

## EFEK PEMBERIAN DELTAMETHRIN TERHADAP EKSPRESI CD4 PADA IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI *Myxobolus* sp.

### *Effect of Deltamethrin on CD4 Expression in Koi Fish (Cyprinus Carpio) Infected by Myxobolus Sp.*

Muhammad Sumsanto<sup>1</sup>, Uun Yanuhar<sup>2</sup>, dan Asus Maizar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 65145

<sup>2</sup>Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 6514

Email : [muhammadsumsanto@gmail.com](mailto:muhammadsumsanto@gmail.com)

Diserahkan tanggal 15 Mei 2019, Diterima tanggal 10 Juli 2019

#### ABSTRAK

Parasit yang sering menyerang ikan koi adalah *Myxobolus* sp. Ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. akan mengalami gejala klinis berupa nodul kemerahan dan pembengkakan pada organ insang. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian deltamethrin terhadap ekspresi CD4 pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Pada penelitian ini dibagi menjadi 4 perlakuan (A) Kontrol, perlakuan (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., perlakuan (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 0,5 µl/g dan perlakuan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 1 µl/g. Kemudian dilakukan pengamatan eritrosit, leukosit dan immunohistokimia untuk mengetahui ekspresi CD4 pada usus. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan eritrosit pada perlakuan (A) sebesar 500.000 sel/mm<sup>3</sup>, (B) sebesar 1.850.000 sel/mm<sup>3</sup>, (C) sebesar 1.110.000 sel/mm<sup>3</sup> dan (D) sebesar 1.670.000 sel/mm<sup>3</sup>. Hasil pengamatan leukosit perlakuan (A) didapatkan sebesar 121.600 sel/mm<sup>3</sup>, (B) sebesar 333.550 sel/mm<sup>3</sup>, (C) sebesar 265.770 sel/mm<sup>3</sup> dan (D) sebesar 145.620 sel/mm<sup>3</sup>. Berdasarkan hasil Immunohistokimia didapatkan hasil pada perlakuan (A) nilai DAB sebesar 15,0%, (B) DAB sebesar 30,2%, (C) DAB sebesar 24,3% dan (D) DAB sebesar 19,2 %. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian deltamethrin berpengaruh terhadap eritrosit dan leukosit serta dapat menurunkan ekspresi CD4 sebagai respon imun pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus* sp.

**Kata kunci:** *Cyprinus carpio*; Hematology; Erythrocytes, Leukocytes; *Myxobolus* sp.; Deltamethrin

#### ABSTRACT

Parasites that often attack koi are *Myxobolus* sp. Fish infected with *Myxobolus* sp. will experience clinical symptoms of red nodules and swelling in the gill organs. The study aimed to determine the effect of deltamethrin administration on CD4 expression in koi fish (*Cyprinus carpio*) infected with *Myxobolus* sp. In this study divided into 4 treatments (A) Control, treatment (B) koi fish infected with *Myxobolus* sp., Treatment (C) koi fish infected with *Myxobolus* sp. by treatment a dose of 0.5 µl / g deltamethrin and treatment (D) koi fish infected with *Myxobolus* sp. with the treatment of 1 µl / g of deltamethrin. Then erythrocytes, leukocytes and immunohistochemistry were observed to determine CD4 expression in the intestine. Based on the results of the study obtained erythrocytes in treatment (A) of 500,000 cells / mm<sup>3</sup>, (B) of 1,850,000 cells / mm<sup>3</sup>, (C) of 1,110,000 cells / mm<sup>3</sup> and (D) of 1,670,000 cells / mm<sup>3</sup>. Observation of leukocyte treatment (A) was obtained at 121,600 cells / mm<sup>3</sup>, (B) of 333,550 cells / mm<sup>3</sup>, (C) of 265,770 cells / mm<sup>3</sup> and (D) of 145,620 cells / mm<sup>3</sup>. Based on the results of immunohistochemistry the results obtained in treatment (A) DAB value of 15.0%, (B) DAB of 30.2%, (C) DAB of 24.3% and (D) DAB of 19.2%. From this study it can be concluded that the administration of deltamethrin affects erythrocytes and leukocytes and can reduce CD4 expression as an immune response in koi fish (*Cyprinus carpio*) infected with *Myxobolus* sp.

**Keywords:** *Cyprinus carpio*; Hematology; Erythrocytes, Leukocytes; *Myxobolus* sp.; Deltamethrin

#### PENDAHULUAN

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) adalah jenis ikan hias air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi, baik di pasar nasional maupun internasional. Ikan koi tersebut mempunyai warna tubuh yang menarik dan bentuk tubuh yang ideal. Hal tersebut yang menjadikan ikan koi memiliki prospek penjualan yang baik (Azmi *et al.*, 2013). Menurut Dinas Perikanan dan Kelautan Kabupaten Blitar (2012), nilai produksi ikan koi di kabupaten Blitar mencapai 647.000 ekor. Seiring berjalannya waktu, kegiatan budidaya ikan koi tidak hanya dilakukan di

kecamatan Nglegok saja, tetapi mulai menyebar di beberapa kecamatan lain antara lain kecamatan Sanankulon, Selopuro, Gandusari, Ponggok dan Wlingi.

Seiring berjalannya waktu, kegiatan budidaya ikan koi tentunya mengalami berbagai permasalahan. Salah satu penyebab gagalnya kegiatan budidaya ikan adalah karena faktor penyakit. Munculnya penyakit pada ikan umumnya merupakan hasil interaksi kompleks atau tidak seimbang antara tiga komponen dalam ekosistem perairan yaitu inang (ikan yang lemah), patogen yang ganas, dan kualitas lingkungan yang memburuk (Gusrina, 2008). Salah satu penyakit yang

menyerang ikan koi adalah myxobolusis. Menurut Prihartini dan Alfiah (2017), myxosporeasis atau myxobolusis merupakan penyakit parasit yang disebabkan oleh *Myxobolus* sp. Penyakit ini dapat menyebabkan kerugian dalam kegiatan budidaya ikan koi dikarenakan dapat mengakibatkan kematian 60-90% dari populasi ikan yang terinfeksi.

*Myxobolus* dikenali melalui morfologi spora, jumlah dan lokasi filamen polar. Ikan yang terserang akan menampilkan gejala klinis berupa timbulnya nodul berwarna kemerah-merahan. Jika nodul ini pecah, spora akan menyebar ke perairan sehingga sering tertelan oleh ikan akibat spora yang relatif kecil (Mahasri, 2011). Selain itu insang terlihat merah pucat. Pucatnya warna insang menurut Chavda *et al.*, (2010) bisa disebabkan oleh terjadinya akumulasi darah akibat kapiler darah dan sinus di insang pecah. Dampak dari kerusakan tersebut akan menyebabkan occlusion pada sirkulasi branchia, kematian jaringan (necrosis) dan tidak berfungsinya pernafasan. Hal tersebut dapat menyebabkan kerugian ekonomi bagi pembudidaya ikan koi.

Sel limfosit menghasilkan Cluster Differentiation/CD4 yang merupakan salah satu komponen penting dalam sistem kekebalan tubuh. Sel ini menghasilkan molekul-molekul yang berperan penting dalam melawan invasi patogen sehingga manifestasi klinisnya tidak muncul (Hutapea *et al.*, 2017). Sel CD4 merupakan jenis sel darah putih atau limfosit. Sel tersebut adalah salah satu bagian yang penting dari sistem kekebalan tubuh. Sel CD4 biasanya disebut sebagai sel-T. Sel CD4 adalah sel-T yang mempunyai protein CD4 pada permukaannya. Protein itu bekerja sebagai reseptor untuk penyakit HIV (Jalil *et al.*, 2017).

Darah adalah salah satu bagian yang terdapat pada ikan yang dapat digunakan sebagai indikator untuk mengetahui tingkat kesehatan ikan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Rahmaningsih. (2012), bahwa gambaran normal darah ikan diperlukan untuk menentukan status kesehatan dan membantu diagnosis penyakit pada ikan. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan histopatologi pada ikan yang dapat menjelaskan mengenai perubahan jaringan ikan yang terinfeksi penyakit. Diagnosis penyakit merupakan langkah awal yang perlu diterapkan dalam menentukan penyakit pada ikan (Asniatih *et al.*, 2013). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melihat respon CD4 dan perubahan pada darah ikan koi yang terinfeksi oleh *Myxobolus* sp.

## METODE PENELITIAN

### Sampel Ikan dan Uji In Vivo

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah experimental dengan tiga kali ulangan. Sampel ikan Koi (*C. carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus* sp. didapatkan dari wilayah Nglegok, Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Pada penelitian ini menggunakan ikan berukuran 10 cm yang dibagi ke dalam 4 perlakuan yaitu, perlakuan (A) Kontrol ikan sehat, perlakuan (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., perlakuan (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 0,5 µl/g pakan dan perlakuan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 1 µl/g pakan.

### Uji Immunohistokimia (IHK)

Pengamatan respon imun CD4 pada ikan koi dilakukan dengan menggunakan uji immunohistokimia (IHK). Pewarnaan immunohistokimia memiliki 3 tahapan yang harus dilakukan, yaitu preparasi kaca obyek yang digunakan untuk penempelan preparat histologis, pembuatan neufren (agen penempel) untuk membantu proses afixing preparat ke kaca obyek dan prosedur pewarnaan immunohistokimia itu sendiri. Jaringan usus ikan untuk pembuatan preparat dibilas dengan alkohol dalam konsentrasi serial 80%, 90% dan 100%. Selanjutnya dilakukan blocking dengan direndam menggunakan xylol dan dilakukan penanaman dalam parafin (embedding). Langkah selanjutnya langsung dilakukan blocking dan sectioning yang kemudian disimpan dalam inkubator 40°C selama 24 jam. Tahap selanjutnya pewarnaan immunohistokimia penempelan preparat irisan pada gelas obyek dan pewarnaan immunohistokimia menggunakan monoklonal antibody conjugate CD4 anti mouse.

### Pengamatan Eritrosit dan Leukosit

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) dari bak percobaan di tempatkan pada lap basah dan menyiapkan jarum suntik 1 ml yang telah dibilas Na sitrat 3,8 % sampai memenuhi seluruh spuit yang berfungsi sebagai antikoagulan. Pengambilan darah dilakukan dengan cara menusukkan jarum suntik pada bagian linea lateralis hingga mengenai tulang dan digeser 0,1 mm ke atas dan kebawah, tunggu darah hingga naik dengan sendirinya. Darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung eppendorf untuk pengamatan langsung mikroskop dan haemocytometer pada 4 bidang lapang pandang dan selanjutnya dilakukan perhitungan untuk pengukuran eritrosit dan leukosit.

Menurut Blaxhall dan Daisley (1973) pengamatan jumlah eritrosit dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\Sigma \text{Eritrosit} = \text{jumlah sel terhitung} \times 10^4 \text{ sel/mm}^3 \dots\dots (1)$$

Menurut Svobodova dan Vyukusova (1991) pengamatan jumlah Leukosit dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\Sigma \text{Leukosit} = \text{jumlah sel terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3 \dots\dots (2)$$

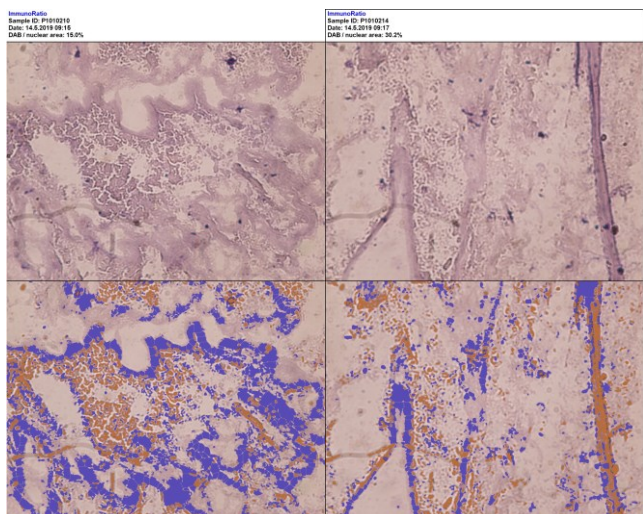
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Immunohistokimia

Analisis immunohistokimia dilakukan dengan melihat respon CD4 pada jaringan usus ikan koi (*Cyprinus carpio*) menggunakan ImmunoRatio pada software ImageJ. Perhitungan nilai DAB pada hasil IHK menggunakan software ImageJ. Software ImageJ bekerja dengan prinsip menghitung persentase warna coklat pada preparat hasil pewarnaan IHK yang menunjukkan bahwa antibodi berikatan dengan antigen pada preparat tersebut.

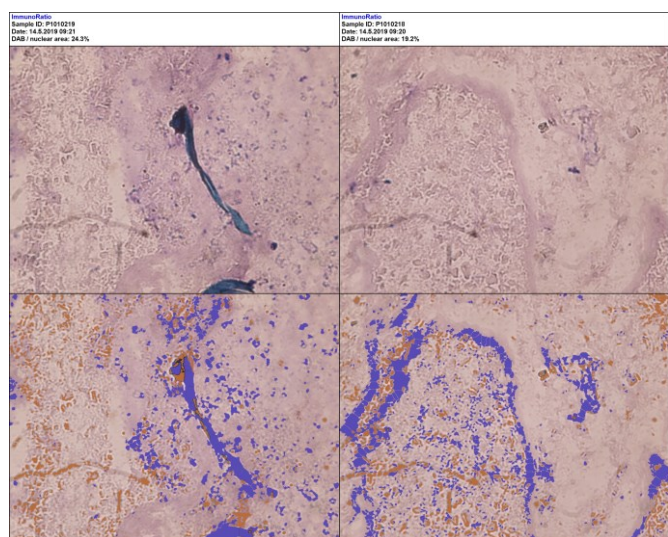
Imunohistokimia adalah suatu metode untuk mendeteksi keberadaan molekul atau berbagai macam komponen yang terdapat di dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip reaksi antara antigen dengan antibodi. Berdasarkan hasil analisa ekspresi CD4 pada organ usus Gambar 1. Dapat diketahui bahwa nilai DAB pada perlakuan

ikan kontrol yaitu ikan sehat (A) sebesar 15,0%, sedangkan pada ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. yaitu perlakuan (B) nilai DAB sebesar 30,2%. Perbedaan nilai DAB yang cukup tinggi ini dapat dilihat pada lebih banyaknya warna coklat pada hasil immunoratio yang menunjukkan bahwa ikatan antibodi dan antigen pada perlakuan (B) lebih banyak dibandingkan dengan pada perlakuan (A), hal ini dikarenakan masuknya infeksi *myxobolus* ke dalam tubuh ikan sehingga mengakibatkan ikan stress dan sistem imun ikan aktif untuk merespon serangan dari parasit tersebut.



**Gambar 1.** Analisis Imunohistokimia menggunakan ImmunoRatio (IR). (A) Perlakuan kontrol nilai DAB 15,0%; (B) ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. nilai DAB 30,2%;

CD4 adalah sebuah rantai tunggal dari glycoprotein (Tizard 2004; Randelli et al. 2008) dan dapat diidentifikasi dari sel T yang berinteraksi dengan antigen eksogenus (Randelli et al. 2008). Antigen eksogenus merupakan antigen yang terletak di luar sel target. Pada ikan teleostei, MHC tipe 1 dan tipe 2 ditemukan pada berbagai spesies (Sato et al., 2000).

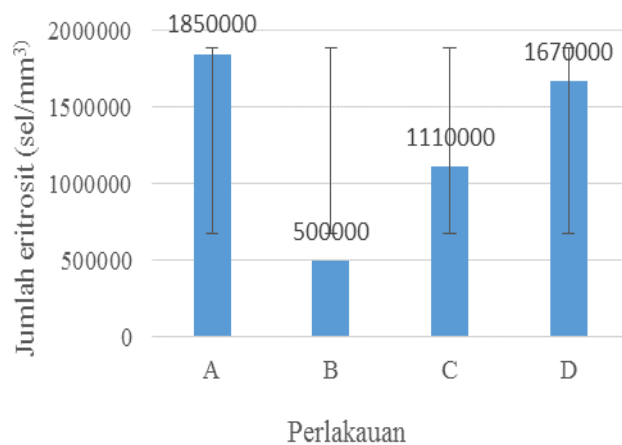


**Gambar 2.** Analisis Imunohistokimia menggunakan ImmunoRatio (IR) (C) Ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin 0,5 µl/g pakan nilai DAB 24,3%, (D) Ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin 1 µl/g pakan nilai DAB 19,2%.

Berdasarkan hasil immunoratio pada perlakuan (C) yaitu ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin sebesar 0,5 µl/g pakan didapatkan nilai DAB sebesar 24,3%, sedangkan pada perlakuan (D) ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin sebesar 1 µl/g pakan didapatkan penurunan nilai DAB hingga 19,2%. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat ekspresi CD4 pada ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin menurun. Respon imun adaptif bergantung pada stimulasi oleh sel T-helper, yang mengekspresikan beberapa penanda permukaan sel, di antaranya adalah CD4 yang paling efektif untuk menggambarkan bagian T-helper (Ashfaq et al., 2019). Cara kerja bahan aktif deltamethrin adalah dengan cara mengikat protein yang ada pada syaraf yang disebut dengan ion Na<sup>+</sup> kanal. Pada kondisi normal protein ini berfungsi sebagai penerima dan penerus rangsangan pada syaraf. Deltamethrin mengikat protein ini sehingga mencegah penerusan rangsangan yang berakibat parasit tersebut kehilangan control system syarafnya (Selvi et al., 2013).

**Hasil pengamatan Eritrosit**

Berdasarkan hasil perhitungan eritrosit (Gambar. 3) pada penelitian ini didapatkan jumlah eritrosit pada perlakuan (A) yaitu sebesar 500.000 sel/mm<sup>3</sup>, pada perlakuan (B) sebesar 1.850.000 sel/mm<sup>3</sup>, pada perlakuan (C) sebesar 1.110.000 sel/mm<sup>3</sup> dan pada perlakuan (D) sebesar 1.670.000 sel/mm<sup>3</sup>. Hasil perhitungan eritrosit tertinggi didapat pada perlakuan (B) yaitu ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Jumlah kandungan eritrosit dalam darah akan meningkat seiring dengan peningkatan infeksi *Myxobolus* sp. pada ikan, hal ini disebabkan karena ikan yang mengalami stres akan mempunyai kandungan eritrosit lebih tinggi. Pemeriksaan total eritrosit bertujuan untuk melihat kondisi kesehatan ikan dengan melihat total sel eritrosit dalam darah. Lukistyowati (2011) menyatakan bahwa status sel eritrosit dapat memberikan informasi penting menyangkut kondisi fisiologi dan menunjukkan status kesehatan ikan. Total eritrosit yang terlalu tinggi mengindikasikan ikan dalam keadaan stress.

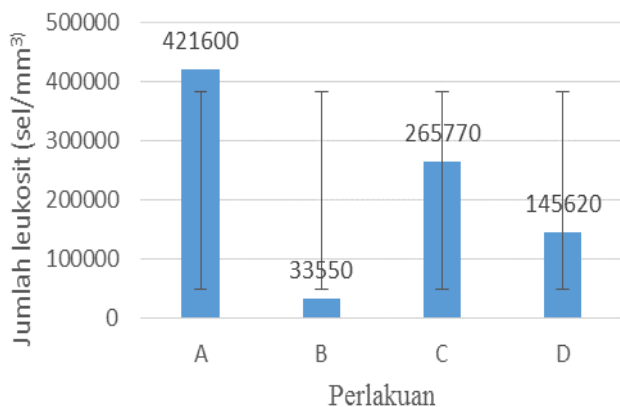


**Gambar 3.** Grafik hasil perhitungan Eritrosit. (A) Kontrol, (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 0,5 µl/g pakan dan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 1 µl/g pakan.

Norsiah (2015), menyatakan bahwa pada ikan teleostei, jumlah normal eritrosit sebesar  $1,05 - 3,00 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Anemia berdampak pada terhambatnya pertumbuhan ikan, karena jumlah eritrosit yang rendah mengakibatkan suplai nutrisi ke sel, jaringan dan organ akan berkurang sehingga proses metabolisme ikan akan terhambat (Nuryati *et al.*, 2010).

#### Hasil pengamatan Leukosit

Berdasarkan hasil pengamatan leukosit pada Gambar 4 didapatkan hasil perhitungan leukosit pada perlakuan (A) sebesar 121.600 sel/mm<sup>3</sup>, pada perlakuan (B) sebesar 335.500 sel/mm<sup>3</sup>, pada perlakuan (C) sebesar 265.770 sel/mm<sup>3</sup> dan perlakuan (D) sebesar 145.620 sel/mm<sup>3</sup>. Hasil perhitungan leukosit yang tertinggi yaitu pada perlakuan B pada ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Perbedaan hasil nilai leukosit pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa leukosit berperan dalam melawan masuknya antigen yang dapat berbahaya bagi tubuh ikan. Hal ini dapat dilihat dengan tingginya jumlah eritrosit pada perlakuan (B) yaitu ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp.



**Gambar 4.** Grafik hasil perhitungan Leukosit. (A) Kontrol, (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 0,5 µl/g pakan dan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian deltamethrin dosis 1 µl/g pakan.

Bila total leukosit berada dibawah jumlah total normal maka ikan menunjukkan gejala anemia. Sedangkan bila total leukosit berada diatas jumlah normal maka ikan menunjukkan perlawanan terhadap antigen asing (Yusuf *et al.*, 2019). Nilai kadar leukosit dalam darah dapat digunakan untuk mengetahui sistem pertahanan tubuh ikan dari gangguan luar, termasuk patogen.

Perubahan jumlah total dan jenis leukosit dapat digunakan sebagai indikator adanya penyakit menular tertentu yang terjadi pada ikan. Leukosit dalam komponen darah adalah salah satu yang berfungsi sebagai pertahanan tubuh spesifik yang akan menetralkan dan menghancurkan patogen melalui fagositosis (Mahasri, 2017). Berdasarkan hasil penelitian kondisi leukosit pada perlakuan (A) kontrol ikan sehat dan (D) ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan perlakuan deltamethrin 1 µl/g pakan menunjukkan hasil yang normal, sedangkan pada perlakuan (B) ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dan perlakuan (C) ikan yang

terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan perlakuan deltamethrin 0,5 µl/g pakan menunjukkan hasil diatas batas normal yang menandakan bahwa leukosit bekerja dalam system pertahanan tubuh untuk melawan antigen yang masuk. Jumlah leukosit normal pada ikan teleostei berkisar 20.000-150.000 sel/mm<sup>3</sup> (Aly, 2008).

#### KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian deltamethrin sebagai obat anti myxobolus dapat mengurangi infeksi pada ikan koi dilihat dari jumlah eritrosit dan leukosit pada ikan dan pemberian deltamethrin ini berpengaruh terhadap ekspresi CD4 ditandai dengan menurunnya ekspresi CD4 pada ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. saat diberi perlakuan deltamethrin.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aly, S.M., Ahmed, Y.A.G., Ghareeb, A.A.A. and Mohamed, M.F., 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish & shellfish immunology*, 25(1-2), pp.128-136.
- Ashfaq, H., Soliman, H., Saleh, M. and El-Matbouli, M., 2019. CD4: a vital player in the teleost fish immune system. *Veterinary research*, 50(1), p.1.
- Asniatih, M. Idris dan K. Sabilu. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias garapinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*, FPIK Universitas Halu Oleo, Kendari, 3 (12): 13-21.
- Azmi, H., D. R. Indriyanti, and N. Kariada, "Identifikasi Ektoparasit pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L) di Pasar Ikan Hias Jurnatan Semarang," *Life Sci.*, vol. 2, no. 2, 2013.
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of fish biology*, 5(6), pp.771-781.
- Chavda, D., S. Bhatt, R. A. Sreepada, and A. Sheth, "Pathogenicity of *Myxobolus* infection and its effect on protein expression in *Catla catla* in central Gujarat region," *J. Cell Tissue Res.*, vol. 10, no. 1, p. 2157, 2010.
- Gusrina. 2008. *Budidaya Ikan Jilid 2*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Hutapea, H. M. L., Y. Mirino, M. Widiyanti, E. Fitriana, Y. Maladan, and A. Oktavian, "PENURUNAN CD4 PADA ODHA SETELAH TERAPI ARV LEBIH DARI 39 BULAN," *Media Kesehat. Masy. Indones.*, vol. 13, no. 3, pp. 267-272, 2017.
- Jalil, N., A. M. Adam, K. Djawad, A. Seweng, R. Halim, and A. Adriani, "Comparison of Total Antioxidant Capacity and Cd-4 in Patients with HIV Stage I and Stage IV," *Nusant. Med. Sci. J.*, vol. 2, no. 1, pp. 14-21, 2017.

- Lukistyowati, I., 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dan di Infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal perikanan dan kelautan*, 16(02).
- Mahasri, G., Kismiyati. 2011. Buku Ajar Parasit dan Penyakit Ikan I (Ilmu penyakit Protozoa pada Ikan dan Udang). Universitas Airlangga.Surabaya. hal. 3-4.
- Norsiah, Wahdah. 2015. Perbedaan kadar hemoglobin metode sianmethemoglobin dengan dan tanpa sentrifugasi pada sampel leukositosis. *Medical Laboratory Technology Journal*. I (2): 72-83 hal.
- Nuryati, S., Soejoedono, R.D., Santika, A., Pasaribu, F.H. and Sumantadinata, K., 2010. Construction of a DNA vaccine using glycoprotein gene and its expression towards increasing survival rate of KHV-infected common carp (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Natur Indonesia*, 13(01), pp.47-52.
- Prihartini, N. C. dan A. Alfiah, "MYXOSPOREASIS IN KOI (*Cyprinus carpio*)," *Samakia J. Ilmu Perikan.*, vol. 8, no. 1, pp. 6–10, 2017.
- Rahmaningsih, S., 2012. Pengaruh Ekstrak Sidawayah Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *AQUASAINS*, 1(1), pp.1-8.
- Randelli E, Buonocore F, Scapigliati G. 2008. Cell markers and determinants in fish immunology. *Fish & Selfish Immunol*. 25 : 326-340.
- Sato A, Figueroa, Murray BW, Trillo EW, Rutzynska ZZ, Sultman H, Toyosawa S, Wedekind C, Steck N, Klein J. 2000. Nonlinkage of major histocompatibility complex class I and class II loci in bony fish. *Immunogenetics*. 51(2): 108-116.
- Selvi, M., Çavaş, T., Çağlan Karasu Benli, A., Koçak Memmi, B., Çinkılıç, N., Dinçel, A.S., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Sarıkaya, R., Zorlu, T. and Erkoç, F., 2013. Sublethal toxicity of esbiothrin relationship with total antioxidant status and in vivo genotoxicity assessment in fish (*Cyprinus carpio* L., 1758) using the micronucleus test and comet assay. *Environmental toxicology*, 28(11), pp.644-651.
- Tizard IR. 2004. *Veterinary Immunology : An Introduction*. Ed ke-7. Amerika Serikat(USA) : Elsevier. Tort L, Balasch JC, Mackenzie S. 2003. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. *J Immunologia*. 22(3): 277-286.
- Yusuf, M., Mahasri, G. and Mufasirin, M., 2019. Analisis Respons Imun Ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi) yang Divaksin dengan Whole Protein Spora *Myxobolus koi* sebagai Kandidat Vaksin *Myxobolus* [Immune Response Analysis of Fish Koi (*Cyprinus carpio* Koi) Vaccinated *Myxobolus* Koi Spores Whole Protein as Vaccine Candidate *Myxobolus*]. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 7(1), pp.71-78.