

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

**PROFIL DARAH IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) STRAIN
SULTANA, NIRWANA DAN LARASATI TERHADAP INFEKSI
Aeromonas hydrophyla
(*Blood Profile of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Strains Sultana, Nirwana and Larasati
against *Aeromonas hydrophyla* infection*)**

Rima Oktavia Kusuma*, Muh. Sulaiman Dadiono, Kasprijo, Muh. Nurhafid

*Program Studi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman
Jl. Dr. Suparno. Komplek GOR Susilo Sudarman Karangwangkal-Purwokerto 53122 Indonesia

*Corresponding Author, Email: rimaoktavia@unsoed.ac.id

ABSTRACT

Aeromonas hydrophyla is a gram negative bacteria, which often infects tilapia and causes internal damage to the liver, spleen and kidneys. Tilapia Sultana, Nirwana and Larasati are superior strains that have fast growth and are resistant to disease. This study was conducted to observe and compare the physiological response of the three strains to *Aeromonas hydrophyla* infection through blood profiles. The blood profile can describe the health status of the fish. The parameters of the blood profile observed were the number of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, blood glucose, lymphocytes and monocytes. The results showed that the erythrocytes, monocytes and polymorphonuclear counts of the three strains were significantly different, while for hemoglobin, hematocrit, glucose, and lymphocytes were not significantly different.

Keywords : *Aeromonas hydrophyla*, blood profile, *Oreochromis niloticus*

PENDAHULUAN

Ikan nila merupakan komoditi budidaya yang menjanjikan di Indonesia. Berbagai strain nila dikembangkan untuk memberikan sifat-sifat unggul seperti pertumbuhan cepat dan ketahanan penyakit. Ikan nila strain Sultana merupakan hasil seleksi famili dan perkawinan silang 43 strain nila (Ramadhan 2015), nila Nirwana merupakan nila hasil pengembangan dari Balai Pengembangan Benih Ikan Wanayasa yang terletak di Purwakarta, Jawa Barat, dan ikan nila Larasati merupakan nila hasil perkerayaan oleh PBIAT Janti, Klaten. Ikan ini merupakan persilangan antara nila hitam dengan nila merah (Dinas Perikanan, 2021)

Aeromonas hydrophyla termasuk kedalam bakteri gram negative yang bersifat pathogen yang sering menyerang ikan nila. Ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophyla*

menunjukkan gejala kehilangan nafsu makan, luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limfa (Qolbiyah, 2021). Tubuh ikan akan memberikan respon fisiologis apabila terjadi infeksi. Profil darah memiliki peran yang sangat penting dalam fisiologi dan aktifitas tubuh hewan (Azhari, 2020). Perubahan hematologi pada darah perifer dapat digunakan sebagai indikator adanya infeksi dan kondisi stress pada ikan air tawar (lusiastuti, 2018)

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan melihat respon fisiologis ketiga strain ikan Nila terhadap infeksi *Aeromonas hydrophyla*, sebagai landasan pertimbangan dalam kegiatan pembenihan.

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

BAHAN DAN METODE

Ikan Nila Sultana didapatkan dari BBI Pandak, Ikan nila Nirwana dan Larasati didapatkan dari BBI Sidabowa. Ukuran ikan nila yang digunakan adalah 10- 15 cm dengan berat rata- rata 17- 20 gr. Penelitian dirancang dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga kali ulangan. Data dianalisis statistik dengan selang kepercayaan 95% menggunakan software IBM SPSS 26.0, uji Tukey dilakukan jika hasil ANOVA berbeda nyata.

Penyiapan bakteri Aeromonas hydrophila

Bakteri *Aeromonas hydrophila* berasal dari stok yang terdapat pada Laboratorium Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Jenderal Soedirman. Bakteri tersebut dikultur kembali pada media spesifik media GSP (*Glutamate Starch Phenol*). Setelah bakteri tumbuh, kemudian diinokulasi pada media TSA, dan inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 28°C. Media TSB (*Tryptic Soy Broth*) yang sudah steril dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL secara aseptis. Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang telah tumbuh pada media TSA diambil dengan jarum ose dan dikultur pada media TSB. Kemudian media TSB diinkubasi pada shaker selama 18-24 jam dengan suhu 28°C.

Infeksi Bakteri

Proses infeksi dilakukan dengan metode perendaman, jumlah kultivar bakteri yang dibutuhkan untuk 10 L air adalah 150 mL bakteri dalam media TSB. Perendaman dilakukan selama 24 jam, setelah 24 jam ikan dipindahkan dalam akuarium pemeliharaan.

Profil darah

Pengambilan darah dilakukan dengan menggunakan *sprit* pada bagian vena caudalis yang terletak tepat di bagian ventral tulang vertebrate. Darah yang telah terambil kemudian dimasukkan dalam *tube* dan tercampur rata dengan antikoagulat yang berupa EDTA. Pengambilan sampel dilakukan saat hari ke 7 pasca infeksi.

Pengukuran eritrosit

jumlah eritrosit menurut Baxhall dan Daisley (1973), Perhitungan, jumlah sel darah merah dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 400x. jumlah eritrosit total dihitung sebanyak 5 kotak kecil dan jumlah dihitung menurut rumus:

$$\text{jumlah eritrosit per mm}^3 = E/N \times 1/V \times 100$$

Dimana: E = Jumlah eritrosit; N = Jumlah bujur sangkar; V = Volume bujur sangkar kecil; 100 = Pengenceran 100 kali

Pengukuran Hemoglobin, Hematokrit dan Glukosa

Metode pengukuran hemoglobin dan hematokrit darah menggunakan alat tes hemoglobin darah digital. Masukkan strip ke dalam alat digital tersebut lalu ditunggu sampai alat memunculkan gambar darah di layer dan warna biru pada kotak kecil yang ada di strip. Pengecekan glukosa darah dapat dilakukan dengan menggunakan alat uji glukosa untuk manusia (Philipson et al 2010). Alat uji glukosa yang digunakan adalah merk GlucoDr dengan kisaran 20-600 mg/dL.

Diferensiasi Leukosit

Perhitungan dilakukan dengan cara mengambil darah ikan kemudian dibuat preparat ulas darah pada kaca objek lalu dikeringkan anginkan. Genangi sampel dengan methanol atau ethanol 95% biarkan

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

selama 3- 5 menit. Setelah kering genangi dengan pewarna giemsa 10% selama 15 – 30 menit, bilas dengan air mengalir, biarkan sampel mengering suhu ruang. Amati sampel dengan mikroskop perbesaran 1000x

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah rata- rata eritrosit dari ikan nila strain Larasati 0.78 ± 0.34^a . Sultana 0.85 ± 0.09^{ab} , Nirwana 1.47 ± 0.56^b (gambar 1a), rata-rata tertinggi adalah strain Nirwana, sedangkan untuk jumlah eritrosit terendah pada strain Larasati. Hasil perhitungan statistik ANOVA ($P>0,05$) menunjukkan bahwa jumlah eritrosit Nirwana memiliki perbedaan signifikan dengan Larasati dan Sultana tidak berbeda signifikan dengan Nirwana maupun Larasati. Jumlah eritrosit normal pada ikan teleostoi adalah $1,05-3,0 \times 10^6$ (Irianto, 2005). Jumlah eritrosit Nirwana masih berada di dalam kisaran normal sedangkan untuk Larasati dan Sultana berada di bawah kisaran normal. Jumlah eritrosit dipengaruhi oleh jenis kelamin, umur, kondisi tubuh, variasi harian, dan keadaan stress (Schmidt dan Nelson, 1990).

Infeksi *Aeromonas hydrophila* secara internal dapat menyebabkan adanya cairan ascites, anemia dan kerusakan organ terutama ginjal dan hati, terjadi erythema dan hemorrhagi petechiae pada peritonium dan sebagian besar organ viseral. Pemeriksaan histologi menunjukkan adanya nekrosis di ginjal dan hati. Kerusakan ginjal ini dapat menyebabkan produksi sel darah merah ikan menurun. Bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki *Aerolysin Cytotoxic Enterotoxin (Act)*, merupakan polipeptida rantai tunggal yang menyebabkan spesies ini patogenik. Kemampuan *Act* yaitu mampu melisis sel darah merah dan juga merusak jaringan. Hal

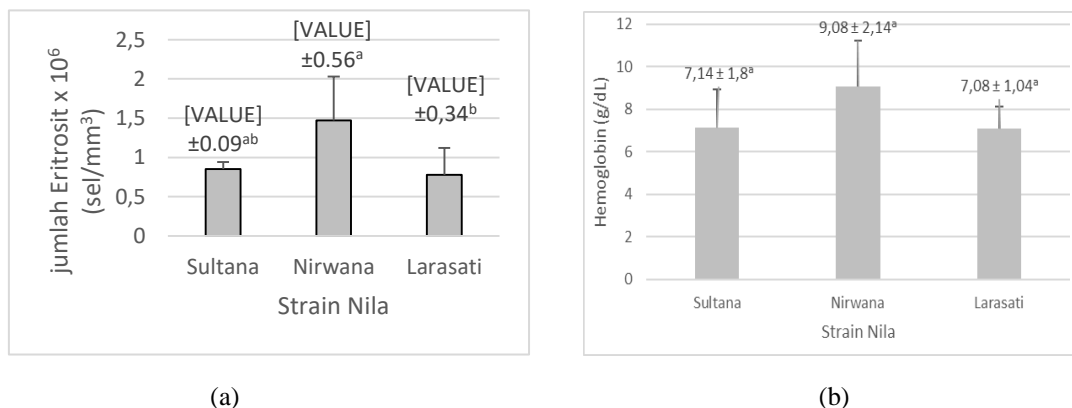
tersebut diduga menjadi penyebab nilai eritrosit Larasati dan Sultana rendah.

Hemoglobin merupakan bagian dari eritrosit dimana memiliki fungsi sebagai pengangkut oksigen dan karbondioksida (Novita, 2020). Haemoglobin merupakan protein dalam eritrosit yang tersusun atas protein globin tidak memiliki warna dan pigmen heme yang dihasilkan di dalam eritrosit (Addini, 2020). Jumlah rata- rata hemoglobin Sultana $7.14 \pm 1,80^a$, Nirwana 9.08 ± 2.14^a , dan Larasati 7.82 ± 1.04^a , Rata-rata hemoglobin tertinggi adalah Nirwana, dan yang terendah adalah Sultana (Gambar 1b). Kadar hemoglobin ketiga strain masih dalam kisaran normal, menurut (Lusiastuti, 2018) kadar hemoglobin ikan nila adalah 6 - 11,01 %. Kadar hemoglobin berbanding lurus dengan jumlah eritrosit, semakin tinggi kadar hemoglobin maka semakin tinggi pula jumlah eritrosit (Azhari, 2020). Perhitungan ANOVA ($P>0,05$) menunjukkan kadar hemoglobin di ketiga strain ikan Nila yang telah diinfeksi *Aeromonas Hydrophyla* tidak berbeda nyata.

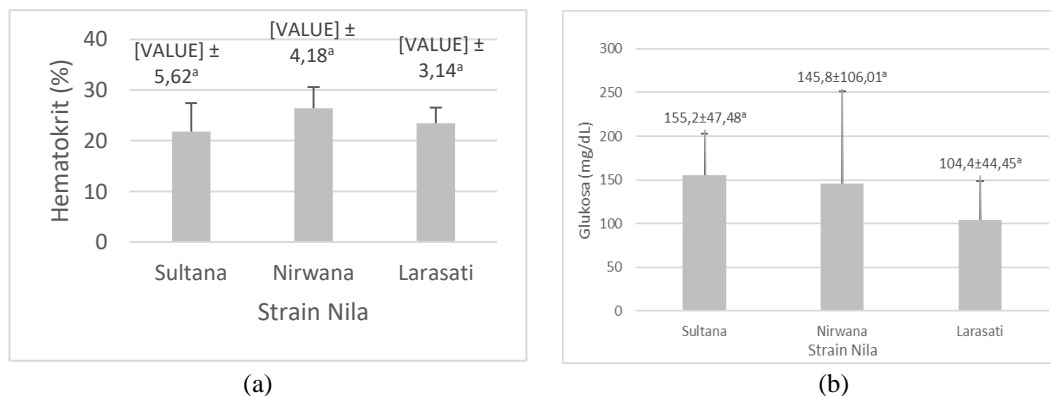
Hematokrit merupakan parameter yang berpengaruh terhadap pengukuran volume sel darah merah (Hesser, 1960). Hematokrit adalah persen volume sel darah merah yang ada di dalam darah (Sastradipradja et al, 1989). Jumlah rata-rata hematokrit Sultana 21.8 ± 5.62^a , Nirwana 26.4 ± 4.18^a , Larasati 23.46 ± 3.14^a . Nilai hematokrit tertinggi pada Nirwana dan yang terendah pada Sultana. Kadar hematokrit ketiga strain tersebut masih dalam batas normal. Nilai hematokrit pada ikan teleostei berkisar antara 20-30 %, dan pada beberapa spesies ikan laut sekitar 42 % (Bond 1979). Sedangkan hematokrit pada ikan nila adalah 23,6- 37,4 % (Lusiastuti, 2018). Hasil Perhitungan ANOVA ($P>0,05$) menunjukkan

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

bahwa hematokrit ketiga strain tidak berbeda nyata.



Gambar 1. (a) Grafik total Eritrosit ketiga strain ikan nila (sel/mm³); (b) Grafik Hemoglobin ketiga strain ikan Nila (g/dL)

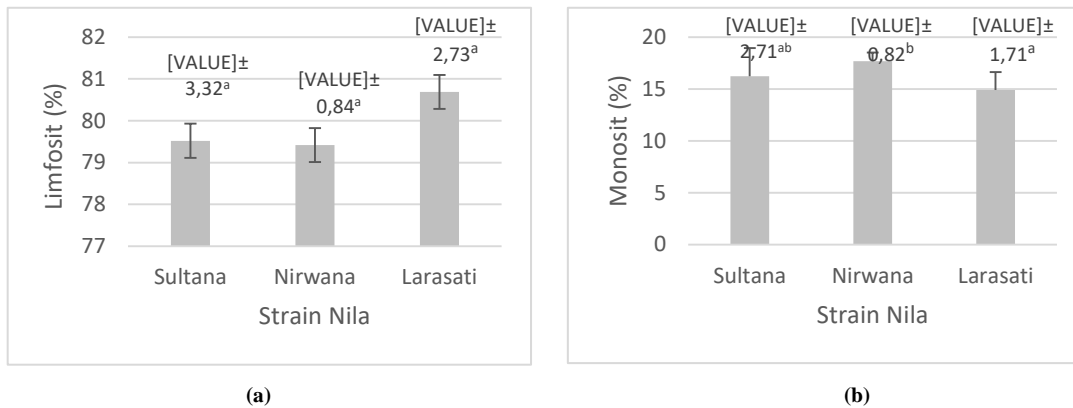


Gambar 2. (a) Grafik prosentase hematorkit (%); (b) Grafik jumlah glukosa (mg/dL)

Kadar glukosa ikan Sultana 155,2 ±47,48, Nirwana 145,8 ± 106,01, dan Larasati 104,4 ±44,45. strain Sultana dan Nirwana memiliki kadar glukosa yang tinggi, sedangkan Larasati masih dalam kisaran normal. Menurut (Suwandi, 2021) menyatakan kadar glukosa darah ikan nila sebesar 70 – 106 mg/dL (milligram/deciliter). Peningkatan Glukosa disebabkan oleh stress akibat kualitas air, kepadatan tinggi, dan infeksi bakteri. Hormon stres berhubungan dengan kortisol, kortisol ini akan memobilisas dan meningkatkan produksi glukosa pada ikan

melalui proses glukogenesis dan glikogenolisis untuk memenuhi kebutuhan energi yang diakibatkan oleh stressor (Martinez et al, 2009). Peningkatan kadar glukosa darah untuk mengatasi kebutuhan energi yang tinggi pada saat stress (Yustiati, 2017). Infeksi *Aeromonas Hydrophyla* diduga menjadi *stressor* yang mengakibatkan meningkatnya kadar glukosa dalam darah Nirwana dan Sultana. Hasil perhitungan ANOVA (P>0,05) menunjukkan bahwa kadar glukosa di antara ketiga strain tidak berbeda nyata

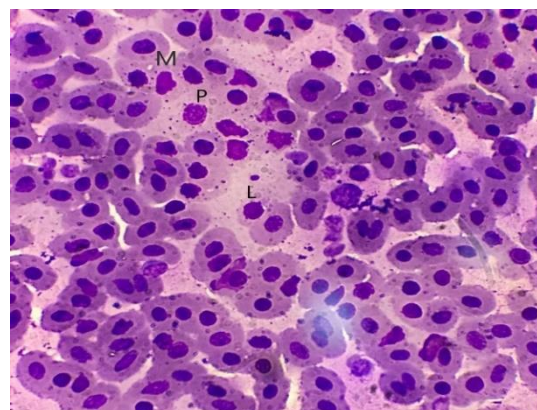
DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303



Gambar 3. (a) Jumlah limfosit (%) ketiga strain ; (b) jumlah monosit (%)

Jumlah rata-rata limfosit Sultana $79,52 \pm 3,32^a$, Nirwana $79,42 \pm 0,84^a$, dan Larasati $80,69 \pm 2,73^a$. Berdasarkan hasil perhitungan ANOVA ($P > 0,05$), jumlah limfosit ketiga strain tidak berbeda nyata. Kisaran jumlah leukosit ikan nila adalah 68-76 % (Lusiastuti, 2018). Peningkatan jumlah limfosit dipicu oleh beberapa faktor, salah satunya adalah serangan penyakit. Saat ada infeksi limfosit akan berproliferasi dan membentuk antibody, jumlah limfosit yang rendah akan mempengaruhi penurunan kadar antibody, sehingga kekebalan ikan terhadap serangan penyakit menurun (Prakoewa,

2020). Peningkatan limfosit terjadi pada ikan mas setelah diinfeksi *Aeromonas salmonicida* (Andayani, 2020). Limfosit tidak dapat mengenali antigen secara langsung, proses pengenalan antigen dibantu oleh reseptor spesifik pada membrane sel. Saat limfosit T dengan bantuan sel reseptor telah mampu mengenali antigen, maka akan memberikan reaksi kekebalan secara langsung dan menstimulasi sel B untuk berdiferensiasi dan membentuk antibody spesifik (Murdriyanto et al, 2002).

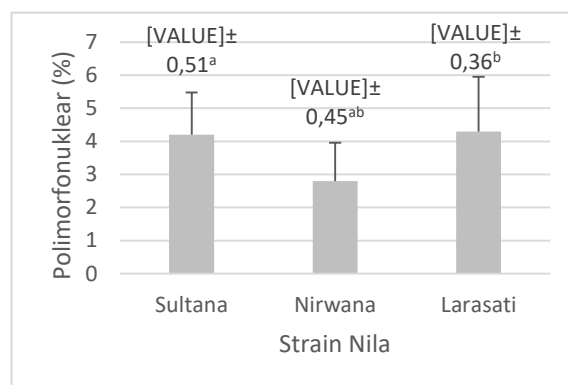


Gambar 4. Profil darah ikan Nila Nirwana dengan pewarnaan giemsa 10% dengan perbesaran 1000x (M) Monosit; (P) polimorfonuklear; (L) limfosit

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

Rata-rata jumlah monosit Sultana $16,24 \pm 2,71^{ab}$, Nirwana $17,68 \pm 0,82^b$, Larasati $14,91 \pm 1,71^a$. Hasil perhitungan ANOVA ($P > 0,05$) menunjukkan ketiganya berbeda nyata, dengan uji lanjutan Turkey menyatakan Nirwana dan Larasati memiliki perbedaan yang signifikan. Ikan Nila normal memiliki kisaran prosentase monosit 3,9-5,9% (Hardi, 2011), oleh karena itu jumlah monosit pada ketiga strain yang telah diinfeksi bakteri *Aeromonas* berada di atas kisaran normal. Tingginya jumlah monosit diduga diakibatkan adanya infeksi oleh *Aeromonas hydrophyla*. Monosit merupakan bagian dari system kekebalan non spesifik dan merupakan agen makrofag yang memfagosit benda asing dalam tubuh. Aktifitas fagositosis pada ikan memiliki peran penting untuk menghilangkan penyebab pathogen (Palanikani et al, 2019). Monosit berperan penting untuk memakan

zat-zat asing yang masuk ke dalam tubuh dan memberikan informasi tentang serangan penyakit kepada leukosit (Utami, 2014). Jumlah monosit dapat meningkat hingga mencapai 10% dari total jumlah limfosit saat terjadi infeksi suatu bakteri atau virus tertentu (Putri, 2019). Pada saat terjadi infeksi, monosit akan meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi untuk memfagosit. Pada ikan monosit berperan sebagai makrofag yang mampu mensekresi sitokin IL12, TNF α , IL-8 membantu memanggil neutrophil menuju ke tempat yang terinfeksi, sedangkan TNF α membantu mengaktifasi sel T, IL-12 memiliki peran mengaktifasi sel NK serta diferensiasi CD4+ menjadi Th1. Dalam peranannya menghancurkan bakteri, monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofage mampu mengeluarkan *Reactive oxygen species* (ROS). (Khazanah, 2020)



Gambar 5. Grafik jumlah polimorfonuklear ketiga strain

Sel polimorfonuklear (PMN) atau granulosit juga diketahui merupakan sel inflamasi pertama yang bermigrasi menuju area luka, kemudian digantikan oleh sel mononuclear atau makrofag yang infiltrasinya dipacu oleh limfosit (Faris, 2020). Sel polimorfonuklear dapat berada di tempat infeksi 2-4 jam sedangkan

monosit bergerak lebih lambat yaitu 7-8 jam untuk sampai ke tempat infeksi (Baratawidjaya, 2009). Pada jenis ikan teleostei, granulosit darah diketahui memiliki butiran-butiran yang besar dan bulat serta dapat ditemui setiap bentuknya (basophil, eosinophil dan neutrophil) (Hine, 1994). Rata-rata jumlah polimorfonuklear Sultana

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

adalah $4,2 \pm 0,51^{ab}$, Nirwana $2,8 \pm 0,45^a$, Larasati $4,3 \pm 0,36^b$. Berdasarkan perhitungan statistic ANOVA jumlah polimorfonuklear ketiga strain berbeda nyata, dengan uji turkey menyatakan polimorfonuklear Larasati berbeda signifikan dengan Nirwana, untuk Sultana tidak memiliki perbedaan terlalu signifikan. Jumlah polimorfonuklear yang rendah linier dengan rendahnya daya tahan tubuh ikan. Jumlah polimorfonuklear lebih sedikit dibandingkan dengan sel leukosit yang lainnya (Kuby, 2019)

Glukosa darah, presentase neutrophil dan monosit meningkat, sedangkan eritrosit, Hb, total leukosit dan presentase limfosit menurun pada ikan Wader Pari (*Rasbora argyrotaenia*) setelah diinfeksi *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) (Apriliani, 2020). Hal serupa juga terjadi pada ikan Nila yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* mengalami penurunan jumlah eritrosit, hemoglobin, sedangkan untuk monosit, neutrophil dan leukosit mengalami kenaikan (Suliestyana, 2020).

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa jumlah eritrosit, monosit dan polimorfonuklear ketiga strain berbeda nyata, sedangkan untuk hemoglobin, hematokrit, glukosa, limfosit tidak berbeda nyata.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini bagian dari hibah riset BLU LPPM Universitas Jenderal Soedirman skema Riset Peningkatan Kopetensi tahun pendanaan 2021

DAFTAR PUSTAKA

Addini N., Tang, U, M., Syawal, H. (2020). Fisiologis pertumbuhan ikan selais (Ompok hypophthalmus) pada sistem resirkulasi akuakultur (SRA).

Berkala Perikanan Terubuk, 48(20), xx-xx

<http://dx.doi.org/10.31258/terubuk.48.2.450-463>

Apriliani, D, P. (2020). Profil hematologi ikan Wader Pari (*Rasbora Argyrotaenia*) yang diinfeksi motile *Aeromonas Septicemia* (Mas). [Skripsi]. UNIVERSITAS AIRLANGGA.

Andayani, S., Dadiono, S, M., Elwira, W, T., Setyawan, F, H. (2020). Potency of aloe extract as immunostimulant for carp (*Cyprinus carpio*) against *Aeromonas salmonicida*. *Biodiversitas*. 21(3). DOI: 10.13057/biodiv/d210302

Azhari, N., & Hidayaturrahmah. (2020). Profil darah ikan Gelodok (*Periophthalmodon Schlosseri*) dan (*Boleophthalmus Boddarti*) di desa Kuala Tambangan Pelaihari, Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*, 7(2),176-186 <http://dx.doi.org/10.20527/jps.v7i2.8465>

Baratawidjaya, K, G., & Rengganis, I. (2009). *Imunologi Dasar*. Balai Penerbit. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Faris, M. (2020). Potensi immunodulator ekstrak cengkeh pada kadar limfosit dan makrofag sebagai mekanisme pertahanan tubuh. *Khazanah Jurnal*. 12 Universitas Islam Indonesia <http://dx.doi.org/10.20885/khazanah.i12.art8>

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

- Hardi, E, H. (2011). Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Hesser, E, F. (1960). Methods for Routine Fish Hematology. Taylor and Francis.
[https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1960\)22\[172:GOSCC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1960)22[172:GOSCC]2.0.CO;2)
- Hine, P, M., & Jones, J, B. (2010) . Bonamia and other aquatic parasites of importance to New Zealand. <https://doi.org/10.1080/03014223.1994.9517975>
- Lusiastuti, A, M., & Hardi, E, H. (2018). Gambaran darah sebagai indikator kesehatan pada ikan air tawar. Prosiding Seminar Nasional Ikan VI: 65-69
- Martínez, M, P., Cordova, L, R, M., Enriquez, R, R. (2009). Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress?. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4(2), 158-178
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=68349148307&origin=inward>
- Novita., Setyowati, D, N., Astriana, B, H., (2020). Profil darah ikan Kakap Putih yang diinfeksi bakteri *Vibrio* sp. dengan pemberian Lidah Buaya (*Aloe vera*). *Jurnal Perikanan* 10(1), 55-69.
DOI :
<https://doi.org/10.29303/jp.v10i1.175>
- Palanikani, R., Chanthini, K, M, P., Soranam, R. (2020). Efficacy of *Andrographis paniculata* supplements induce a non-specific immune system against the pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* infection in Indian major carp (*Labeo rohita*). *Environ Sci Pollut Res* 27.
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-05957-7>
- Putri, S, D. (2019). Gambaran Hasil Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit Pada Penderita Pasien Malaria di RSUD M. Zein Painana. [Skripsi]. STIKES Perintis Padang
- Punt, J., Steanford, S, A., College, P., Jones, P, P., Owen, J, A. (2019). *Kuby Immunology*. North American Edition W. H. Freeman and Company. One New York Plaza
- Prakoewa, F, R. (2020). Peranan sel limfosit dalam imunologi: Artikel Review. *Jurnal Sains Kesehatan*, 2(4).
<https://doi.org/10.25026/jsk.v2i4.212>
- Qolbiyah, R, Q. (2021). Pengaruh Pemberian Pakan Dengan Probiotik *Bacillus subtilis* dan *Lactobacillus acidophilus* Pada Kelangsungan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophyla*. Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.
<http://digilib.uinsby.ac.id/id/eprint/49555>
- Rhamadhan, I, Rosidah, F, N., Andriani, Y. (2015). Efektivitas penambahan ekstrak daun kecubung (*Datura metel L*) pada pakan untuk pencegahan streptococcosis pada benih ikan nila Sultana, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Jurnal Ikhtology Indonesia*, 15(3).
<https://doi.org/10.32491/jii.v15i3.60>

DOI: 10.32663/ja.v%vi%i. 2303

- Sastradipraja, D., Sikar, S, H, S., Wijayakusuma, R., Ungerer, T. , Maad, A., Nasution, H., Suriawinata , R., Hamzah , R. (1989). *Penuntun Praktikum Fisiologi Veteriner*. Bogor (ID): IPB Press
- Schmidt, W., & Nelson, B. (1990). *Animal Physiology*. Harper Collins Publisher, New York.
- Suwandi, R., Karima, F, R., Jacob, A, M., Nugraha, R. (2021). Pengaruh ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum sp*) dan pembekuan terhadap fisiologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Perikanan Hasil Perikanan*, (24)2. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i2.36803>
- Utami D, T., Prayitno, S, B., Hastuti, S., Santika, A., (2014). Gambaran parameter hematologis pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA Streptococcus iniae dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 0, 7-20
- Yustiati, A., Pribadi, S, S., Rizal, A., Lili, W. (2017). Pengaruh Kepadatan pada Pengangkutan dengan Suhu Rendah Terhadap Kadar Glukosa dan Darah Kelulusan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Akuatika*, 2(2). <https://doi.org/10.24198/jaki.v2i2.23424>