

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY DARI *Clinostomum complanatum* (DIGENEA: CLINOSTOMIDAE) PADA IKAN BETOK (*Anabas testudineus*) DI YOGYAKARTA, INDONESIA

Morina Riauwaty¹⁾, Kurniasih²⁾, Joko Prastowo³⁾, dan Windarti⁴⁾

¹⁾ Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau
Kampus Bina Widya km 12,5 Simpang Baru, Pekanbaru 28293, Telp.: (0761 63275)
E-mail: morinariauwaty@yahoo.co.id

²⁾ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna No.2, Karangmalang, Yogyakarta

(Naskah diterima: 23 Juni 2011; Disetujui publikasi: 29 November 2011)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui topografi permukaan *Clinostomum complanatum* (Digenea: Clinostomidae) yang menginfeksi ikan air tawar di Yogyakarta. Ikan betok (*Anabas testudineus*) diperoleh dari Kali Progo, Yogyakarta. Metaserkaria *Clinostomum complanatum* yang ditemukan di insang, dikeluarkan dengan menggunakan jarum dan diawetkan dalam etanol absolut. Pengamatan topografi permukaan tegument dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Data morfologi dianalisis secara deskriptif. Topografi tegument dari metaserkaria *Clinostomum complanatum* pada ikan betok menunjukkan adanya perbedaan struktur. *Oral sucker* terletak di ujung terminal, berbentuk elips dengan permukaan halus. *Ventral sucker* terletak dekat dengan *oral sucker*, berada di anterior dan memiliki papila sensoris, tetapi tidak memiliki spina. Permukaan tubuh cekung dan memiliki tonjolan yang tidak beraturan. Lubang ekskretori terletak di ujung posterior tubuh cacing.

KATA KUNCI: *Clinostomum complanatum*, *Anabas testudineus*, morfologi, SEM, Yogyakarta

ABSTRACT: *Scanning electron microscopy of Clinostomum complanatum (Digenea: Clinostomidae) from infected climbing gouramy (Anabas testudineus) in Yogyakarta, Indonesia. By: Morina Riauwaty, Kurniasih, Joko Prastowo, and Windarti*

The aim of the study was to determine the topography of Clinostomum complanatum (Digenea: Clinostomidae) infecting freshwater fishes in Yogyakarta. Climbing gouramy infected by Clinostomum complanatum were caught from Progo River of Yogyakarta. Excysted Clinostomum complanatum found in gills were aseptically taken using needle, preserved in absolute ethanol. Morphological examination was done with Scanning Electron Microscopy (SEM). Morphological data obtained was analyzed descriptively. Topography of the tegument of Clinostomum complanatum metacercariae collected from Climbing gouramy (Anabas testudineus) showed different structure. Oral sucker located at the terminal end, ellips, and smooth. The ventral sucker was close to oral sucker, anteriorly, had round sensory papillae without spinae. The body surface was concave, had distributed irregular protrusion. Excretory pore was at the posterior of the worm.

KEYWORDS: *Clinostomum complanatum*, *Anabas testudineus*, morphology, SEM, Yogyakarta

PENDAHULUAN

Clinostomiasis adalah salah satu penyakit pada ikan air tawar yang disebabkan oleh trematoda digenea *Clinostomum complanatum* dan dikenal dengan 'yellow grubs', ditandai dengan adanya tonjolan yang berisi metaserkaria berwarna kuning keputihan berbentuk elips atau nodul yang berdiameter 2 mm (Eiras *et al.*, 1999). Parasit ini bersifat zoonotik yang menyebabkan penyakit 'laryngo-pharyngitis' dan dapat mengakibatkan kematian pada manusia karena terjadi asphyxia (Chung *et al.*, 1995; Kifune & Kousaka, 1994; Shirai *et al.*, 1998). Tiewchaloern *et al.* (1999) menemukan kasus Clinostomiasis pada mata manusia. Infeksi *Clinostomum complanatum* pada ikan air tawar dapat mengakibatkan kematian ikan dan kerugian ekonomi (Kagei *et al.*, 1984). Di Indonesia, infeksi *Clinostomum* sp. pernah dilaporkan menyerang ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang dipelihara di sawah di wilayah Purwokerto, Jawa Tengah (Handajani & Samsundari, 2005).

Infeksi *Clinostomum complanatum* pada ikan menunjukkan perubahan tingkah laku, pertumbuhan terganggu, bobot badan menurun, kehilangan nafsu makan, frekuensi berenang menurun, warna tubuh pucat, berenang lambat, dan ikan akan mati bila ditransportasikan dalam jarak jauh (Lo *et al.*, 1982). Selama ini telah ditemukan beberapa ikan air tawar sebagai hospes intermedier *Clinostomum complanatum* seperti *Carassius carassius* (Chung *et al.*, 1995), *Cyprinus carpio* (Aohagi *et al.*, 1993), *Oreochromis niloticus* dan *Cobitis anguillicaudatus* (Dias *et al.*, 2006). Di Indonesia belum pernah dilaporkan adanya kasus akibat *Clinostomum complanatum*.

Penelitian tentang topografi permukaan *Clinostomum* pada ikan nila (*Tilapia nilotica*) dari Assiut telah dilaporkan oleh Marwan & Mohammed (2003). Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap Digenea dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) yaitu pada *Cryptocotyle lingua* (Koie *et al.*, 1977), *Cynodiplostomum azimi* (Khalil, 1990), *Procerovum varium* (Kurniasih, 1990), *Prohemistomum vivax* (Khalil & Helal, 1992) dan *Fasciola gigantica* (Dangprasert *et al.*, 2001). Penelitian untuk mengidentifikasi *Clinostomum* sp. dengan *Scanning Electron microscopy* (SEM) belum banyak dilakukan, terutama *Clinostomum* sp. yang berasal dari

Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui topografi permukaan dari *Clinostomum complanatum* pada ikan betok (*Anabas testudineus*) yang ditemukan di Yogyakarta, Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Ikan betok (*Anabas testudineus*) ditangkap dari Sungai Kali Progo, Yogyakarta menggunakan jaring dengan mata jaring 1,75 inci. Ikan yang tertangkap dimasukkan ke dalam ember yang telah diberi aerasi, dibawa ke laboratorium untuk diamati dan diidentifikasi (Saanin, 1984). Ikan sampel yang diamati berjumlah 10 ekor yang terinfeksi *Clinostomum complanatum* dengan ukuran panjang berkisar antara 9,3-13,8 cm dan bobot 18,34-37,12 g.

Pemeriksaan makroskopis dilakukan dengan melihat perubahan klinis dan patologis pada permukaan tubuh ikan. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan pada organ saluran pencernaan ikan. Kista yang ditemukan di insang ikan betok, dikeluarkan dengan jarum, lalu dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi garam fisiologis 0,9% dan diawetkan dalam etanol absolut untuk proses *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

Permukaan parasit diamati dengan *Scanning Electron Microscopy* dengan prosedur: metaserkaria *Clinostomum complanatum* yang telah difiksasi dalam etanol absolut dilakukan preparasi spesimen padat pada suhu 4°C. Proses preparasi spesimen terdiri atas 5 tahap. Tahap pertama, cacing dibersihkan dengan cara direndam kurang lebih 2 jam dalam *caccodylate buffer*, dilakukan agitasi selama 5 menit dalam *Ultrasonic cleaner*. Tahap kedua adalah prefiksasi dengan memasukkan sampel selama 2-3 jam ke dalam glutaraldehide 2,5%; kemudian tahap ketiga dilakukan fiksasi dengan merendam sampel selama 6 jam dalam tannin acid 2%, dicuci pertama selama 5 menit dengan *caccodylate buffer*, dan diulang sebanyak 4 kali. Pencucian kedua dilakukan selama 1 jam dengan osmium tetraoksida 1% dan pencucian ketiga selama 15 menit dengan akuades. Tahap keempat adalah dehidrasi dengan merendam sampel selama 5 menit dalam alkohol 50% dan diulang sebanyak 4 kali, alkohol 70%, 85%, dan 95% selama 20 menit, alkohol absolut selama 10 menit sebanyak 2 kali dengan suhu ruang. Tahap kelima adalah pengeringan dengan merendam sampel dalam

tertier butanol selama 10 menit sebanyak 2 kali, dibekukan dalam *freezer* dan dimasukkan ke *freezed drier* sampai kering. Setelah sampel kering maka sampel akan dilekatkan dalam *stube*, dilapisi tembaga dengan mesin *Ion Coates* selama 15 menit dan diamati dengan *Scanning Electron Microscope* model JSM 5310LV dan didokumentasi.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil penangkapan ikan air tawar dari Kali Progo, Yogyakarta diketahui terdapat 7 jenis ikan yaitu: ikan mas (*Cyprinus carpio*), lele (*Clarias batrachus*), nila (*Oreochromis niloticus*), baung (*Mystus nemurus*), gabus (*Channa striata*), sepat rawa (*Trichogaster trichopterus*), dan betok (*Anabas testudineus*). Dari 7 jenis ikan air tawar tersebut ditemukan hanya ikan betok yang terinfeksi metasekaria *Clinostomum complanatum*. Metasekaria *Clinostomum complanatum* yang telah keluar dari sista terlihat berwarna putih kekuningan, berbentuk seperti daun (Gambar 1).

Hasil pemeriksaan infestasi metasekaria *Clinostomum complanatum* pada ikan betok yang berasal dari Kali Progo, Yogyakarta diketahui bahwa dari 87 ekor ikan betok yang diperiksa terdapat 10 ekor ikan yang terinfeksi metasekaria *Clinostomum complanatum* dengan prevalensi sebesar 8,1%. Prevalensi metasekaria *Clinostomum complanatum* pada ikan betok jantan (51,7%) lebih tinggi daripada ikan betok betina (48,3%). Distribusi



Gambar 1. Metasekaria *Clinostomum complanatum* pada ikan betok (*Anabas testudineus*)

Figure 1. Metacercariae of *Clinostomum complanatum* on Climbing gouramy

metasekaria *Clinostomum complanatum* berdasarkan ukuran panjang badan ikan diketahui prevalensi terendah (1,2%) pada ukuran ikan di atas 13,8 cm; sedangkan tertinggi (49,4%) pada ukuran 9,3-11,5 cm. Bobot ikan betok jantan yang terinfeksi *Clinostomum complanatum* adalah 18,34-34,29 g dan bobot ikan betok betina adalah 20,20-37,12 g. Prevalensi metasekaria *Clinostomum complanatum* pada *Hoplias malabaricus* adalah 2,45% dan pada *Loricariichthys platymetopon* sebesar 60,8% dengan infestasi berkisar antara 1-2 ekor/lokasi (Dias *et al.*, 2003). Jumlah metasekaria *Clinostomum complanatum* pada *Capoeta capoeta gracilis* (Osteichthys: Cyprinidae) berkisar 1-60/ikan dan prevalensi pada ikan betina (54,4%) lebih tinggi dari ikan jantan (36,4%) (Malek & Mobedi, 2001). Metasekaria *Clinostomum complanatum* yang ditemukan pada ikan *Channa punctatus* betina sebanyak 50 ekor, sedangkan pada ikan jantan hanya 33 ekor. Infeksi *Clinostomum complanatum* pada *Aphanius dispar* (47,5%) betina lebih tinggi daripada ikan *Aphanius dispar* jantan (55,9%) (Firdaus, 1988).

Ikan betok yang terinfeksi *Clinostomum complanatum* yang berasal dari Yogyakarta, menunjukkan tanda-tanda klinis seperti warna tubuh pucat, produksi lendir banyak, sirip ekor, dada, punggung dan perut robek, ikan kehilangan selera makan, sisik rontok, dan ikan selalu berenang dekat permukaan air. Infestasi metasekaria *Clinostomum complanatum* pada insang ikan betok (*Anabas testudineus*) ditandai dengan insang membengkak dan berwarna pucat. Hal ini sesuai dengan pendapat Lacerda *et al.*, 2008; Mwita & Nkwengulila (2008), gejala klinis ikan yang terinfeksi *Clinostomum complanatum* adalah ikan menjadi letargik, tidak mau makan sehingga ikan menjadi kurus, kulit ikan kehilangan sisik pada perlekatan cacing, mengeluarkan lendir yang banyak, warna tubuh pucat, *ulcer*, sirip ekor rontok, operkulum tidak dapat menutup sempurna, dan ikan suka menggosokkan badannya ke dasar kolam atau ke benda-benda keras lainnya. Menurut Eiras *et al.* (1999), ikan yang terserang metasekaria *Clinostomum complanatum* ditandai dengan kehilangan nafsu makan, frekuensi berenang berkurang, dan ikan menjadi stres. Infeksi *Clinostomum complanatum* bobot pada insang dapat menyebabkan gangguan pernafasan, insang pucat, laju pernafasan

meningkat, dan ikan sering muncul di permukaan air untuk mendapatkan udara (Irianto, 2005). Sista *Clinostomum tilapiae* yang ditemukan pada kulit atau rongga tubuh ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat mengakibatkan iritasi pada kulit dan sekresi mukus yang berlebihan (Lo *et al.*, 1981).

Histopatologi tubuh ikan betok yang terinfeksi *Clinostomum complanatum* menunjukkan adanya perubahan degenerasi pada jaringan otot sekitar kista, atrofi, degenerasi hati, infiltrasi sel pada ginjal, hemoragik pada otot ikan, dan degenerasi hyalin dengan indikasi myositis pada tubuh ikan. Menurut Lo *et al.*, 1982, infeksi *Clinostomum complanatum* pada *Misgurnus anguillicaudatus* ditandai adanya atrofi otot, kerusakan yang serius pada jaringan ikan dan dinding tubuh serta akhirnya dapat menyebabkan kematian ikan. Infeksi metaserkaria *Clinostomum complanatum* pada kulit ikan *Tilapia* dapat mengakibatkan dermatitis, nekrosis insang, proliferasi eosinofil pada lamella sekunder (Garacia *et al.*, 1993). Infeksi metaserkaria *Clinostomum tilapiae* pada organ dalam menyebabkan lesu, dan proliferasi eosinofil pada insang dan kongesti kapiler dengan keberadaan melanomakrofag (Coulibay *et al.*, 1995). Infeksi metaserkaria *Clinostomum detruncatum* pada otot ikan air tawar (*Rhamdia quelen*) ditandai dengan degenerasi jaringan otot (Bello *et al.*, 2000).

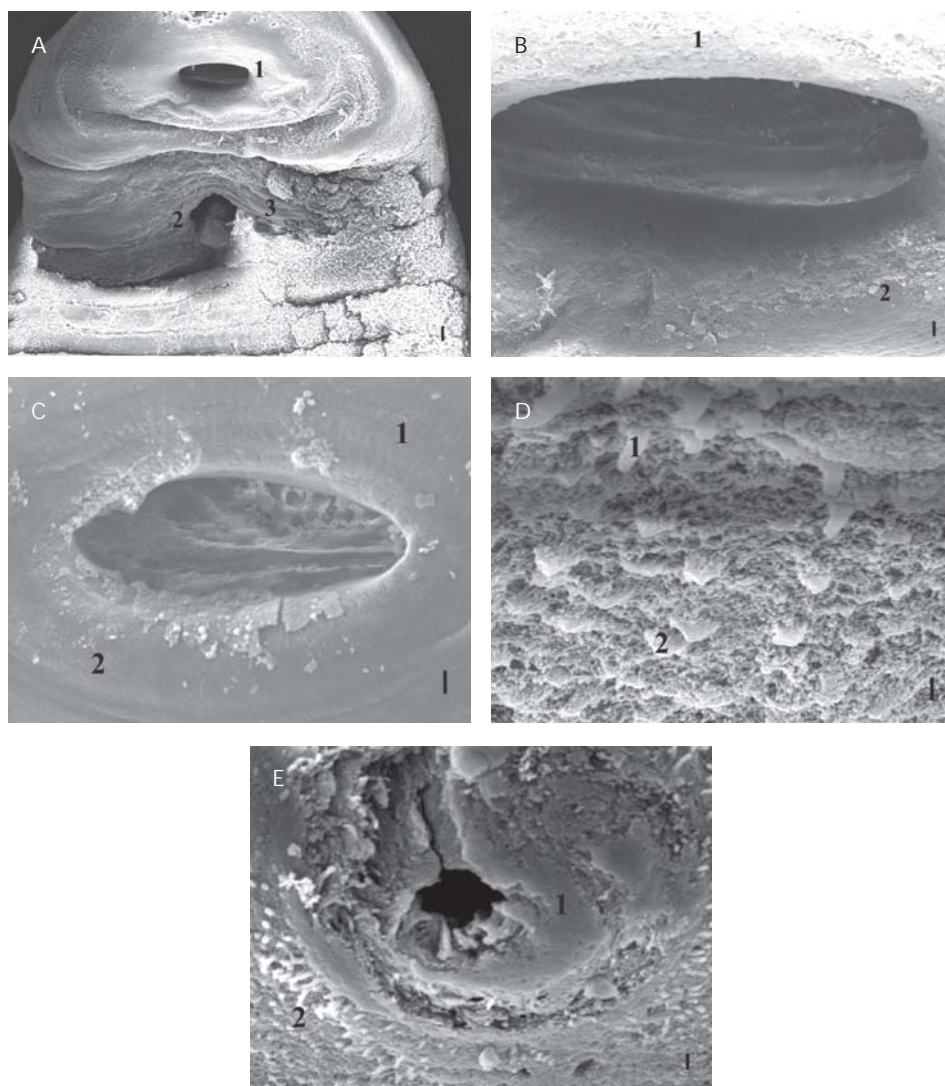
Metaserkaria yang dikeluarkan dari kista, berbentuk seperti daun dan pipih. Panjang metaserkaria sekitar 7,5 mm (6,5–8 mm) dan lebar 4,3 mm (4,1–5,2 mm). Hasil pengamatan dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) menunjukkan permukaan tubuh *Clinostomum complanatum* halus tanpa spina, dilengkapi dengan papila berbentuk bulat. *Oral sucker* terlihat di ujung terminal berbentuk elips dengan permukaan halus, berlekuk agak dalam (Gambar 2A). Ukuran panjang *oral sucker* 265 μm (260–300 μm) dan lebar 176 μm (170–225 μm). Jarak antara *oral sucker* dengan *ventral sucker* adalah 216 μm (210–225 μm) (Gambar 2B). Panjang *oral sucker* metaserkaria *Clinostomum complanatum* pada *Carassius auratus* di Korea berkisar 220–320 μm dan lebar berkisar 270–430 μm (Chung *et al.*, 1995). Menurut El-Naggar *et al.* (1993), *oral sucker* dari *Orientocreadium batrachoides* (Trematoda: Allocreadiidae) memiliki spina dan papila sensoris. Papila sensoris ini berfungsi sebagai tango-, mechano-, rheo-, dan chemoreseptor

(Smyth & Halton, 1983). Permukaan tegument trematoda memiliki fungsi untuk absorpsi, alat pelindung dan kekebalan tubuh (Fried, 1997). *Oral sucker* metaserkaria *Clinostomum* yang ditemukan pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terletak di ujung terminal dengan lubang berbentuk elips dikelilingi dengan pelebaran dinding tubuh yang membentuk lipatan bulat dan tipis (Marwan & Mohammed, 2003).

Ventral sucker berada dekat *oral sucker* (216 μm), memiliki papila sensoris bulat tanpa spina. Di beberapa tempat lekukan ini membentuk struktur yang halus dan ada tonjolan kecil seperti nodul. Nodul ini memiliki papila sensoris yang berukuran kecil. *Ventral sucker* dikelilingi lipatan sirkuler, dan spina kecil, mikroporus di antara lipatan (Gambar 2C). Panjang *ventral sucker* metaserkaria *Clinostomum complanatum* yang ditemukan pada *Carassius auratus* di Korea berkisar 510–770 μm dan lebar berkisar 520–750 μm (Chung *et al.*, 1995). Menurut Dias *et al.* (2003), permukaan *ventral sucker* dari *Ichtyoclinostomum dimorphum* yang ditemukan pada burung *Ardea cocoi* memiliki dua struktur poligonal tegumental dan papila sensoris. Struktur *oral* dan *ventral sucker* pada *Neorilepturus aegyptensis* memiliki struktur yang serupa, sedangkan pada metaserkaria *Clinostomum complanatum* memiliki struktur yang sangat berbeda (Shalaby & Hassanine, 1996).

Dibagian akhir garis tengah tubuh di sepertiga anterior tubuh terdapat struktur spina yang berbeda (Gambar 2D). Permukaan dorsal memiliki banyak pori dan lubang yang terdistribusi di seluruh permukaan dorsal. Ujung terminal posterior tampak ada lubang ekskretori berbentuk bulat dikelilingi dengan lipatan (Gambar 2E). Lubang ekskretori *Clinostomum complanatum* berada di ujung posterior tubuh dan membuka ke arah dorsal, sedangkan pada *Orientocreadium batrachoides* terbuka ke arah ventral (Khalil, 1990).

Pada penelitian ini ditemukan bahwa permukaan ventral dan dorsal *Clinostomum complanatum* tidak memiliki spina, sedangkan pada *Prohemistomum vivax* (Khalil & Helal, 1992), *Orientocreadium batrachoides* (El-Naggar *et al.*, 1993) dan *Fasciola gigantica* mempunyai spina dengan ukuran bervariasi dan terdistribusi pada permukaan tubuh. Pada *Neorilepturus aegyptensis* tidak terdapat spina (Dangprasert *et al.*, 2001).



(2A) Scalebar: 1,76 mm. 1. Oral sucker, 2. Ventral sucker, 3. Papila sensoris; (2B) Oral sucker. Scalebar: 264 μ m. 1. Spina, 2. Lipatan; (2C) Ventral sucker. Scalebar: 377 μ m. 1. Spina, 2. Lipatan; (2D) Permukaan dorsal. Scalebar: 37,7 μ m. 1. Spina pendek, 2. Spina panjang; (2E) Lubang ekskretori. Scalebar: 176 μ m. 1. Lekukan dalam, 2. Papila panjang

Gambar 2. Permukaan tubuh *Clinostomum complanatum* pada ikan betok (*Anabas testudineus*) asal Yogyakarta

Figure 2. Body surface of *Clinostomum complanatum* on Climbing gouramy from Yogyakarta

KESIMPULAN

Oral sucker terletak di ujung terminal, berbentuk elips dikelilingi dengan lipatan dengan permukaan halus. *Ventral sucker* dekat dengan *oral sucker*, memiliki papila sensoris yang bulat tanpa spina. Permukaan dorsal

ditutupi spina. Lubang ekskretori terletak di ujung posterior tubuh.

SARAN

Penelitian yang lebih detail tentang topografi *Clinostomum* dari daerah lain di Indonesia perlu dilakukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Hibah Disertasi Doktor, yang dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Hibah Disertasi Doktor Nomor: 481/SP2H/PP/DP2M/VI/2010 Tanggal 11 Juni 2010.

DAFTAR ACUAN

- Aohagi, Y., Shibahara, T., Machida, N., Yamaga, Y., & Kagota, K. 1993. *Clinostomum complanatum* (Trematoda: Clinostomidae) in wild herons and egrets, Tottori Prefecture. *J. Wildl. Dis.*, 28: 470-471.
- Bello, A.R.R., Fortes, E., Klein, A.B., Bello, A.A., Llesuy, S.F., Robaldo, R.B., & Bianchini, A. 2000. Lipid peroxidation induced by *Clinostomum detrunctatum* in muscle of the freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Dis. of Aqua. Org.*, 42: 233-236.
- Chung, D., Kong, H.H., & Joo, C.Y. 1995. Demonstration of the second intermediate hosts of *Clinostomum complanatum* in Korea. *The Korean J. Parasitol*, 33(4): 305-312.
- Coulbaly, N.D., Salembere, S., & Bessin, R. 1995. Larval Clinostomiasis in cichlid fish in lake Kompeinga, Burkina Faso. A threat to fish and public health. *Francophones sante*, 5(3): 199-205.
- Dangprasert, T., Khawsuk, W., Meepool, A., Wanichanon, C., Viyanant, V., Upatham, E.S., Wongratanacheevin, S., & Sobhon, P. 2001. *Fasciola gigantica*: surface topography of the adult tegument. *J. Helminthol.*, 75(1): 43-50.
- Dias, M.L.G.C., Eiras, J.C., Machado, M.H., Souza, G.T.R., & Pavanelli, G.C. 2003. The life cycle of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1819. (Digenea, Clinostomidae) on the floodplain of the High Parana River, Brazil. *Parasitol. Res.*, 89: 506-508.
- Dias, M.L.G.G., Mente-Vera, C.V., Eiras, J.C., Machado, M.H., Souza, G.T.R., & Pavanelli, G.C. 2006. Ecology of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814 (Trematoda: Clinostomidae) infecting fish from the floodplain of the high Parana River, Brazil. *Parasitol. Res.*, 99: 675-681.
- Eiras, J.C., Dias, M.L.G.G., Pavanelli, G.C., & Machado, M.H. 1999. Histological studies on the effects of *Clinostomum marginatum* (Digenea, Clinostomidae) in its second intermediate host *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae) of the upper Parana River, Brazil. *Acta Scientiarum*, 21(2): 237-241.
- El-Naggar, M.M., Ibrahim, H.A., & Hamada, S.F. 1993. Scanning and transmission electron microscope observations on the general body tegument and ventral pads of the digenean *Orientocreadium batracoides* Tubangui 1931. *J. Egypt-Ger. Soc. Zool.*, 10: 245-264.
- Firdaus, S. 1988. Seasonal incidence of helminthic infection in relation to sex of host, *Chana punctatus* (Blockh). *Rivista di Parasitol.*, 3(47, 2): 215-20.
- Garacia, M.L.J., Osorio, S., & Constantino, F. 1993. Prevalence of parasites and the histological lesions the produce in Tilapia from Amela Lakes. Tecoman Colima. *Vet. Mex.*, 4(3): 199-205.
- Handajani, H. & Samsundari, S. 2005. Parasit dan Penyakit Ikan. Universitas Muhammadiyah Malang, 201 hlm.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, 255 hlm.
- Kagei, N., Yanohara, Y., Uchinawa, R., & Sato, A. 1984. On the yellow grubs, metacercariae of *Clinostomum complanatum* (Rudolphi, 1819), found in the cultured loach. *Japanese J. Parasitol.*, 33: 59-62.
- Khalil, A.I. 1990. Scanning Electron Microscopy of the tegumental surface of *Cynodiplostomum azimi* (Gohear, 1933) Dubois, 1936 (Trematoda) during development from metacercariae to adult. *Bull. Fac. Sci. Zagazig Univ.*, 12(2): 1,070-1,087.
- Khalil, A.I. & Helal, H.I.B. 1992. Scanning Electron Microscopy of the tegumental surface of adult *Prohemistomum vivax* (Sonsino, 1892) Azim, 1933 (Trematoda: Cyathocotylidas). *J. Egypt-Ger. Soc. Zool.*, 7: 459-473.
- Kifune, T. & Kousaka, M. 1994. The second case of human infection with *Clinostomum* (Trematoda: Clinostomidae) in Saga Prefecture. *Med. Bull. Fukuoka Univ.*, 21: 99-103.
- Koie, M., Nnsen, P., & Christensen, N.O. 1977. Stereoscan studies of rediae cercariae, cysts, excysted metacercariae and migratory stages of *Fasciola hepatica*. *Z. Parasitenkd.*, 54: 289-297.
- Kurniasih. 1990. *Life cycles of Haplorhynchine Heterophyd Trematodes*. Master's Thesis, University of Queensland. Australia.

- Lacerda, A.C.F., Takemoto, R.M., & Pavanelli, G. 2008. Digenea, Nematoda, Cestoda, and Acanthocephala, parasites in Potamotrygonidae (Chondrichthyes from the upper Parana River floodplain) states of Parana and Mato Grosso do Sul. Brazil. *Check list*, 4(2): 115-122.
- Lo, C.F., Huber, F., Kou, G.H., & Lo, C.J. 1981. Studies of *Clinostomum complanatum* (Rudolphi 1819). *Fish Pathol.*, 15: 219-227.
- Lo, C.F., Wang, C.H., Huber, F., & Lo, C.J. 1982. The study of *Clinostomum complanatum* (Rudolphi, 1819). II. CAPD Fisheries series No. 8. *Reports on Fish Disease Research*, IV: 26-56.
- Malek, M. & Mobedi, I. 2001. Occurance of *Clinostomum complanatum* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Clinostomatidae) in *Capoeta capoeta gracilis* (Osteichthys: Cyprinidae) from Shiroud River, Iran. *Iranian J. Publ. Health*, 30: 95-98.
- Marwan, A. & Mohammed, T.A. 2003. Scanning Electron Microscopy of *Clinostomum complanatum* metacercaria from *Oreochromis niloticus* from Assiut, Egypt. *Egyptian J. Biol.*, 5: 70-77.
- Mwita, C. & Nkwengulila, G. 2008. Determinants of the parasite community of clariid fishes from Lake Victoria, Tanzania. *J. Helminthol.*, 82: 7-16.
- Saanin, H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Jilid I dan II. Cetakan ketiga. Bina Cipta. Jakarta, 205 hlm.
- Shalaby, I.M.I. & Hassanine, R.M.A. 1996. *Neorilepturus aegyptensis* new genus, new species, (Platyhelminthes, Trematoda, Digenea) from Red Sea Fishes: light and scanning electron microscopy description of the tegumental surface. *J. Egypt-Ger. Soc. Zool.*, 12: 89-106.
- Shirai, R., Mathubara, K., Ohnishi, T., Nishiyama, H., Watanabe, A., Harada, R., Kaduta, J., & Kohno, S. 1998. A case of human infection with *Clinostomum* sp. *Kansenshogaku Zasshi*, 72(11): 1242-5.
- Smyth, J.D. & Halton, D.W. 1983. The physiology of trematodes, 2nd edn. Cambridge University Press. Cambridge.
- Tiewchaloern, S., Udomkijdech, S., Suvouttho, S., Chughamsri, K., & Waikagul, J. 1999. *Clinostomum* trematode from human eye. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 30(2): 382-384.