

Pemanfaatan ekstrak daun akar kucing (*Acalypha indica*) sebagai modulator imun pada benih ikan Nila, *Oreochromis niloticus*

(The use of *Acalypha indica* leaf extract as immune modulator in juvenile of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*)

**Fretty A. Hutagaol<sup>1</sup>, Henky Manoppo<sup>2</sup>, Reni L. Kreckhoff<sup>2</sup>, Ockstan J. Kalesaran<sup>2</sup>, Reiny A. Tumbol<sup>2</sup>, Darus S. J. Paransa<sup>3</sup>**

<sup>1)</sup> Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

<sup>3)</sup> Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kelautan FPIK Unsrat Manado

Penulis Korespondensi: H. Manoppo, henkympo@unsrat.ac.id

### **Abstract**

This study aimed to examine the effect of *Acalypha indica* leaf extract on the immune response of Nile tilapia and determine the appropriate concentration of extract capable of increasing total leukocytes and phagocytic activity of fish. The leaves of collected plants were separated from the stems, washed, dried at room temperature and ground to obtain leaf powder. Furthermore, the leaf flour was extracted by maceration in ethanol (40 grams of leaf flour soaked in 200 mL ethanol). The soaking process was carried out for 3x24 hours while stirring occasionally. The extract was filtered using Whatman filter paper and concentrated through an evaporation process for several days at room temperature. The treatments used were different extract concentrations as follows: A: 0 g concentrated extract/kg feed, B: 10 g concentrated extract/kg feed, C: 20 g concentrated extract/kg feed, D: 30 g concentrated extract/kg feed and E: 40 g concentrated extract/kg feed. The treatment feed was given to fish for 30 days at a dose of 3%/body weight/day and the frequency of administration was two times a day, at 09.00 and 16.00. At the end of the feeding, fish blood samples were taken to measure total leukocytes and phagocytic activity. Fish blood samples were taken from the caudal vein using a 1 mL syringe previously been rinsed with 10% EDTA as an anti-coagulant. To count the total leukocytes, 50 µL of blood was taken and added with Turk's solution with a blood ratio: Turk's = 1:10 and incubated for 5 minutes. Phagocytosis activity was measured by taking 50 µL of blood added with 50 µL of baker's yeast cells as a stimulant and incubated for 20 minutes, then prepared blood smear, stained with Giemsa and observed under a light microscope. The results showed that application of *A. indica* leaf extract to Nile tilapia juveniles had a significant effect on increasing total leukocyte and phagocytic activity ( $p<0.01$ ). The best total leukocyte and phagocytic activity was achieved at a dose of 20-30 g/kg of feed with a duration of administration of 30 days.

**Keywords:** medicinal plant, phagocytic activity, total leukocytes, maceration, aquaculture

## PENDAHULUAN

Akuakultur merupakan aktivitas manusia untuk memelihara ikan dan organisme aquatik lainnya dalam upaya memenuhi kebutuhan konsumsi manusia. Menurut Turker *et al.* (2009), akuakultur memiliki perkembangan yang sangat cepat seiring dengan meningkatnya kebutuhan protein hewani ikan dan esensial nutrien yang sangat baik untuk konsumsi masyarakat. Sekalipun demikian, pengembangan usaha budidaya dalam skala besar baik dalam sistem intensif maupun semi intensif telah meningkatkan stres pada ikan jika tidak dikelola dengan baik sehingga menekan sistem imun serta meningkatkan kerentanan ikan terhadap penyakit, yang selanjutnya menyebabkan kerugian ekonomi bagi industri budidaya (Awad and Awaad, 2017; Syahidah *et al.*, 2014; Reverter *et al.*, 2014).

Strategi untuk mengontrol penyakit dalam budidaya ikan umumnya menggunakan obat-obatan atau antibiotik. Meskipun secara umum obat-obatan atau antibiotik memberikan hasil yang baik dalam mengobati penyakit dan akumulasi residu, antibiotik baik dalam tubuh ikan maupun lingkungan menyebabkan munculnya strain patogen yang tahan terhadap antibiotik tersebut. Sekalipun demikian, bahan-bahan tersebut tidak dapat direkomendasikan karena adanya efek samping yang ditimbulkan. Hormon, vitamin dan beberapa bahan kimia lain termasuk antibiotik telah digunakan dalam kontrol penyakit dengan hasil yang positif (Citarasu, 2010). Penggunaan antibiotik atau bahan kimia secara intensif dan berulang telah menimbulkan masalah seperti bioakumulasi, polusi, *antibiotik resistant pathogen* serta

bersifat *immunosppresion* (Biswas *et al.*, 2012; Babu *et al.*, 2013). Selain itu, residu bahan kimia tersebut dapat terakumulasi dalam tubuh ikan, lingkungan dan berbahaya dalam kesehatan manusia (Wu *et al.*, 2013). Vaksinasi merupakan metode lain yang efektif untuk mengontrol kejadian penyakit. Sekalipun demikian vaksin biasanya sangat mahal dan belum banyak tersedia untuk digunakan dalam budidaya ikan. Vaksin juga bekerja secara spesifik yaitu hanya efektif terhadap satu jenis patogen tertentu (Sakai, 1999).

Imunostimulan saat ini banyak juga digunakan dalam kontrol penyakit ikan. Immunostimulan merupakan suatu bahan yang meningkatkan imun respon ikan sehingga menjadikan ikan lebih kebal terhadap penyakit. Penggunaan ekstrak tanaman sebagai immunostimulan untuk ikan saat ini sudah semakin meningkat (Reverter *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2013; Payung *et al.*, 2017). Produk tanaman obat dapat merangsang berbagai aktivitas seperti meningkatkan respon imun dan sebagai antibakteri karena adanya kandungan flavonoid, alkhaloid, fenolid, steroid, terpenoid, polisakarida serta minyak esensial (Murty and Kiran, 2013; Galina *et al.*, 2009). Menurut Gao and Wu (1994), tanaman obat dapat merangsang perkembangan organ yang berhubungan dengan respon imun seperti thymus dan limpa (maupun meningkatkan produksi antibodi). Selain itu, produk tanaman alami dapat berfungsi sebagai antistres, promotor pertumbuhan, meningkatkan nafsu makan dimana semua bahan-bahan tersebut tidak mengganggu kesehatan ikan serta aman bagi lingkungan dan kesehatan manusia.

Saat ini banyak produk tanaman alami yang sudah digunakan sebagai modulator imun pada berbagai jenis ikan seperti *Pagros major* (Ji et al., 2007), *Epinephelus tauvina* (Punitha et al., 2008), Rainbow trout (Nya and Austin, 2009), ikan nila (Yin et al., 2006; Sudhakaran et al., 2006), ikan mas (Syahidah dkk., 2013), ikan patin (Safratilofa dkk., 2015). Keuntungan utama dari penggunaan tanaman obat yaitu merupakan bahan alami, aman bagi ikan, kesehatan manusia maupun lingkungan (Gabor et al., 2010).

Akar kucing (*Acalypha indica*) merupakan salah satu tanaman liar yang banyak tumbuh sebagai gulma dipinggiran jalan, pinggiran pagar ataupun dipinggiran gedung-gedung. Tanaman ini merupakan tanaman obat yang sudah sering digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati berbagai penyakit (Arisandi, 2008; Jagathesswari et al., 2015). Penelitian tentang penggunaan akar kucing dalam budidaya belum banyak tersedia sehingga dibutuhkan penelitian. Penggunaan ekstrak akar kucing telah diketahui mampu meningkatkan performa pertumbuhan ikan (Ratusmanga dkk., 2022). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penggunaan ekstrak daun akar kucing terhadap respon imun benih ikan nila khususnya total leukosit dan aktivitas fagositosis dan menetapkan konsentrasi ekstrak daun akar kucing yang paling efektif meningkatkan total leukosit dan aktivitas fagositosis benih ikan nila.

## METODE PENELITIAN

### Ikan uji

Ikan uji yang digunakan adalah benih ikan nila berukuran panjang 5-8 cm yang

diperoleh dari Balai Pemberian dan Pengendalian Hama Penyakit Ikan Tateli. Ikan yang diperoleh dimasukkan dalam kantong plastik dan diberikan oksigen untuk selanjutnya dibawah ke Laboratorium Teknologi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado.

### Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah daun akar kucing (*A. indica*) dimana tanaman ini dikumpulkan dari seputaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan seputaran pinggiran jalan dimana tanaman ini banyak tumbuh secara liar dan bahkan menjadi gulma.

### Ekstraksi

Tanaman akar kucing yang sudah dikumpulkan dipisahkan terlebih dahulu daunnya, dicuci bersih, dikering-anginkan dalam suhu ruang, dan digiling menggunakan blender untuk menghasilkan tepung daun. Tepung daun selanjutnya diekstrak dengan metode maserasi mengikuti prosedur Babiladevi (2017). Caranya, tepung daun ditimbang sebanyak 40 gram kemudian direndam dalam 200 mL etanol (perbandingan antara tepung dan pelarut 1:5) sambil sesekali diaduk agar mempercepat proses penyerapan bahan bioaktif ke dalam media pelarut. Setelah perendaman berlangsung selama 24 jam, ekstrak disaring menggunakan kertas saring whatman nomor 42 dan ampasnya direndam kembali dengan pelarut yang sama dan jumlah yang sama dengan waktu perendaman yang sama yaitu selama 24 jam dan disaring kembali. Proses perendaman ini dilakukan sebanyak 3 kali sampai ekstrak sudah berwarna bening.

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipekatkan melalui proses penguapan selama 3 hari sampai dihasilkan ekstrak pekat atau sekitar 30% dari total ekstrak.

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dimana masing-masing perlakuan memiliki 3 ulangan. Sebagai perlakuan adalah konsentrasi ekstrak berbeda sebagai berikut: A: 0 g ekstrak pekat/kg pakan, B: 10 g ekstrak pekat/kg pakan, C: 20 g ekstrak pekat/kg pakan, D: 30 g ekstrak pekat/kg pakan dan E: 40 g ekstrak pekat/kg pakan.

### Persiapan Pakan Uji

Ekstrak pekat ditimbang sesuai dengan masing-masing dosis perlakuan kemudian masing-masing dosis diencerkan dalam 100 mL akuades. Larutan selanjutnya ditambahkan dalam pakan dengan cara disemprotkan secara merata menggunakan alat semprot (spayer). Pakan yang sudah mengandung ekstrak dikering-anginkan, setelah kering pakan dilapisi (coating) dengan kuning telur sebanyak 2% dan dikering-anginkan kembali. Selanjutnya pakan yang sudah kering dimasukkan ke dalam kotak plastik dan disimpan ke dalam lemari pendingin sampai saat digunakan.

### Prosedur Percobaan

Ikan uji yang telah dibawah ke Laboratorium Teknologi Akuakultur kemudian diaklimatisasikan selama 14 hari untuk penyesuaian lingkungan dalam kondisi laboratorium. Selama proses alkrimatisasi ikan diberi pakan pelet (HI PRO-VITE 781-2 N) yang belum ditambahkan dengan ekstrak pekat akar kucing. Setelah proses

aklimatisasi selesai ikan uji ditebar ke dalam wadah penelitian dengan kepadatan sebanyak 10 ekor benih ikan/ember. Pemberian pakan perlakuan (pakan yang sudah ditambahkan ekstrak pekat) dilakukan dengan frekuensi 2 kali sehari yaitu pada pukul 09.00 WITA dan pukul 16.00 WITA dengan dosis 5% per berat badan/hari. Selama 30 hari masa pemeliharaan wadah yang digunakan dilengkapi dengan aerator dan sebuah pompa air untuk proses resirkulasi air. Penyimpanan terhadap sisa-sisa pakan maupun kotoran ikan yang terkumpul di dasar wadah juga dilakukan untuk menjaga kualitas air. Penggantian air dilakukan setiap 3 hari sekali tergantung pada kondisi air. Berat benih ikan ditimbang 2 minggu sekali untuk menyesuaikan jumlah pakan yang dibutuhkan untuk masing-masing ulangan.

### Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan adalah total leukosit dan aktivitas fagositosis. Sampel darah ikan diambil dari *caudal vein* dengan mengikuti prosedur Stolen *et al.* (1990). Dalam prosedur ini pengambilan darah menggunakan sput berkapasitas 1 mL yang sebelumnya telah dibilas dengan EDTA 10% sebagai anti koagulan. Darah yang sudah diperoleh kemudian dipindahkan menggunakan mikro pipet berukuran 50  $\mu$ L ke dalam 2 buah *eppendorf* yang juga telah dibilas dengan EDTA.

Pengukuran total leukosit dikerjakan dengan menambahkan larutan Turk's sebanyak 450  $\mu$ L ke dalam *eppendorf* yang sudah berisi 50  $\mu$ L darah. Campuran darah dan Turk's diayun-ayunkan secara perlahan-lahan kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam temperatur ruang, selanjutnya total

leukosit dihitung dengan menggunakan hemasitometer.

Penghitungan aktivitas fagositosis dilakukan dengan menambahkan 50  $\mu\text{L}$  sel ragi roti sebagai stimulan ke dalam eppendorf yang sudah diisi dengan 50  $\mu\text{L}$  darah. Campuran sel darah dan sel ragi diinkubasi selama 20 menit kemudian dibuat ulasan darah. Ulasan darah dikering-anginkan selanjutnya dibuat pewarnaan Giemsa, dan diamati di bawah mikroskop cahaya. Aktivitas fagositosis dihitung dengan cara mengamati jumlah sel leukosit sebanyak 50-100 sel. Aktivitas fagositosis dihitung dengan formula:

$$\text{AF (\%)} = (\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan pemangsaan}/\text{Jumlah sel fagosit teramat}) \times 100$$

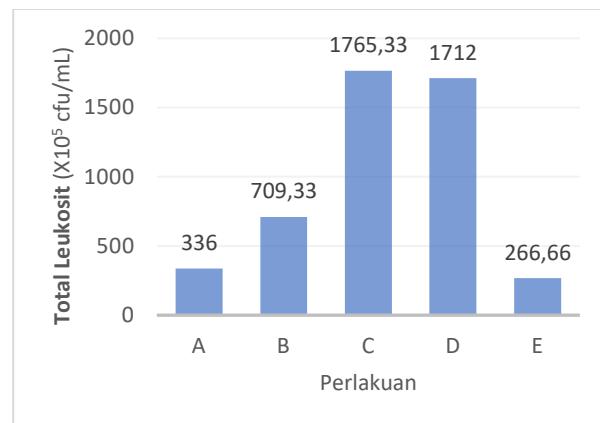
### Analisis Data

Data total leukosit dan aktivitas fagositosis dianalisis menggunakan ragam (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tanaman akar kucing. Jika berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk mengkaji perbedaan pengaruh antar perlakuan yang diberikan. Analisis data dikerjakan menggunakan bantuan perangkat lunak SPSS 24 untuk windows.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total leukosit

Hasil penelitian mendapatkan bahwa penambahan ekstrak daun akar kucing dalam pakan meningkatkan total leukosit. Jumlah total leukosit tertinggi diperoleh pada ikan yang diberi perlakuan C, kemudian diikuti oleh perlakuan D dan terendah diperoleh pada perlakuan E (Gambar 1).



Gambar 1. Total leukosit ( $\times 10^5$  cfu/mL) benih ikan nila yang diberi perlakuan ekstrak daun akar kucing selama 30 hari

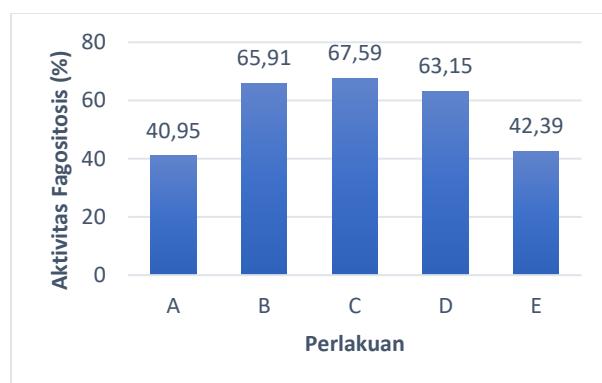
Berdasarkan analisis ragam didapatkan bahwa penambahan ekstrak akar kucing dalam pakan berpengaruh sangat nyata terhadap peningkatan jumlah total leukosit ( $p<0,01$ ). Hasil uji menunjukkan bahwa perlakuan C tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan D. Perlakuan C dan perlakuan D tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan B, perlakuan A dan perlakuan E. Perlakuan B berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan A dan perlakuan E. Sedangkan perlakuan A dan perlakuan E tidak saling berbeda nyata.

Penelitian yang dikerjakan ini mendapatkan bahwa pemberian ekstrak sampai pada dosis 20 g/kg pakan (perlakuan C) dapat meningkatkan total leukosit ikan. Penambahan dosis yang lebih tinggi memberi nilai yang semakin menurun. Kondisi ini menunjukkan bahwa pada dosis yang tinggi atau berlebihan pemberian ekstrak tidak mampu lagi merangsang produksi leukosit ikan, sebaliknya menekan sistem imun yang ditunjukkan dengan menurunnya jumlah leukosit. Hasil ini sejalan dengan pernyataan Sakai (1999) bahwa pemberian suatu bahan immunostimulan dipengaruhi oleh 2 faktor

yaitu dosis dan lama waktu pemberian. Pada dosis yang rendah bahan immunostimulan tersebut mungkin belum mampu merangsang produksi leukosit sedangkan pada dosis yang terlalu tinggi dengan waktu pembersian yang lama dapat bersifat *immunosuppression* sehingga menekan sistem imun ikan yang ditunjukkan dengan menurunnya total leukosit.

### Aktivitas Fagositosis

Hasil penelitian memperlihatkan penambahan ekstrak daun akar kucing dalam pakan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap peningkatan aktivitas fagositosis ( $p<0,01$ ). Nilai tertinggi tercapai pada ikan yang diberi perlakuan C, kemudian pada perlakuan B dan D, serta paling rendah dicapai pada perlakuan A (kontrol). Data hasil penelitian terhadap aktivitas fagositosis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas fagositosis (%) benih ikan nila yang diberi perlakuan ekstrak daun akar kucing

Selanjutnya hasil uji lanjut Duncan menunjukkan perlakuan C, B dan D tidak saling berbeda nyata namun berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan A dan perlakuan E. Selanjutnya, perlakuan E dan perlakuan A tidak saling berbeda nyata.

Peningkatan aktivitas fagositosis dalam penelitian ini terjadi diduga karena ekstrak daun akar kucing mengandung bahan-bahan yang mengandung alkaloid, flavonoid, *catachol*, senyawa fenol, steroid dan saponin (Kirom dan Ramadhania, 2017).

Imunostimulan adalah suatu bahan yang apabila diberikan pada ikan dapat merangsang peningkatan sistem imun non-spesifik. Umumnya imunostimulan yang banyak digunakan untuk ikan maupun udang berupa  $\beta$ -glucan, LPS, nukleotida, vitamin C dan lain-lain (Raa, 2000 dan Sakai, 1999). Pada penelitian ini imunostimulan yang digunakan berasal dari ekstrak daun akar kucing. Ekstrak daun akar kucing mengandung bahan-bahan aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, akalifin dan sterol yang selain bersifat sebagai anti mikroba juga merangsang peningkatan sistem imun.

Penelitian ini menemukan bahwa pemberian ekstrak daun akar kucing pada ikan nila selama 30 hari dapat meningkatkan respon imun non spesifik yang ditunjukkan dengan peningkatan total leukosit dan aktivitas fagositosis. Peningkatan ini terjadi karena menurut Syahidah *et al.* (2014), tanaman obat kaya akan bahan-bahan yang dapat merangsang dan memodulasi respon imun non spesifik untuk mengontrol penyakit pada ikan maupun kerang-kerangan.

Laporan-laporan penelitian tentang penggunaan ekstrak daun akar kucing sebagai immunostimulan pada ikan belum banyak tersedia. Namun demikian berbagai ekstrak tanaman obat lainnya sudah dilaporkan terbukti mampu meningkatkan sistem imun ikan yang meliputi peningkatan aktivitas lisosim, fagositik, komplemen,

*respiratory burst activity* dan peningkatan protein plasma (Reverter *et al.*, 2014; Rahman, 2017). Sebagai contoh Kumar *et al.* (2014) melaporkan bahwa pemberian ekstrak tanaman kemangi hutan/ruku-ruku (*Ocimum tenuiflorum*), jahe (*Zingiber officinale*) dan bawang bombay (*Allium cepa*) sebanyak 0,5 g/kg pakan sebagai immunasimulan pada benih ikan lundu/keting (*Mystus montanus*) dapat meningkatkan parameter hematologi termasuk di dalamnya sel leukosit yang jumlahnya berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Menurut Murty and Kiran (2013), daun kemangi (*Ocimum sanctum*) mengandung bahan fenolik yang larut dalam air dan berbagai bahan lainnya seperti eugenol, methyl eugenol dan caryophyllene yang berfungsi sebagai immunostimulan. Selain itu, produk tanaman obat ini mengandung bahan aktif seperti alkaloid, flavonoid, pigmen, fenolik, terpenoid, steroid dan minyak esensial yang dapat merangsang berbagai aktivitas seperti anti stres, promotor pertumbuhan, peningkatan pertumbuhan, merangsang nafsu makan, merangsang sistem imun dan aktivitas anti mikroba.

Yin *et al.* (2009) melaporkan bahwa penggunaan ekstrak jamur *Ganoderma* dan *Astragalus* yang dikombinasikan dengan vaksin pada ikan mas memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan fagositosis dan aktivitas lisosim serta *respiratory burst*. Respon imun non spesifik juga meningkat pada ikan yang diberi ekstrak tanaman obat dibandingkan dengan kontrol.

Harikrishnan *et al.* (2010) melaporkan bahwa menambahkan ekstrak tanaman obat ke dalam pakan dapat merangsang peningkatan sistem imun non spesifik ikan goldfish (*Carassius auratus*)

melawan infeksi. Ekstrak daun urang aring (*Eclipta alba*) yang ditambahkan dalam pakan secara nyata meningkatkan aktivitas indesfagositik, total leukosit dan titer antibodi pada tikus (Kirubakaran *et al.*, 2010). Christyapita *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa penambahan ekstrak daun urang aring (*E. alba*) dalam pakan ikan nila meningkatkan respon imun non spesifik dan resistensi ikan terhadap *Aeromonas hydrophila*.

Marentek *dkk.* (2013) mendapatkan penambahan ekstrak bawang putih dalam pakan dengan dosis 20 g/kg pakan dapat meningkatkan total leukosit dan aktivitas fagositosis ikan nila setelah diberikan selama 4 minggu. Penggunaan jahe juga telah dilaporkan dapat meningkatkan pertumbuhan konversi pakan efisiensi protein serta meningkatkan jumlah neutrol, makropag, limposit serta meningkatkan aktivitas fagositosis *respiratory burst*, lisosim, bakterisida dan anti protease (Murty and Kiran, 2013; Payung *et al.*, 2017).

Ji *et al.* (2007) mendapatkan bahwa pemberian ekstrak tanaman obat *Cnidium officinale* pada ikan red sea bream *Pagrus major* berukuran rata-rata 24 gram dapat meningkatkan respon imun non spesifik maupun pertumbuhan setelah diberikan selama 12 minggu. Hasil penelitian Subeenabegum and Navaraj (2016), mendapatkan bahwa penggunaan ekstrak daun *Solanum tribolatum* dan *O. sanctum* pada ikan *Mystus keletius* selama 4 minggu meningkatkan aktivitas fagositosis, serum anti protease dan *myeloperoxidase* dimana peningkatan tersebut lebih tinggi pada ikan yang diberi *S. tribolatum* dibandingkan dengan *O. sanctum*.

Herlina (2017) melaporkan bahwa ikan mas yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebanyak 5 g/kg pakan dan diberikan selama 28 hari memiliki total leukosit dan kelangsungan hidup ikan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan kontrol maupun perlakuan 10 g/kg pakan. Ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*), daun sirsak (*Annona muricata*) juga telah dilaporkan dapat meningkatkan total leukosit, eritrosit dan hematokrit ikan mas (Arinda dkk., 2014; Nurjannah dkk., 2013).

### KESIMPULAN

Pemberian pakan dengan penambahan ekstrak daun akar kucing pada benih ikan nila dapat meningkatkan respon imun yang ditunjukkan dengan meningkatnya total leukosit dan aktivitas fagositosis. Total leukosit dan aktivitas fagositosis terbaik dicapai pada dosis 20-30 ekstrak pekat daun akar kucing g/kg pakan dengan lama pemberian 30 hari.

### DAFTAR PUSTAKA

- Arinda C, Sarjito S, Prayitno B. 2014. Pengaruh penambahan serbuk lidah buaya (*Aloe vera*) dalam pakan terhadap kelulushidupan dan profil darah ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Journal of Aquaculture Management and Technology. 3(3): 66-75.
- Arisandi YA. 2008. Khasiat Tanaman Obat. Pustaka Buku Murah, Jakarta (ID).
- Awad E, Awaad A. 2017. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. Fish & Shellfish Immunology Vol. 67: 40-54
- Babiladevi B. 2017. Antifungal activity of *Acalypha indica* and *Acacia nilotica* against pathogenic fungi. Life Science Archives (LSA) Vol 3 (4): 1104-1111.
- Babu DT, Antony SP, Joseph SP, Brighth AR, Philip R. 2013. Marine Yeast *Candida Aquetexloris* S527 as a poreniyal immunostimulant black tiger shrimp *Peneus monodon*. Journal of Invertebrata Pathology. 122: 243-252.
- Biswas G, Korenaga H, Takayama H, Kono T, Shimokawa H, Sakai M. 2012. Cytokine responses in the common carp, *Cyprinus carpio L.* treated with baker's yeast extract 356-357: 169-175.
- Christybapita D, Divyagnaneswari M, Michael RD. 2007. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. Fish Shellfish Immunology. 23(4): 840-852.
- Citarasu T. 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquacult Int., 18: 403-414.
- Gabor EA, Sara A, Barbu A. 2010. The effects of phytoadditives on growth, Health and meat quality on different species of fish. Animal sciens and biotechnologies. 43(1): 61-65.
- Galina J, Yin G, Ardo L, Jeney Z. 2009. The use pf immunostimulating herbs in fish. An overview of research. Fish Physiol Biochem. 35: 699-676.

- Gao X, Wu W. 1994. The effect of Dang-Gui (*Angelica sinensis*) and ferulic acid on mice immune system. Chin J Biochem Pharmaceutics. 15: 107-110.
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS. 2010. Herbal supplementation diets on haematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology. 28(2): 354-361.
- Herlina S. 2017. Efektivitas ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) untuk meningkatkan respon imun non spesifik dan kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio*). Jurnal Ilmu Hewani Tropika. 6(1): 1-4.
- Jagatheeswari D, Deep J, Ali HSJ, Ranganatha P. 2015. *Acalypha indica*, L. an Important Medicinal Plant : A Review Of Its Traditional Uses, And Pharmacological Properties. Int J Res Botany 3(1): 19-22.
- Ji SC, Takaoka O, Jeong GS, Lee SW, Ishimaru K, Seoka M, Takii K. 2007. Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red sea bream *Pagrus major*. Fisheries science. 73: 63-69.
- Kirom HS, Ramadhania ZM. 2017. Review Artikel: Aktivitas Biologis Tanaman Kucing-Kucingan (*Acalypha indica*). Farmaka. 15(3): 162-169.
- Kirubakaran CJ, Alexande CP, Michael RD. 2010. Enhancement of non specific immune responses and disease resistance on oral administration of *Nyctanthes arbortristis* seed extract in *Oreochromis mossambicus* (Peter). Aquaculture Research. 41: 1630-1639.
- Kumar S, Raman RP, Pandey PK, Mohanty S, Kumar A, Kumar K. 2013. Effect of orally administered azadirachtin on non-specific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn. 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology. 34: 564-573.
- Kumar K, Chelladurai G, Veni T, Peeran SSH, Mohanraj J. 2014. Medicinal plants as immunostimulants for health management in India cat fish. Journal of Coastal Life Medicine. 2(6): 426-430.
- Marentek GA, Manoppo H, Longdong SNJ. 2013. Kajian penggunaan bawang putih (*Allium sativum*) dalam meningkatkan respon imun nonspesifik dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Budidaya Perairan. 1(1): 1-7.
- Murty KS, Kiran BR. 2013. Review of Medicinal Plants In fish Diseases. Int J Pharm Bio Sci 4(3): 975-986.
- Nurjannah RDD, Prayitno SB, Sarjito, Lusiastuti AM. 2013. Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap profil darah dan kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Journal of Aquaculture Management and Technology. 2(4): 72-83.
- Nya EJ, Austin B. 2009. Use of dietary ginger. *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunopstimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

- (Walbaum). Journal of fish deseases 32: 971-977.
- Payung CN, Tumbol RA, Manoppo H. 2017. Dietary ginger (*Zingiber officinale*) enhance resistance of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. AACL Bioflux 10(4): 962-968.
- Punitha SMJ, Babu MM, Sivaram V, Shankar VS, Dhas SA, Mahesh TC, Immanuel G, Citarasu T. 2008. Immunostimulating influence of herbal biomedicines on non specific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture international 16: 511-523.
- Raa J. 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. Avances en Nutricion Acucola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutricion Acuicola, Mexico.
- Raman RP. 2017. Application of herbal-based immunostimulants in aquaculture: an overview dalam Molucular Immunology of Fish and Shellfish Mumbai. Hal: 97-105.
- Ratusmanga J, Hutagaol AF, Manoppo H, Lantu S, Tumbol RA, Mokolensang JF, Kaligis EY. 2022. Efektivitas Ekstrak Daun Akar Kucing (*Acalypha indica*) dalam Meningkatkan Pertumbuhan Ikan Nila, *Oreochromis niloticus*. Jurnal Budidaya Perairan. 10(1): 66-72.
- Reverter M, Bontemps N, Lecchini D, Banaig B, Sasal P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculturre as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. Aquaculture. 433: 50-61.
- Safratilofa WD, Jusadi D, Setiawati M. 2015. Pengaruh ekstrak daun kayu manis *Cinnamomum burmanii* terhadap respon imun non spesifik ikan patin *Pangasianodon hypophthalmus*. Jurnal ikhtiologi Indonesia 15(3): 223-233.
- Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172: 63-91.
- Stolen SJ. 1990. Techniques in immunologi. 1<sup>st</sup> Ed. SOS Publication 43 de Normandie A Venue Fair Haven. NJ 07703-3303.
- Subeenebegum S, Navaraj PS. 2016. Dietary supplement of mixture of medicinal plant leaf extracts on immune response of fresh water fish *Mystus keletius*. International Journal of Applied Reseaech. 2(2): 361-364.
- Sudhakaran DS, Sriekha P, Devasree LD, Prem Singh S, Michael RD. 2006. Immunostimulatory effesct of *Tinospora cordifolia* miers leaf extract in *Oreochromis niloticus*. Indian journal of experimental biology 44:726-732.
- Syahidah IEA, Sarjito, Prayitno SB, Mariana A. 2013. Pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap profil darah dan kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Journal of aquaculture management and techonology 2(4): 92-107.
- Syahidah A, Sadd CR, Daud HM, Y. Abdelhadi YM. 2014. Status and potential of herbal applications in

- aquaculture: A review. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 14(1): 27-44.
- Turker H, Yildirim AB, Karakas FP. 2009. Sensitivity of Bacteria Isolated from Fish to Some Medicinal Plants. Turkish Jurnal of Fisheries and Aquatic Sciences. 9: 181-186.
- Wu Y, Gong R, Fang QF, Liang H, Chen WW, He MRJ. 2013. Effect of *Sophora flavescens* on non-specific immune response of tilapia GIFT (*Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Streptococcus agalactiae*. Fish & Shellfish Immunology 34(1): 220-227.
- Yin G, Jeney G, Racz T, Xu P, Jun X, Jeney Z. 2006. Effect of two chinese herb (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 253: 39-47.
- Yin G, Aldo L, Thomposon KD, Adam A, Jeney Z, Jeney G. 2009. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immunol. 26: 140-145.