

Pemanfaatan ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus* L. (Bent)) untuk meningkatkan respon imun benih ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

[Utilization of miana leaf extract (*Coleus atropurpureus* L. (Bent)) to increase immune response of Nile tilapia seed (*Oreochromis niloticus*)]

**Resiska Ta'dung<sup>1</sup>, Reiny A. Tumbol<sup>2</sup>, Joppy D. Mudeng<sup>2</sup>, Hengky J. Sinjal<sup>2</sup>,  
Cyska Lumenta<sup>2</sup>**

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

<sup>2)</sup> Staf pengajar pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

Penulis korespondensi: R. A. Tumbol, [reinytumbol@yahoo.com](mailto:reinytumbol@yahoo.com)

### **Abstract**

Treatment of diseases in fish farming generally uses synthetic chemicals and antibiotics, but long-term use is not recommended because of the impact on environmental pollution, antibiotic resistance (antimicrobial resistance/AMR), and residue accumulation in fish. Currently, research regarding the use of herbs as immunostimulants to control infectious diseases by increasing the immune response of fish in aquaculture is currently being carried out. One of the herbal plants that has the potential to control fish disease is the miana plant (*Coleus atropurpureus* L. (Bent)). The aims of this research were to examine the effect of miana leaf extract in increasing the phagocytic activity of tilapia seeds and to determine the concentration of miana leaf extract that can increase phagocytic activity. The test material used was miana leaves and for the test fish were tilapia seeds weighing 3.42 – 4.10 g. The leaves were separated from the stems, washed and crushed until smooth. Furthermore, the leaves were extracted by maceration method using 70% ethanol solvent. 50 g of leaves soaked in 250 mL of each solution or with a ratio of 1:5. The extract was then concentrated using a rotary evaporator to obtain a concentrated extract of 30% of the total extract. The results showed that the addition of miana extract in fish feed had a very significant effect on the phagocytosis activity of tilapia ( $p < 0.01$ ). The best results were achieved in fish treated with 2% concentrated miana extract/kg of feed with phagocytosis activity reaching 64.84% compared to the control which was 51.67%.

**Keywords:** Miana plants, immune response, maceration, Nile tilapia

### **Abstrak**

Penanganan penyakit pada budidaya ikan umumnya menggunakan bahan kimia sintetis dan antibiotik, namun penggunaan dalam jangka panjang tidak direkomendasikan karena berdampak pada pencemaran lingkungan, resisten antibiotik (*antimicrobial resistance/AMR*), dan akumulasi residu pada ikan. Tanaman herbal mulai banyak digunakan sebagai imunostimulan untuk mengontrol penyakit infeksi. Salah satu tanaman herbal yang berpotensi untuk mengontrol penyakit ikan adalah tanaman miana (*Coleus atropurpureus* L. (Bent)). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh ekstrak daun miana dalam meningkatkan

respon imun benih ikan nila dan menetapkan konsentrasi ekstrak daun miana yang mampu meningkatkan aktivitas fagositosis. Bahan uji yang digunakan adalah daun miana dan untuk ikan ujinya adalah benih ikan nila dengan bobot 3,42 – 4,10 g. Daun dipisahkan daun dari batangnya, dicuci bersih dan digerus sampai halus. Selanjutnya daun diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Daun sebanyak 50 g direndam dalam masing-masing larutan sebanyak 250 mL atau dengan perbandingan 1:5. Ekstrak selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai didapatkan ekstrak pekat sebanyak 30% dari total ekstrak. Hasil penelitian mendapatkan bahwa penambahan ekstrak miana dalam pakan ikan berpengaruh sangat nyata terhadap indeks fagositosis ikan ( $p < 0,01$ ). Hasil terbaik dicapai pada ikan yang diberi perlakuan 2% ekstrak pekat miana/kg pakan dengan aktivitas fagositosis mencapai 64,84% dibandingkan dengan kontrol hanya 51,67%.

**Kata kunci:** Tanaman iler, respon imun, maserasi, ikan nila

## PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki prospek untuk dikembangkan, karena ikan nila mudah berkembang biak dengan pertumbuhan relative cepat. Petani budidaya ikan nila biasanya menggunakan metode budidaya intensif untuk meningkatkan jumlah produksi (Pasaribu *dkk.*, 2015). Budidaya intensif akan memberi dampak negative bagi pembudidaya apabila pelaksanaannya tidak dikontrol dengan baik (Saparuddin dan Ilmu, 2021).

Slembrouck *dkk.* (2005) menyatakan bahwa dalam sistem budidaya baik semi intensif maupun intensif kepadatan ikan yang tinggi menyebabkan ikan rentan terhadap kondisi stres, sehingga ikan cenderung terserang penyakit. Kepadatan yang tinggi memudahkan penyebaran penyakit, karena adanya kontaminasi antar sesama ikan yang mendorong menyebarnya pathogen. Pengelolaan yang kurang baik dan tidak tepat juga menyebabkan lambatnya pertumbuhan ikan yang dibudidayakan/dipelihara.

Penyakit merupakan salah satu masalah yang sering dihadapi dalam aktivitas budidaya yang menyebabkan kerugian ekonomi yang besar (Ariefqi *dkk.*, 2020). Penyakit ikan dapat disebabkan oleh bakteri, virus, parasit, dan jamur yang menyerang ikan dalam sistem budidaya (Post, 1987). Penanganan penyakit pada budidaya ikan biasanya menggunakan bahan kimia sintetis dan antibiotik, namun penggunaan dalam jangka panjang tidak direkomendasikan karena berdampak pada pencemaran lingkungan, resisten antibiotik (*antimicrobial resistance/AMR*), dan akumulasi residu racun pada ikan (Stratev *et al.*, 2018). Penelitian-penelitian menyangkut penggunaan herbal sebagai imunostimulan untuk mengontrol penyakit infeksi melalui peningkatan respon imun ikan dalam usaha budidaya saat ini mulai banyak dilakukan (Prayoga, 2019; Ariefqi *dkk.*, 2020).

Usaha penanggulangan penyakit pada ikan yang efisien adalah dengan pemberian imunostimulan dari tanaman alami atau tanaman obat. Pemanfaatan tanaman obat perlu dikembangkan sebagai suplemen alternatif dengan tujuan untuk meningkatkan pertumbuhan hingga sistem imun ikan (Murty and Kiran, 2013).

Miana merupakan salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai tanaman hias. Secara tradisional tanaman miana telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti asma, batuk, penyakit hepatitis, penurunan demam, dan flu (Dalimartha, 2008). Menurut Swantara (2010), tanaman ini mengandung bahan bioaktif seperti minyak atsiri, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, lemak, fitosterol, kalsium oksalat dan polisakarida. thymol, karvakrol dan eugenol yang umumnya bersifat sebagai antimikroba.

Penanganan penyakit pada budidaya ikan perlu diperhatikan baik secara ekologi maupun ekonomi. Penggunaan bahan kimia sintetis dalam jangka waktu yang lama untuk dapat memberikan dampak negatif bagi lingkungan, manusia, biota yang dipelihara dan kerugian ekonomi. Oleh karena itu dilakukan penelitian dengan menggunakan bahan alami yang ramah lingkungan yaitu miana sebagai imunostimulan untuk memacu respon imun dan pertumbuhan ikan nila. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak daun miana dalam meningkatkan aktivitas fagositosis benih ikan nila dan menetapkan konsentrasi ekstrak daun miana yang mampu meningkatkan aktivitas fagositosis.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado pada bulan Desember 2022 sampai Januari 2023.

### Bahan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih ikan nila dengan bobot 3,42 – 4,10 g sebanyak 500 ekor. Ikan uji diambil dari Balai Pembibitan dan Pengendalian Hama Penyakit Ikan Tateli dan diangkut dengan transportasi darat (sepeda motor) ke Laboratorium Teknologi Akuakultur. Sebelum digunakan dalam percobaan ikan uji terlebih dahulu diaklimatisasi dalam kondisi laboratorium selama 1 minggu dan diberi pakan pelet komersil yang belum ditambahkan ekstrak. Frekuensi pemberian pakan 2 kali sehari yakni pukul 08.00 pagi dan pukul 16.00 sore dengan dosis 5% dari berat badan ikan per hari.

Bahan uji yang digunakan adalah tanaman miana (*Coleus atropurpureus* L. (Bent)). Bahan uji diambil dari pekarangan rumah di Kelurahan Bahu, Lingkungan 2 yang banyak ditanam sebagai tanaman hias. Daun miana segar dimasukkan ke dalam kantong plastik kemudian dibawa ke laboratorium untuk selanjutnya digunakan dalam penelitian. Proses ekstraksi dimulai dengan pertama-tama memisahkan daun dari batang kemudian dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil selanjutnya digerus.

### Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan masing-masing memiliki 3 ulangan. Ikan ditebar ke dalam akuarium setelah selesai diaklimatisasi, dengan kepadatan 10 ekor/akuarium yang berisi 72 liter air. Setiap akuarium dilengkapi dengan sebuah aerator sebagai penyalur oksigen ke dalam media pemeliharaan. Perlakuan yang digunakan adalah:

Perlakuan A: Tanpa ekstrak (kontrol)

Perlakuan B: 1% ekstrak pekat miana/kg pakan

Perlakuan C: 2% ekstrak pekat miana/kg pakan

Perlakuan D: 3% ekstrak pekat miana/kg pakan

Perlakuan E: 4% ekstrak pekat miana/kg pakan

### Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan bahan pelarut yaitu etanol 70%. Daun yang sudah digerus selanjutnya dimasukkan dalam gelas beker berkapasitas 1 liter untuk di maserasi (perendaman), dengan perbandingan daun:pelarut = 1:5 (Babiladevi, 2017). Daun yang digunakan sebanyak 50 g dan direndam dalam masing-masing pelarut sebanyak 250 mL. Perendaman dilakukan selama 24 jam kemudian disaring menggunakan kertas whatman nomor 42. Daun yang tertinggal direndam kembali dengan menambahkan pelarut dalam jumlah yang sama dan disaring kembali setelah 24 jam perendaman. Proses ini dilakukan tiga kali sampai ekstrak kelihatan bening.

Ekstrak yang diperoleh sebanyak 750 mL disatukan dalam wadah gelas beker 1 L dan dilakukan pemekatan menggunakan rotary evaporator. Larutan dianggap sudah pekat pada saat larutan yang tertinggal hanya sekitar 30% dari total volume awal atau sekitar 225 mL ekstrak pekat.

### Persiapan Pakan Uji

Pakan uji yang digunakan adalah pakan apung merek HI PRO-VITE 781-2 N. Pakan uji disiapkan dengan cara menambahkan 1%, 2%, 3%, dan 4% ekstrak miana ke dalam pakan komersil. Dosis 1% dihitung dengan cara:  $1/100 \times 500$  g pakan = 5 g ekstrak pekat. Selanjutnya 5 g ekstrak pekat dilarutkan

dalam aquades sebanyak 100 mL. Cara hitung yang sama dilakukan untuk mendapatkan dosis 4%.

Ekstrak pekat kemudian dimasukkan dalam alat semprot (Sprayer) dan disemprotkan pada pakan sebanyak secara merata. Pakan yang sudah mengandung ekstrak dikering anginkan dalam temperature ruang. Selanjutnya pakan dilapisi (coating) dengan kuning telur sebanyak 2%, untuk menyiapkan 500 g pakan maka kuning telur sebanyak 2% dihitung dengan cara:  $2/100 \times 500$  g pakan = 10 mL kuning telur. Pakan dikering anginkan kemudian disimpan dalam kotak plastik dan dimasukkan dalam lemari pendingin sampai saat digunakan.

### Prosedur Percobaan

Setelah selesai aklimatisasi ikan ditebar dalam 15 akuarium kaca masing-masing berukuran 60x40x40 cm dengan kepadatan 10 ekor/akuarium. Ikan diberi pakan uji (yang sudah dicampurkan ekstrak) dengan dosis 5% dari berat badan/hari sebanyak 2 kali sehari pada pukul 08.00 pagi dan pukul 16.00 sore. Lama pemberian pakan adalah 4 minggu (28 hari). Kualitas air juga akan dijaga tetap baik dengan cara menyipon sisa-sisa pakan maupun kotoran ikan setiap hari serta melakukan penggantian air setiap 3 hari sekali tergantung pada kondisi air.

Pada akhir pemberian pakan ikan disampling untuk mengambil darah guna mengukur parameter imun yaitu aktivitas fagositosis. Pengambilan darah dilakukan dengan menggunakan spuit berkapasitas 1 mL yang telah dibilas dengan EDTA 10% sebagai anti koagulan. Darah diambil dari *caudal vein* sebanyak 0,1 – 0,2 mL, kemudian dipindahkan ke dalam *ependrof* yang sudah dibilas EDTA sambil digoyang perlahan agar tidak terjadi penggumpalan.

Selanjutnya darah dipindahkan ke dalam 2 *eppendorf* baru yang juga telah dibilas EDTA menggunakan pipet berukuran 50  $\mu$ L. Darah yang sudah dipindahkan ke dalam *eppendorf* sebanyak 50  $\mu$ L ditambahkan dengan 50  $\mu$ L ragi roti sebagai stimulan untuk proses pemangsaan sel fagosit. Ragi roti yang digunakan disuspensikan 0,5 gram ke dalam larutan NaCl sebanyak 100 mL dan disentripus sebanyak 2 kali.

Selanjutnya campuran sel darah dan sel ragi diinkubasi selama 20 menit dengan tujuan agar sel leukosit dapat memangsa sel ragi yang diberikan. Setelah inkubasi selesai campuran sel darah dan sel ragi diteteskan pada kaca preparat yang sebelumnya sudah direndam alkohol 70% selama 10 menit. Proses pewarnaan ulas dengan Giemsa dikerjakan sesuai dengan prosedur (Pritchard and Kruse, 1982). Ulasan darah dikering anginkan dan selanjutnya dibuat pewarnaan Giemsa dengan prosedur sebagai berikut:

- a) Sediaan ulas direndam alkohol 95% selama 1 menit menggunakan staining jar (rak warna).
- b) Sediaan ulas diangkat, jika kelebihan alkohol ditiriskan dan dalam keadaan tetap basah, sediaan ulas direndam dalam larutan Giemsa selama 10 menit.
- c) Preparat diangkat dan dicuci dengan air bersih untuk mengeluarkan kelebihan larutan Giemsa.
- d) Preparat dikering anginkan dan siap diamati di bawah mikroskop cahaya.

Perhitungan aktivitas fagositosis dilakukan dengan cara mengamati jumlah sel leukosit sebanyak 50 – 100 sel. Formula perhitungan aktivitas fagositosis (AF) menurut Jensch-Junior *et al.* (2006):

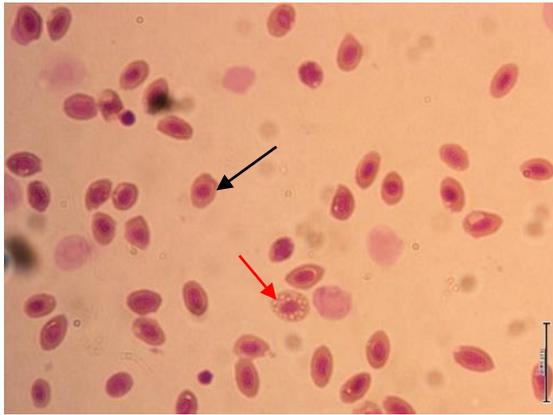
$$AF(\%) = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan pemangsaan}}{\text{jumlah sel fagosit teramati}} \times 100$$

### Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) untuk mengkaji pengaruh perlakuan terhadap aktivitas fagositosis. Jika berbeda nyata maka analisis dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk mengkaji perbedaan pengaruh antar perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian ekstrak miana dengan dosis berbeda pada pakan memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan aktivitas fagositosis benih ikan nila. Aktivitas fagositosis oleh sel fagosit/makrofag dari ikan nila setelah diberikan pakan dengan penambahan ekstrak miana sebanyak 2% sangat nyata lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas fagositosis yang tidak diberi perlakuan ekstrak miana. Aktivitas fagositosis diperlihatkan dengan adanya butiran ragi roti di dalam rongga sel fagosit dalam hal ini makrofag (Gambar 1. Panah merah). Sementara makrofag yang tidak melakukan aktivitas pemangsaan/fagositosis ditunjukkan dengan panah hitam (Gambar 1.). Peningkatan aktivitas fagositosis yang tinggi pada perlakuan C (2%) sebesar 64,84% diikuti oleh perlakuan B sebesar 55,34% dan yang terendah teramati pada ikan yang diberikan perlakuan A sebesar 51,67% (Tabel 1.)



Gambar 1. Aktivitas Fagositosis dari Makrofag Ikan Nila

Keterangan:

Anak panah merah : makrofag yang melakukan aktivitas fagositosis

Anak panah hitam : makrofag yang tidak melakukan aktivitas fagositosis

Tabel 1. Aktivitas fagositosis (%) benih ikan Nila yang diberi perlakuan ekstrak miana

Ulangan	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
1	50,00	50,63	57,85	55,07	55,32
2	51,43	55,71	65,98	55,06	51,56
3	53,57	59,68	70,68	53,57	52,00
Rataan	51,67	55,34	64,84	54,57	52,96

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan ekstrak miana dalam pakan ikan memperlihatkan pengaruh sangat nyata terhadap aktivitas fagositosis ikan. Berdasarkan uji lanjut Duncan aktivitas fagositosis ikan nila yang diberi perlakuan ekstrak miana dengan konsentrasi 2% berbeda nyata dengan aktivitas fagositosis ikan pada perlakuan A, E, D, B. Aktivitas fagositosis ikan pada perlakuan A, E, D, B tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Meningkatnya aktivitas fagositosis mengindikasikan adanya peningkatan kekebalan tubuh (Rustikawati, 2011). Peningkatan aktivitas fagositosis pada ikan

nila ini dikarenakan ekstrak daun miana mengandung senyawa flavanoid yang dapat meningkatkan aktifitas fagositosis. Rosnizar *dkk.* (2017) menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan kemampuan fagositosis secara cepat dalam menghancurkan antigen dan mikroorganisme intraseluler serta meningkatkan pertahanan terhadap antigen ekstraseluler. Kandungan senyawa tannin dalam ekstrak miana juga memiliki aktivitas antibakteri dengan kemampuannya untuk mengaktifkan enzim dan adhesin sel mikroba, serta mengganggu transport protein pada lapisan sel (Cowan, 1999).

Data ini menunjukkan bahwa apabila ekstrak miana diberikan dalam pakan dengan konsentrasi atau dosis yang tinggi, maka aktivitas fagositosis akan menurun. Menurut Sakai (1999), pemberian imunostimulan dipengaruhi oleh faktor dosis dan lama waktu pemberian. Apabila pemberian dosis terlalu rendah maka respon imun pada ikan akan muncul dalam waktu yang lama atau bahkan tidak ada respon pada ikan karena dosis yang diberikan belum cukup memacu respon imun pada ikan. Sebaliknya jika dosisnya tinggi dan diberikan dalam waktu yang berkepanjangan maka tidak akan memacu respon imun, tetapi justru akan menekan.

Dosis yang diberikan pada perlakuan E tergolong tinggi sehingga presentase aktivitas fagositosisnya lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan D, C, dan B. Menurunnya aktivitas fagositosis disebabkan daun miana mengandung tannin, jika kandungan tannin terlalu tinggi bisa menyebabkan ikan stress sehingga produksi leukosit terganggu (Sabri, 2019).

Tanaman obat sudah banyak digunakan dalam penelitian dan aktivitas budidaya untuk meningkatkan resistensi

ikan terhadap serangan penyakit. Payung dan Manoppo (2015) melaporkan bahwa penambahan ekstrak jahe dalam pakan ikan memberikan pengaruh yang nyata terhadap ikan nila yang dipelihara selama 4 minggu dengan rata-rata berat awal 27,31 g/ekor. Aktivitas fagositosis tertinggi dicapai pada perlakuan D (7,5 g/kg pakan) sebesar 64,48%.

Penambahan tepung mengkudu (*Morinda citrifolia* L) pada pakan dengan dosis 9 g/kg merupakan dosis terbaik untuk meningkatkan aktivitas fagositosis ikan nila (56,66 %) yang dipelihara selama 45 hari dengan ukuran ikan 8 – 12 cm (Yunita *dkk.*, 2016). Purbomartono *dkk.* (2020) melaporkan bahwa pemberian  $\beta$ -Glukan (7,5 g/kg pakan) yang ditambahkan pada pakan dapat meningkatkan aktivitas fagositosis ikan mas (25,33%) yang dipelihara selama 12 hari dengan ukuran ikan 8 – 10 cm.

Berdasarkan hasil penelitian Syaieba *et al.* (2019), penambahan larutan biji mangga harum manis pada pakan berpengaruh terhadap gambaran leukosit ikan patin siam (*P. hypophthalmus*) berukuran 8 – 12 cm dengan lama pemberian 60 hari yang dilihat dari adanya peningkatan total leukosit, leukokrit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis. Dosis terbaik terdapat pada P3 (2 mL/kg) dengan rata-rata total leukosit  $9,76 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, kadar leukokrit sebesar 1,67%, limfosit 82,00%, neutrofil 7,67%, monosit 10,33%, dan aktivitas fagositosis 31,67%.

Dari beberapa contoh penggunaan ekstrak tumbuhan sebagai bahan bersifat imunostimulan memperlihatkan bahwa daun miana berpotensi sebagai bahan suplemen pakan ikan untuk meningkatkan aktivitas fagositosis ikan benih ikan nila

dan pencegahan terhadap penyakit infeksi yang dapat merugikan usaha budidaya ikan.

## KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun miana (*C. atropurpureus* L. (Bent)) berpengaruh terhadap meningkatnya respon imun benih ikan nila (*O. niloticus*) yang ditandai dengan meningkatnya aktivitas fagositosis. Dosis yang terbaik untuk meningkatkan aktivitas fagositosis ikan nila (*O. niloticus*) adalah 2% ekstrak/kg pakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ariefqi MN, Syamsunarno MRAA, Rosdianto AM. 2020. Kajian Pustaka: Pemanfaatan herbal berkhasiat sebagai suplemen dalam penanggulangan penyakit pada ikan budidaya. Indonesia Medicus Veterinus 9(6): 1000-1009.
- Babiladevi B. 2017. Antifungal activity of *Acalypha indica* and *Acacia nilotica* against pathogenic fungi. Life Science Archives (LSA) 3(4): 1104-1111.
- Cowan MM. 1999. Plant product as antimicrobial agent. Clinical Microbiology Reviews 12(4): 564-582.
- Dalimartha S. 2008. Atlas tumbuhan obat jilid 5. Penerbit. PT Pustaka Bunda, Jakarta.
- Murty KS, Kiran BR. 2013. Review of medicinal plants in fish diseases. Int J Pharm Bio Sci 4(3): 975-989.
- Jensch-Junior BE, Pressinotti LN, Borges JC, Silva JR. 2006. Characterization of macrophage phagocytosis of the tropical fish *Prochilodus srofa*. Aquaculture 251(4): 509-515.

- Pasaribu W, Longdong SNJ, Mudeng JD. 2015. Efektivitas ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) untuk meningkatkan respon imun non spesifik ikan nila. *Jurnal Budidaya Perairan* 3(1): 83-82.
- Payung CN, Manoppo H. 2015. Peningkatan respon kebal non-spesifik dan pertumbuhan ikan nila (*O. niloticus*) melalui pemberian jahe, *Zingiber officinale*. *Jurnal Budidaya Perairan* 3(1): 11-18.
- Post G. 1987. Text book of fish health. T.F.H Publications, Inc. New Jersey
- Prayoga T. 2019. Evaluation of antibacterial activity in nanoparticles ointment preparation using ethanol extract of miana leaves (*Coleus atropurpureus* (L.) Benth). *Nanomed ResJ* 4(2): 69-76.
- Pritchard MH, Kruse GOW. 1982. The Collection and Preservation of Animal Parasites. University of Nebraska Press, London.
- Purbomartono C, Aditya Y, Mulia DS, Wuliandari JR, Husin A. 2020. Respon imun non-spesifik ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi  $\beta$ -Glukan melalui diet pakan. *Sainteks* 17(2): 115-124.
- Rosnizar R, Maulida S, Eriani K, Suwarno. 2017. Potensi ekstrak daun flamboyan (*delonix regia* (boj. ex hook.) raf. terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas makrofag. *Jurnal Bioleuser* 1(3): 104-115.
- Rustikawati I. 2011. Peningkatan imunitas ikan nila (*O. niloticus*) terhadap serangan *Streptococciosis* menggunakan ekstrak *Sargaasum* sp. *Ind. J. Appl. Sci*, 1(1): 18-30
- Sabri A. 2019. Pengaruh pemberian pakan yang mengandung propolis yang berbeda terhadap respons sistem imun non spesifik Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau 73 hlm.
- Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulan. *Aquaculture* 172: 63-92.
- Saparuddin, Ilmu E. 2021. Peningkatan respon imun ikan nila (*O. niloticus*) dengan pemberian ekstrak daun *Macaranga tanarius*. *Jurnal Biotek*, 9(2): 186-195.
- Slembrouck J, Komarudin O, Maskur, Legendre M. 2005. Manajemen Kesehatan Ikan. Petunjuk teknis pembenihan ikan patin indonesia, *Pangasius djambal*.
- Stratev D, Zhelyazkov G, Noundou XS, Krause RWM. 2018. Beneficial effects of medicinal plants and fish diseases. *Aquaculture Internasional* 26(1): 289-308.
- Swantara I. 2010. Isolasi dan identifikasi fraksi toksik ekstrak tumbuhan iler (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.). *Indonesia Jurnal of Cancer* 4(1): 9-13.
- Syaieba M, Lukistyowati I, Syawal H. 2019. Description of leukocyt of patin fish (*Pangasius hypophthalmus*) that feed by addition of harumanis mango seeds (*Mangifera indica* L.). *Asian Journal of Aquatic Sciences* 2(3): 235-246.
- Yunita I, Syawal H, Lukistyowati I. 2016. Penambahan tepung buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L) pada pakan terhadap perubahan aktivitas fagositosis, total eritrosit dan hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*). *Berkala Perikanan Terubuk* 44(3): 38-45.