



## Peningkatan respon imun ikan mas (*Cyprinus carpio*) dengan pemberian ekstrak daun mahang sirap (*Macaranga involucrate*) [Improved immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) by administration of mahang sirap (*Macaranga involucrate*) Leaf Extract]

Edi Ilimu<sup>1\*</sup>, Saparuddin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Sembilanbelas November Kolaka. Jl. Pemuda No. 339 Kabupaten Kolaka, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Sembilanbelas November Kolaka. Jl. Pemuda No. 339 Kabupaten Kolaka, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.

**ABSTRACT** | This study aims to test the effectiveness of *Macaranga involucrate* leaf extract as an immune response in carp to increase the number of leukocytes and phagocytic activity. *M. involucrate* extract was injected intramuscularly into carp. The method used is Completely Randomized Design (CRD). This study was conducted with five treatments, each of which was repeated three times. The treatments were P1 = 1% (v/v), P2 = 4% (v/v), P3 = 8% (v/v), P4 = 12% (v/v) and P5 (negative control). The results showed that *M. involucrate* extract could respond to an increase in the number of leukocytes and an increase in phagocytic activity. Responses to an increase in the number of leukocytes (12.27 x 10<sup>8</sup> cells/mL) and phagocytic activity (45.41%) were found in P4 treatment. Based on this study it was concluded that *M. involucrate* extract showed an increase in the immune response of carp.

**Key words** | *Cyprinus Carpio*, immunity, phagocytosis activity, leukocyte count

**ABSTRAK** | Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak daun *Macaranga involucrate* sebagai respon imun pada ikan mas untuk meningkatkan jumlah leukosit dan aktivitas fagositik. Ekstrak *M. involucrate* disuntikkan secara intramuskuler ke ikan mas. Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini dilakukan dengan lima perlakuan, tiga kali ulangan. Perlakuan P1 = 1% (v/v), P2 = 4% (v/v), P3 = 8% (v/v), P4 = 12% (v/v) dan P5 (kontrol negatif). Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *M. involucrate* dapat merespon peningkatan jumlah leukosit dan peningkatan aktivitas fagositik. Respon terhadap peningkatan jumlah leukosit (12,27 x 10<sup>8</sup> sel/mL) dan aktivitas fagositik (45,41%) ditemukan pada perlakuan P4. Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa ekstrak *M. involucrate* menunjukkan peningkatan respon imun ikan mas.

**Kata kunci** | *Cyprinus carpio*, kekebalan tubuh, aktivitas fagositosis, jumlah leukosit

**Received** | 22 Maret 2023, **Accepted** | 7 April 2023, **Published** | 2 Mei 2023.

**\*Koresponden** | Edi Ilimu, Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Sembilanbelas November Kolaka. Jl. Pemuda No. 339 Kabupaten Kolaka, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia. **Email:** ediilimu@gmail.com

**Kutipan** | Ilimu, E., Saparuddin, S. (2023). Peningkatan respon imun ikan mas (*Cyprinus carpio*) dengan pemberian ekstrak daun mahang sirap (*Macaranga involucrate*). *Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan*, 5(1), 51-56.

**p-ISSN (Media Cetak)** | 2657-0254

**e-ISSN (Media Online)** | 2797-3530



© 2023 Oleh authors. [Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan](#). Artikel ini bersifat open access yang didistribusikan di bawah syarat dan ketentuan [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](#).

### PENDAHULUAN

Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) merupakan ikan yang mudah berkembang biak dan pertumbuhannya sangat cepat. Hal ini menjadi alasan utama ikan mas banyak dibudidayakan oleh para petani budidaya ikan air tawar dan permintaan konsumsi ikan mas selalu meningkat pada beberapa tahun terakhir serta harga jualnya lebih mahal dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya seperti ikan nila, dan ikan lele jumbo. Selain itu, ikan mas juga dapat beradaptasi terhadap lingkungan yang terbatas dan tahan terhadap penyakit (Ramadhan & Sari, 2018). Para

petani budidaya ikan air tawar selalu melakukan inovasi metode budidaya untuk meningkatkan hasil produksinya, yaitu melakukan budidaya secara intensif maupun secara semi intensif (Pasaribu & Longdong, 2019).

Metode budidaya secara insentif maupun semi insentif merupakan metode yang sangat baik untuk dikembangkan sehingga dapat meningkatkan hasil produksi ikan mas. Namun, jika pengelolaannya dilakukan dengan tidak baik, justru dapat mengakibatkan persoalan baru yaitu tingginya pencemaran air budidaya yang menyebabkan

peningkatan pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri, parasit fungi, dan virus yang dapat menimbulkan penyakit ikan. Timbulnya penyakit ikan budidaya disebabkan oleh faktor intern dan ekstern yang kompleks antara budidaya ikan mas dan kualitas lingkungan (Raman, 2017).

Timbulnya penyakit pada budidaya ikan mas dapat mempengaruhi hasil produksi bagi para petani budidaya yang memicu penurunan produksi. Beberapa cara yang dilakukan untuk mengatasi munculnya penyakit dalam budidaya yaitu pemberian antibiotik, vaksinasi, dan imunostimulan (Manoppo, 2015). Namun, penanganan penyakit dengan cara memberikan vaksin dan antibiotik menyebabkan residu dan resistensinya mikroorganisme patogen pada lingkungan budidaya (Manopo & Magdalena, 2016).

Pemberian imunostimulan yang bersumber dari bahan alami merupakan solusi yang tepat untuk mengatasi penyakit ikan serta ramah lingkungan (Saparuddin *et al.*, 2020). Daun Mahang Sirap (*Macaranga involucre*) merupakan sumber imunostimulan. Ekstrak Daun *Macaranga involucre* (*M. involucre*) mengandung senyawa tannin, flavonoid, terpenoid, dan lignin (Ilmu & Syah, 2019). Selain itu, daun *M. involucre* mengandung dua Prenylflavonoid sebagai komponen utama pada tanaman jantan dan betina yaitu nymphaenol-B dan isonymphaenol-B (Kumazawa *et al.*, 2014).

Turunan senyawa flavonoid seperti senyawa morin, quercetin, rutin, dan hesperidin diuji secara *in vitro*, dapat memberikan respon positif dalam menghambat siklus replikasi virus baik siklus adsorpsi maupun siklus penetrasi (Cui *et al.*, 2022). Sedangkan senyawa tannin yang diujikan secara *in vitro* memberikan respon positif terhadap penghambatan perkembangan *virus herpes simplex* (HSV) dan HIV (Ganda *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa turunan dari senyawa flavonoid dan senyawa tannin yang ada pada ekstrak daun *M. involucre* bersifat anti patogen, fungi, bakteri dan virus yang diujikan secara *in vitro*. Pengujian secara *in vivo* belum banyak diujikan pada budidaya ikan mas.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka ekstrak daun *Macaranga involucre* perlu diuji cobakan secara *in vivo* sebagai penambah imun ikan mas secara non spesifik.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan Bulan Mei 2022 hingga Juli 2022 di UPT Laboratorium IPA Terpadu Universitas Sembilanbelas November Kolaka.

### Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan 5 perlakuan, terdiri dari 1 perlakuan kontrol negatif (tanpa pemberian larutan dan ekstrak) dan 4 perlakuan penambahan ekstrak *M. involucre*, masing-masing perlakuan 3 ulangan. Digunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini tidak dilakukan pretes terlebih dahulu terhadap sampel, tetapi menggunakan *Posttest-Only Control Desain*.

### Pembuatan Ekstraks Etanol Daun *Macaranga involucre*

Pembuatan ekstrak daun *M. involucre* diawali dengan mengeringkan daun *M. involucre* di bawah sinar matahari sampai warnanya menjadi hitam. Setelah itu, daun dihaluskan dengan blender dan direndam dalam larutan etanol 80% dengan menggunakan metode maserasi. Kemudian, larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring sebanyak tiga kali untuk memisahkan ampas dari filtrat yang larut dalam larutan etanol. Untuk mendapatkan ekstrak *M. involucre*, larutan tersebut diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan tekanan 175 mbar, suhu 60°C, dan kecepatan putaran 80 rpm. (Octarina *et al.*, 2018).

### Metode Perlakuan dan Pemeliharaan Ikan Mas

Hasil ekstrak daun *M. involucre* yang sudah dicairkan diinjeksikan pada ikan mas dengan cara intra muscular (Satyantini *et al.*, 2016). Setiap perlakuan diinjeksikan sesuai dengan dosis masing-masing. Perlakuan P1 (Kontrol positif) (larutan fisiologis) sebanyak 0,1 mL/ekor. Perlakuan P2 disuntikkan dengan ekstrak daun *M. involucre* dengan dosis 4% (v/v), Perlakuan P3 dengan dosis 8% (v/v), Perlakuan P4 dengan dosis 12% (v/v) dan Perlakuan P5 (tanpa perlakuan) (Octarina *et al.*, 2018). Setiap perlakuan dilakukan tiga kali ulangan, setiap ulangan berisi 8 ekor ikan mas yang dipelihara pada akuarium. Ukuran akuarium setiap ulangan (30cm × 25cm × 25cm) sebanyak 15 buah. Ikan dipelihara selama 14 hari dengan pemberian pakan komersil pada pagi dan sore hari.

**Parameter Pengamatan**

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah jumlah leukosit dan aktivitas fagositik ikan mas. Ikan nila dikeluarkan darahnya pada hari ke-0 (sebelum penyuntikan), hari ke-1, hari ke-4, hari ke-7, dan hari ke-14 setelah penyuntikan. Darah ikan mas diambil dengan spuit (1 mL spuit) yang telah ditambahkan larutan antikoagulan. Pengambilan sampel darah melalui intra vena ikan mas, selanjutnya disimpan pada tabung hampa udara (Satyantini *et al.*, 2016). Alat *haemocytometer* digunakan untuk mengukur jumlah sel darah putih. Prosedur kerja alat ini adalah darah dihisap hingga sampai skala 0,5, kemudian ditambahkan larutan Turk's sampai skala 11, pipet diayunkan selama 5 menit dengan arah huruf 8. Diteteskan pada *hemocytometer* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesara 400 (Effendi & Widiastuti, 2014). Sedangkan, untuk mengukur aktivitas fagositosis yaitu menggunakan ragi 0,05 g dan ditambahkan gula pasir 0,1 g untuk mengaktifkan mikroorganisme. Selanjutnya, ditambahkan air hangat (70°C) 25 mL (Lengka *et al.*, 2013). Darah dimasukkan ke dalam *microtube*, sebanyak 50 µL, ragi ditambahkan sebanyak 50 iL yang sudah aktif. Dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang. Dibuatkan sediaan ulasan kering di udara (Lusiastuti & Hardi, 2010). Selanjutnya, difiksasi dengan larutan etanol dan dikeringkan selama 5 menit. Direndam selama 15 menit dengan larutan giemsa, dicuci dan dikeringkan, selanjutnya menghitung sel fagosit dari 100 sel yang diamati.

**Analisis Data**

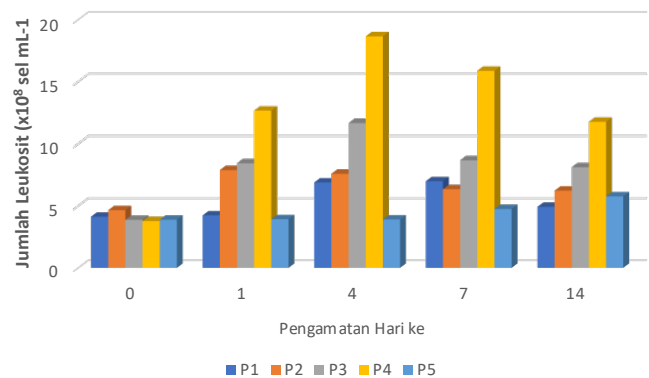
Hasil pengamatan dapat dianalisis dengan metode ANOVA. Jika jumlah sel darah putih dan aktivitas fagositosis hasil sidik ragamnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95%.

**HASIL**

**Jumlah Sel Darah Putih Ikan Mas**

Berdasarkan hasil pengamatan dari jumlah sel darah putih ikan mas setelah diberikan semua perlakuan yaitu perlakuan P1, P2, P3, P4, dan P5 (kontrol negatif), mulai hari ke-0, hari ke-1, hari ke-4, hari ke-7 dan hari ke-14 (Gambar 1). Jumlah leukosit setelah penyuntikan ekstrak daun *M. involucrata* dapat merespon positif peningkatan jumlah sel darah putih. Perlakuan P1 dan P5 sebagai perlakuan control,

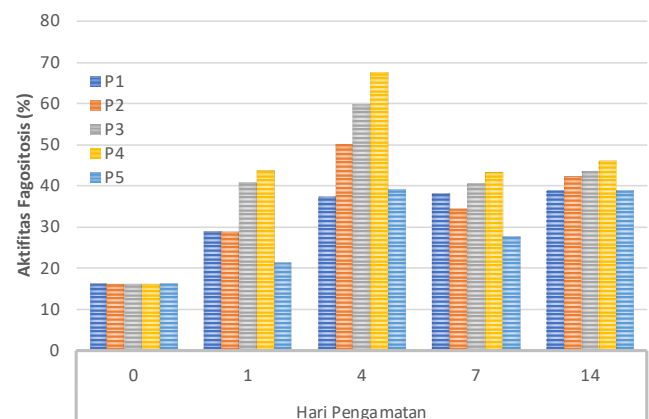
relatif stabil terhadap jumlah sel darah putihnya. Selama 14 hari pengamatan, jumlah sel darah putihnya masih dalam keadaan norma, rata-rata  $5,1 \times 10^8$  sel mL<sup>-1</sup>. Pada Perlakuan P2, P3 dan P4 sebagai perlakuan pemberian ekstrak daun *M. involucrate* menunjukkan pengaruh positif terhadap peningkatan jumlah sel darah putih, mulai dari hari ke-1, ke-4, ke-7 dan ke-14. Perlakuan P4 menunjukkan pengaruh yang sangat tinggi diantara perlakuan yang lain terhadap peningkatan jumlah sel darah putih. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun *M. involucrata* dapat berpengaruh positif terhadap peningkatan sel darah putih.



**Gambar 1.** Jumlah Sel Darah Putih ikan mas pada berbagai perlakuan

**Aktifitas Fagositosis Ikan Mas**

Berdasarkan hasil pengamatan selama 14 hari pengamatan dari aktivitas fagositosis (%) pada ikan mas (Gambar 2).



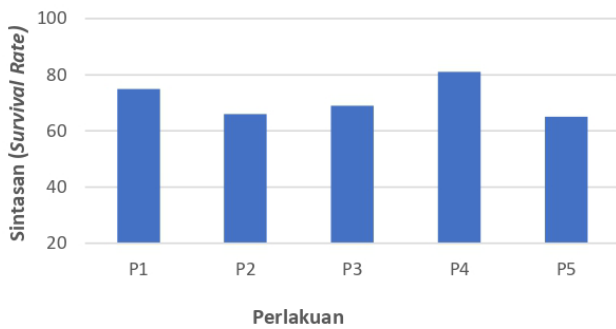
**Gambar 2.** Aktifitas Fagositosis (%) Ikan Mas

Pengamatan pada hari ke-0 menunjukkan bahwa aktivitas fagositik ikan mas masih dalam keadaan normal. Pengamatan perlakuan P4 pada hari ke-1 menunjukkan respon positif terhadap aktivitas fagositik yang berbeda nyata dengan perlakuan P1, perlakuan P2 dan perlakuan P5, tetapi tidak pada perlakuan P3 (P<0,05). Pengamatan perlakuan P4 pada hari ke-4 menunjukkan aktivitas fagositik

tertinggi. Pada hari ke 7 dan 14 aktivitas fagositik semua perlakuan menurun, namun perlakuan P4 masih paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Terdapat perbedaan bermakna antara perlakuan P4 hari ke-7 dengan P1, P2, dan P5, namun tidak terdapat perbedaan bermakna pada P3 ( $P < 0,05$ ). Perlakuan P4 pada hari ke-14 berbeda Nyata dengan P1 dan P5, tetapi tidak berbeda Nyata dengan P2 dan P3 ( $P < 0,05$ ).

### Kelangsungan Hidup Ikan Mas

Selama penelitian berlangsung, kelangsungan hidup ikan mas dinyatakan dalam (%) selama 14 hari pemeliharaan (Gambar 3)



Gambar 3. Kelangsungan Hidup Ikan Mas

Survival rate ikan mas menunjukkan bahwa rata-rata 71%. Ikan yang banyak mati terjadi diawal penelitian pada semua perlakuan, karena ikan masih menyesuaikan dengan lingkungan barunya. Namun, kelangsungan hidup ikan mas ini, masih dianggap normal, karena kelangsungan hidup ikan mas berada di atas 50%.

### Kualitas Air

Berdasarkan pengamatan parameter Kualitas Air selama periode penelitian (Tabel 1).

Tabel 1: Kualitas air ikan mas pada setiap perlakuan

Perlakuan <i>treatment</i>	Parameter ( <i>Parameter</i> )		
	Suhu Temperatur (°C)	pH	DO (mg L <sup>-1</sup> )
P1	25-30	6,9 – 7,5	6,1 – 6,4
P2	26-30	6,9 – 7,6	5,5 – 6,2
P3	26-29	7,0 – 7,4	5,7 – 6,2
P4	26-29	6,9 – 7,5	5,6 – 6,0
P5	26-29	6,9 – 7,5	5,7 – 6,1
SNI	25-30	6,5 – 8,5	≥50

Parameter lingkungan berada dalam keadaan normal selama penelitian. Semua parameter lingkungan yaitu Suhu, pH dan DO memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) kualitas lingkungan ikan mas.

## PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada jumlah leukosit menunjukkan bahwa injeksi ekstrak daun Mahang Sirap *M. involucrate* dalam tubuh ikan mas dapat merespon sistem imun humoral dengan menghasilkan antibodi (IgM) pada hari ke-7. Respon antibodi merupakan respon imun humoral ketika dipapar dengan antigen. Pada ikan, respon imunnya terjadi secara seluler, biasa terjadi pada hari ke 1-5 setelah pemaparan (Rejeki *et al.*, 2018).

Pertahanan humoral non spesifik memiliki sifat yang selalu siap merespon setiap patogen yang menyerang organisme. Pertahanan tubuh non spesifik ini telah ada berfungsi sejak organisme dilahirkan, yang merupakan lini pertama dalam menghadapi infeksi.

Hasil pengamatan pada aktivitas fagositosis menunjukkan bahwa ekstrak daun *M. involucrate* dapat mempengaruhi aktivitas fagositosis yang meningkat pada ikan mas dari kondisi normal. Hasil Uji Lanjut Duncan pada Perlakuan P4 berbeda Nyata dengan perlakuan kontrol negatif ( $P > 0,05$ ). Hasil pengamatan aktivitas fagositosis yang meningkat ini dari kondisi normal menunjukkan bahwa ikan mas mengalami peningkatan kekebalan tubuh (Octarina *et al.*, 2018).

Fagositosis merupakan proses sel menelan partikel benda asing yang masuk dalam tubuh hewan. Sel fagosit terpenting adalah makrofag dan leukosit polimorfonuklear (Handayani, 2018). Makrofag diproduksi di sumsum tulang belakang sebagai sentral merespon imunitas. Sel makrofag memiliki kemampuan fagositosis mikroorganisme dengan melibatkan enzim-enzim lisosom (Susanti & Yuniastuti, 2012). Cara kerja fagositosis yaitu melalui proses saling kontak antar membran dengan partikel, membran sel mengalami invaginasi, sehingga dapat menelan partikel asing yang terperangkap dalam sitoplasma sel yang terlapsi oleh membran fagolisosom (Effendi & Widiastuti, 2014). Enzim pencernaan lisosom dapat menghancurkan atau mendegradasi sel mikroba atau benda asing yang tertelan.

Kelangsungan hidup ikan selama penelitian sebesar 71%, hal ini disebabkan karena pemberian dosis setiap perlakuan tidak terlalu tinggi, sehingga ikan mas dapat beradaptasi dengan dosis yang diberikan. Kelangsungan hidup ikan mas pada setiap perlakuan tidak berbeda Nyata diantara semua perlakuan ( $P > 0,05$ ). Pemeliharaan ikan mas

menggunakan aquarium yang selalu terkontrol kualitas airnya. Kualitas air dalam suatu budidaya ikan, dapat menentukan kesintasan hidup ikan, karena perubahan setiap Parameter Kualitas Air akan mempengaruhi Parameter yang lain (Sarjito *et al.*, 2013).

Selama pemeliharaan parameter suhu berada pada kisaran antara 25-30 °C. Suhu yang berada dibawah atau diatas standar SNI maka akan mempengaruhi perkembangan dan pembentukan kekebalan tubuh. Selain itu, dapat menyebabkan ikan stress dan kelangsungan hidup ikan akan menurun (Rawung & Manoppo, 2014). Oksigen Terlarut berkisar antara 5,5-6,4 mg L<sup>-1</sup>, hal ini sesuai dengan SNI yang berada pada ≥50. Sedangkan parameter pH selama penelitian berada pada kisaran 6,5- 7,6 hal ini sesuai SNI yang berada pada kisaran antara 6,5-8,5.

## KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa perlakuan P4 terbaik diantara perlakuan yang lain dari jumlah sel darah putih meningkat dengan jumlah (12,27 × 10<sup>8</sup> sel/mL) dan aktivitas fagositik sebesar (45,41%), sedangkan kelangsungan hidup ikan mas dari semua perlakuan dalam keadaan normal sebesar 50% lebih.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini, terutama Bapak Anwar dan Bapak Hasbi yang telah berjasa dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Cui, L., Ma, Z., Wang, D., & Niu, Y. (2022). Ultrasound-assisted extraction, optimization, isolation, and antioxidant activity analysis of flavonoids from *Astragalus membranaceus* stems and leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 90(October), 106190. doi: 10.1016/j.ultsonch.2022.106190

Effendi, N., & Widiastuti, H. (2014). Identifikasi aktivitas imunoglobulin M (Ig.M) ekstrak etanolik daun ceplukan (*Physalis Minima* Linn.) pada mencit. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 353–360.

Ganda, A. N. F., Andoko, Setyarini, P. H., & Gapsari, F. (2018). The inhibitive effect of tannin in *Psidium guajava* leaves towards 304SS corrosion in concentrated HCl. *Matec Web of Conferences*, 204. doi: 10.1051/mateconf/201820405018

Handayani, N. (2018). Uji Aktivitas Fagositosis Makrofag Ekstrak Etanol Daun Suji (*Dracaena angustifolia* (Medik.)Roxb. ) Secara in vitro. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 1(1), 26–32. doi: 10.35799/pmj.1.1.2018.19648

Ilimu, E., & Syah, Y. M. (2019). Turunan Senyawa Flavonoid dari Daun *Macaranga involucrata* (Roxb.) Baill dari Buton Tengah, Sulawesi Tenggara. In *Jurnal Kimia Valensi* (Vol. 5, Issue 1). doi: 10.15408/jkv.v5i1.7909

Kumazawa, S., Murase, M., Momose, N., & Fukumoto, S. (2014). Analysis of antioxidant prenylflavonoids in different parts of *Macaranga tanarius*, the plant origin of Okinawan propolis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(1), 16–20. doi: 10.1016/S1995-7645(13)60184-4

Lengka, K., Manoppo, H., & Kolopita, M. E. F. (2013). Peningkatan Respon Imun Non Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Melalui Pemberian Bawang Putih (*Allium Sativum*). *E-Journal Budidaya Perairan*, 1(2), 21–28. doi: 10.35800/bdp.1.2.2013.1912

Lusiastuti, A. M., & Hardi, E. H. (2010). Gambaran darah sebagai indikator kesehatan pada ikan air tawar. *Prosiding Seminar Nasional Ikan*, 1, 65–69.

Manopo, H., & Magdalena E. P. Kolopita. (2016). Penggunaan ragi roti (. In *Budidaya Perairan*, 4(3): 37–47.

Manoppo, C. N. P. dan H. (2015). Peningkatan Respon Kebal Non-spesifik dan Pertumbuhan Ikan Nila. *Jurnal Budidaya Perairan*, 3(1), 11–18.

Octarina, Y., Prasetyono, E., Febrianti, D., & Robin, R. (2018). Efektivitas ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap sistem kekebalan tubuh ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(3), 259. doi: 10.15578/jra.13.3.2018.259-265

Pasaribu, W., & Longdong, S. N. . (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Untuk Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *E-Journal Budidaya Perairan*, 3(1), 83–92. doi: 10.35800/bdp.3.1.2015.6939

Ramadhan, R., & Sari, L. A. (2018). Teknik pembenihan ikan mas (*Cyprinus carpio*) secara alami di unit pelaksana teknis pengembangan budidaya air. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 7(3), 124–132. doi: 10.20473/jafh.v7i3.11261

Raman, R. P. (2017). Applicability, Feasibility and Efficacy of Phytotherapy in Aquatic Animal Health Management. *American Journal of Plant Sciences*, 08(02), 257–287. doi: 10.4236/ajps.2017.82019

Rawung, M. E., & Manoppo, H. (2014). Penggunaan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) secara in situ untuk meningkatkan respon kebal non-spesifik ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *E-Journal Budidaya Perairan*, 2(2). doi: 10.35800/bdp.2.2.2014.4901

Rejeki, M. S., Sasanti, A. D., & Taqwa, F. H. (2018). Pemanfaatan tepung paci-paci (*Leucas lavandulaefolia*) untuk mengobati infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan patin (*Pangasius sp.*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 6(2), 165–176. doi: 10.36706/jari.v6i2.7160

Saparuddin, S., Yanti, Y., Salim, S., & Muhammad, H. (2020). Hematological response of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Laundry wastewater. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(1), 69–78. doi: 10.24252/bio.v8i1.13137

Sarjito, Prayitno, S. B., & Haditomo, A. H. C. (2013). Buku Pengantar Parasit dan Penyakit Ikan. *Buku Pengantar Parasit Dan Penyakit Ikan*, 1–92.

- Satyantini, W., Agustono, A., Arimbi, A., Sabdoningrum, E., Budi, M., & Asmi, L. (2016). Peningkatan Respons Imun Non Spesifik Ikan Gurame Pascapemberian Ekstrak Air Panas Mikroalga *Spirulina platensis* (enhancement of non-specific immune response of *osphronemus gouramy* after giving of hot water extract *spirulina platensis*). In *Jurnal Veteriner*, 17(13): 347–354.  
[doi: 10.19087/jveteriner.2016.17.3.347](https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.3.347)
- Susanti, R., & Yuniastuti, A. (2012). *Aktivitas Reactive Oxygen Species Makrofag Akibat Stimulasi Gel Lidah Buaya Pada Infeksi Salmonella Typhimurium*. 35(1).