya kadar haemoglobin ini menyebabkan kemampuan untuk mengikat oksigen menjadi berkurang dan laju metabolisme menjadi rendah yang mengakibatkan energi yang dihasilkannya juga rendah. Keadaan ini menyebabkan kondisi ikan menjadi lemah dan nafsu makannya berkurang serta terlihat diam di dasar akuarium. Pada kadar haemoglobin terendah bahkan mengakibatkan ikan banyak yang menggantung di bawah permukaan air dan ada beberapa yang mati.

Jumlah eritrosit ikan lele dumbo mulai terlihat nyata penurunannya pada pengamatan hari ke-4 yaitu $1,48 \times 10^6$ sel/mm³ yang terus menurun sampai $0,54 \times 10^6$ sel/mm³ pada pengamatan hari ke-10. Penurunan jumlah eritrosit ini kemungkinan disebabkan oleh pecahnya pembuluh darah yang mengakibatkan terjadinya luka dan organ hematopoietic yang tidak dapat mengimbangi hilangnya eritrosit karena perdarahan tersebut seperti halnya penurunan yang terjadi pada nilai hematokrit. Hatai *et al.* (1994) menemukan adanya cendawan *Aphanomyces* sp. yang diisolasi dari beberapa jaringan dan mengamati histologi dari jaringan otot, ginjal, *spinal cord* dan organ lain. Hal ini menunjukkan bahwa invasi hifa cendawan sering ditemukan pada organ tersebut. Keadaan tersebut kemungkinan juga terjadi pada ikan lele dumbo yang menyebabkan ginjal sebagai organ hematopoietic tidak mampu memproduksi eritrosit dalam jumlah yang banyak untuk mengimbangi eritrosit yang hilang melalui perdarahan.

Rendahnya nilai hematokrit, haemoglobin dan jumlah eritrosit ternyata ditemukan pula pada ikan lele dumbo yang disuntik dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Husein, 1993) dan ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) (Angka *et al.*, 1985). Hesser (1960) menyatakan parameter yang berpengaruh terhadap pengukuran volume eritrosit adalah hematokrit. Selanjutnya Sastradipradja *et al.* (1989) mengatakan bahwa hematokrit menyatakan persen volume eritrosit di dalam darah.

Nilai hematokrit ikan-ikan *teleost* berkisar antara 20-30% dan untuk beberapa spesies ikan laut bernilai sekitar 42% (Bond, 1979). Nabib dan Pasaribu (1989) menyatakan bahwa hematokrit di bawah 30% menunjukkan defisiensi eritrosit. Siakpere (1985) mendapatkan nilai hematokrit rata-rata bagi *Clarias isheriensis* adalah 31,62%. Angka *et al.* (1985) menyatakan bahwa persentase hematokrit ikan lele (*Clarias batrachus*) normal adalah sebesar 30,8-45,5%, sedangkan ikan lele yang terserang *ulcer* mempunyai kadar hematokrit sebesar 34,4-48,2%, dan ikan lele yang berpunggung bengkok mempunyai kadar hematokrit sebesar 38,1-49,3%.

Jenis leukosit yang diamati pada diferensiasi leukosit dari ikan uji adalah limfosit, monosit dan neutrofil. Ketiga jenis leukosit tersebut ternyata menunjukkan perubahan seperti terlihat pada *Figure 2*.

Leukosit berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh ikan, yang bereaksi terhadap gangguan dari luar termasuk infeksi patogen (Moyle dan Cech, 1988).

Ada beberapa leukosit pada ikan dan mempunyai peran yang berbeda. Jenis leukosit dari ikan lele dumbo yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces* sp. menunjukkan persentase yang sudah berubah. Jenis leukosit tersebut adalah limfosit, monosit dan neutrofil.

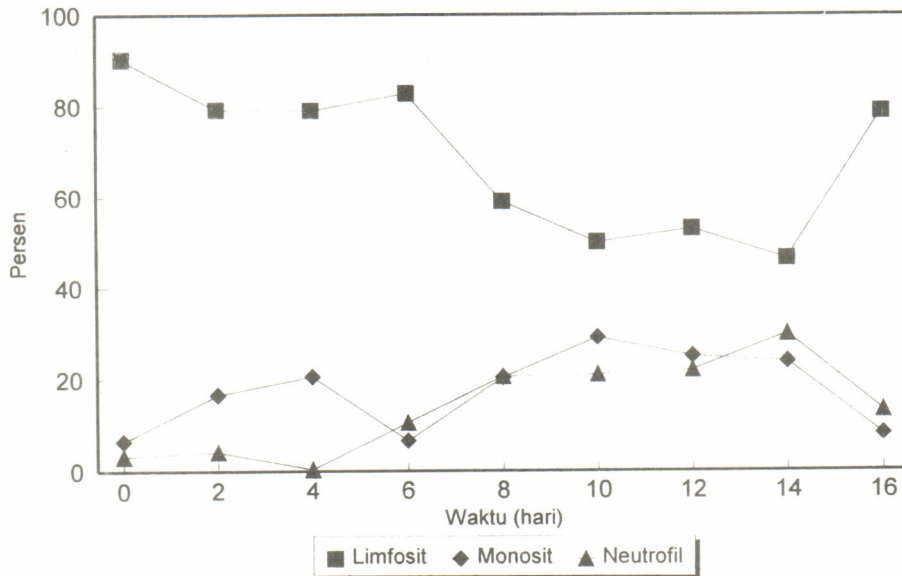


Figure 2. Leucocyte differentiation of Dumbo catfish infected by *Aphanomyces* sp.

Persentase limfosit ditemukan lebih tinggi dari monosit dan neutrofil dari awal sampai akhir pengamatan. Menurut Roberts (1978) jumlah limfosit dalam darah ikan lebih banyak dibandingkan pada mamalia. Hal ini didukung oleh Ferguson (1989) yang menyatakan bahwa proporsi jenis leukosit berbeda dalam darah tergantung pada spesiesnya, walaupun limfosit biasanya yang terbanyak. Dinyatakan oleh Moyle dan Cech (1988) bahwa limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit. Tingginya persentase limfosit ini kemungkinan disebabkan oleh meningkatnya produksi antibodi untuk meningkatkan kekebalan tubuh dari gangguan yang disebabkan oleh cendawan.

Monosit merupakan *macrophage* dan berfungsi sebagai fagosit terhadap benda-benda asing, termasuk agen penyakit (Moyle dan Cech, 1988). Meningkatnya persentase monosit pada darah ikan uji disebabkan adanya serangan cendawan *Aphanomyces* sp. dalam tubuh ikan yang mengakibatkan terjadinya pendarahan. Disebutkan oleh Moyle dan Cech (1988) bahwa proporsi monosit dalam populasi leukosit sedikit kecuali ada benda asing di dalam jaringan atau aliran darah. Hal ini didukung oleh Roberts (1978) yang menyatakan bahwa monosit ikan kira-kira 0,1% dari populasi leukosit, tetapi akan meningkat jumlahnya dalam waktu yang singkat (sekitar 48 jam) setelah infeksi dengan

benda asing seperti karbon. Disebutkan pula kemampuan monosit untuk memfagosit benda asing adalah terbatas. Dengan meningkatnya persentase monosit dalam darah ikan uji diduga karena adanya cendawan *Aphanomyces* sp. yang diinfeksi ke tubuh ikan dan masuk ke jaringan otot hingga menyebabkan perdarahan dan luka.

Neutrofil merupakan jenis leukosit yang pertama meninggalkan pembuluh darah karena mengandung vakuola yang berisi enzim dan digunakan untuk menghancurkan organisme yang dimakannya (Roberts, 1978). Dalam pengamatan, persentase neutrofil ditemukan dalam jumlah yang sedikit dibandingkan dengan persentase limfosit dan monosit. Menurut Ferguson (1989) neutrofil ditemukan pada inflamasi akut terutama pada tempat di mana jaringan mengalami kerusakan. Disebutkan pula oleh Roberts (1978), bahwa proporsi neutrofil dalam populasi leukosit rendah (sekitar 6-8%). Rendahnya persentase neutrofil dibandingkan persentase limfosit dan monosit diduga karena neutrofil berkumpul di tempat terjadinya pendarahan dan luka di samping memang persentase neutrofil yang rendah dalam populasi leukosit.

Dari hasil pemeriksaan histologi ternyata pada hari ke-2 terlihat mulai ada infeksi cendawan pada lapisan epidermis, sedangkan pada lapisan otot mulai terjadi pendarahan. Mulai hari ke-4 lapisan epidermis menghilang/rusak, tetapi pada bagian pinggir daerah luka mulai kelihatan adanya regenerasi sel, sedangkan pada lapisan otot mulai kelihatan adanya pembentukan sel granuloma dengan ketebalan 1 sel. Sel granuloma ini merupakan respon dari tubuh ikan untuk memblokir hifa yang tumbuh menembus jaringan otot. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hatai (1994), bahwa pada jaringan tubuh ikan yang terserang penyakit *Epizootic Ulcerative Syndrome* (EUS) akan kelihatan adanya hifa cendawan dan sel granuloma. Sedangkan pada jenis-jenis ikan lain yang telah diteliti ternyata sel granuloma yang disebabkan oleh cendawan ini ditemukan pada ginjal, hati dan saluran pencernaan (Chinabut, 1990). Perkembangan pembentukan sel granuloma kelihatan berkembang dengan penambahan lapisan sel sampai menjelang hari ke-16. Tetapi mulai hari ke-18 pada lapisan epidermis kelihatan adanya regenerasi sel yang mulai menutupi daerah bekas luka. Pada hari ke-19 dari sisa ikan yang masih hidup (17 ekor) terlihat terjadinya penyembuhan luka.

KESIMPULAN DAN SARAN

Perubahan hematologi yang terjadi pada ikan lele dumbo menunjukkan adanya pengaruh penginfeksi ikan oleh cendawan *Aphanomyces* sp. Keadaan ini disimpulkan dari hasil pengamatan terhadap nilai-nilai hematokrit, haemoglobin dan jumlah eritrosit yang mengalami penurunan selama terjadi pendarahan dan luka akibat infeksi. Selain itu didukung oleh bervariasinya persentase dari limfosit, monosit dan neutrofil sebagai akibat adanya reaksi dari darah karena ikan terinfeksi oleh patogen. Pada kondisi nilai hematokrit, haemoglobin dan jumlah eritrosit menurun, ikan menderita anemia. Perubahan lain yang terjadi adalah berubahnya persentase dari limfosit, monosit dan

neutrofil. Persentase tertinggi ditemukan pada limfosit dari awal sampai akhir pengamatan, sedangkan persentase terendah ditemukan pada neutrofil tetapi tidak berbeda jauh dengan persentase monosit.

Hasil pemeriksaan histologi menunjukkan luka di luar diikuti dengan adanya degradasi lapisan epidermis, dan terbentuknya sel granuloma pada lapisan otot.

Ikan yang terinfeksi cendawan *Aphanomyces* sp. mulai hari ke-10 menunjukkan adanya pemulihan secara fisiologis, dan mulai hari ke-19 terjadi pemulihan fisik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Sdr. Bambang Priyadi, Drh. Agus dan Sdr. Mariyono yang telah banyak membantu dalam penelitian ini. Penelitian ini merupakan bagian kegiatan dan dibiayai oleh dana ACIAR (Project No. 9130).

DAFTAR PUSTAKA

- Amlacher, E. 1970. Text Book of Fish Diseases. PD.A.T.F.H. Publication. New York. USA. 302 p.
- Angka, S.L., G.T.Wongkar and Karwani. 1985. Blood Picture and Bacteria Isolated from Ulcered and Crooked-Back *Clarias batrachus*. Symposium on Pract. Measures for Preventing and Controlling Fish Diseases. BIOTROP. 17 p.
- Bastiawan, D. dan Taukhid. 1995. Status dan Pathogenisitas *Aphanomyces* sp. (Oomycetes) Dalam Penyakit Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Kumpulan Makalah Lengkap, Kongres Nasional Perhimpunan Mikologi Kedokteran Manusia dan Hewan Indonesia I dan Temu Ilmiah, 21-24 Juli 1994. Hal 208-219.
- Bond, C.E. 1979. Biology of Fishes. Saunders College Publishing. Philadelphia. 514 p.
- Catap, E.S. and J.O.Paclibare. 1994. Isolation of Fungi from EUS Fish in the Philippines. ODA Regional Seminar on Epizootic Ulcerative Syndrome at The Aquatic Animal Health Research Institute Bangkok, Thailand 25-27 January 1994. 52 p.
- Chinabut, S. 1990. The histopathology of EUS in Asia. P.75. In Regional Research Programme on Relationships Between Epizootic Ulcerative Syndrome in Fish and the Environment. 13-26 August 1990. NACA, Bangkok.
- Ferguson, H.W. 1989. Systemic Pathology of Fish. Iowa State University Press, Ames, Iowa. p 3-10

- Hatai, K. 1994. Mycotic Granulomatosis in Ayu (*Plecoglossus altivelis*) due to *Aphanomyces piscicida*. ODA Regional Seminar on Epizootic Ulcerative Syndrome at The Aquat Animal Health Research Institute Bangkok, Thailand 25-27 January 1994. 52 p.
- Hatai, K., K.Nakamura, S.A.Rha, K.Yuasa and S.Wada. 1994. *Aphanomyces* sp. Infection in Dwarf Gourami (*Colisa lalia*). Journal of Fish Pathology 29(2): 95-99.
- Hesser, E.F. 1960. Methods for Routine Fish Hematology. Progressive Fish Culturist. 22: 164- 170.
- Husein, A. 1993. Gambaran Darah Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) yang Disuntik Bakteri *Aeromonas hydrophila* Galur Lemah (Sonifikasi) secara Intramuskuler. Skripsi. Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 69 h.
- Lagler, K.F., J.E.Bardach, R.R.Miller and D.R.M. Passino. 1977. Ichthyology. John Willey and Sons.Inc. New York-London. 506 p.
- Moyle, P.B. and J.J.Cech, Jr. 1988. Fishes. An Introduction to Ichthyology. Prentice Hall, Inc. USA. 559 p.
- Nabib, R. dan F.H.Pasaribu. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 158 h.
- Primandaka, J.T. 1992. Pengaruh Penyuntikan Isolat Virulen *Aeromonas hydrophila* Secara Intramuskular Terhadap Gambaran Darah Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Ukuran Fingerling. Skripsi. Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor. 70 h.
- Roberts, R.J. (Ed). 1978. Fish Pathology. Balliere Tindall. London. 318 p.
- Roberts, R.J., L.G.Willoughby and S.Chinabut. 1993. Mycotic Aspects of Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) of Asian Fishes. Journal of fish Diseases 16: 169-183.
- Rukyani, A. 1994. Status of Epizootic Ulcerative Diseases in Indonesia. A Paper Presented at a Seminar on Research Progress on Epizootic Ulcerative Disease in Fishes, Bangkok 25-27 January 1994. 12 p.
- Sastradipradja, D., S.H.S. Sikar, R. Widjajakusuma, T. Ungerer, A. Maad, H.Nasution, R. Suriawinata dan R. Hamzah. 1989. Penuntun Praktikum Fisiologi Veteriner. Depdikbud, Dirjen Pendidikan Tinggi, PAU Ilmu Hayat, IPB. Bogor. 329 h.
- Siakpere, O.K. 1985. Haematological Characteristics of *Clarias fisheriensis*, Sydenham. J. Fish Biology. 27 (3): 259-264.