

Jurnal Biotek

p-ISSN: 2581-1827 (print), e-ISSN: 2354-9106 (online)
Website: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/biotek/index>

PENINGKATAN RESPON IMUN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *Macaranga tanarius*

Saparuddin*, Edi Ilimu

Universitas Sembilanbelas November Kolaka, Indonesia

*Correspondence email: saparuddin.yadin@gmail.com

ARTICLE INFO	ABSTRAK
Article History Received : 12-11-2020 Accepted : 27-12-2021 Published : 31-12-2021	<p><i>Permasalahan petani budidaya ikan nila yaitu adanya penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, fungi dan parasit. Pencegahan yang dilakukan petani yaitu pemberian vaksin, antibiotik dan imunostimulan. Namun, hanya efektif pada satu jenis penyakit saja. Oleh sebab itu, diperlukan alternatif pencegahan dengan bahan alami dari ekstrak daun Macaranga tanarius dengan memiliki senyawa tannin, terpenoid, flavonoid, prenylflavonoid, dan lignan yang memiliki sifat imunostimulator. Ekstrak daun M. tanarius disuntikkan dengan cara injeksi secara intra muskulus ikan nila. Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan masing-masing lima perlakuan tiga ulangan. Perlakuan (P1) menggunakan larutan fisiologis (kontrol positif), P2 = 4 % (v/v) (1mL ekstrak + 24 mL akuades), P3 = 8 % (v/v) (2mL ekstrak + 23 mL akuades), P4 = 12 % (v/v) (3mL ekstrak + 22 mL akuades) dan P5 tanpa penyuntikan ekstrak daun M. tanarius (kontrol negatif). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak daun M. tanarius dapat merespon aktivitas fagositosis dan peningkatan jumlah sel darah putih. Hal ini dapat dilihat pada perlakuan P4 dengan jumlah sel darah putihnya sebesar (12,43 x 108 sel/mL) dan aktivitas fagositosis sebesar (45,82%). Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa ekstrak M. tanarius menunjukkan peningkatan respon imun ikan nila.</i></p>
Keywords: <i>count leukocytes, Macaranga tanarius, parrot fish, phagocytosis, response immum</i>	<p>ABSTRACT: <i>The problem of tilapia farming farmers is the presence of disease, which is caused by viruses, bacteria, fungi, and parasites. Prevention by farmers is the provision of vaccines, antibiotics, and immunostimulants. However, it is only effective in one type of disease. Therefore, alternative prevention is needed with natural ingredients from Macaranga tanarius leaf extract which has tannins, terpenoids, flavonoids, prenylflavonoids, and lignans that have immunostimulator properties. M. tanarius leaf extract was injected by intramuscular injection of tilapia. This research method used a completely randomized design (CRD) with five treatments with three repetitions. Treatment (P1) using physiological solution (positive control), P2 = 4 % (v/v) (1mL extract + 24 mL distilled water), P3 = 8 % (v/v) (2mL extract + 23 mL distilled water), P4 = 12% (v/v) (3mL extract + 22 mL distilled water) and P5 without</i></p>

injection of M. tanarius leaf extract (negative control). The results showed that the leaf extract of M. tanarius could respond to phagocytic activity (45.82%) and increase the number of white blood cells (12.43×10^8 cells/mL). Based on this study, the extract of M. tanarius showed an increase in the immune response of tilapia.

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan budidaya yang mudah berkembangbiak dengan pertumbuhan relatif cepat. Sifat tersebut dapat menguntungkan petani budidaya ikan air tawar, karena mempunyai prospek yang baik dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi ditandai dengan tingginya permintaan pasar. Petani budidaya ikan nila biasanya menerapkan metode budidaya secara intensif agar jumlah produksi semakin meningkat (Pasaribu, Longdong & Mudeng, 2015).

Metode budidaya secara intensif memiliki banyak dampak negatif jika pelaksanaannya tidak terkontrol dengan baik. Dampak negatif yang sering dialami oleh petani budidaya ikan nila dengan metode secara intensif ini adalah pencemaran yang tinggi. Pencemaran tersebut akan memicu timbulnya penyakit yang disebabkan oleh fungi, parasit, virus dan bakteri. Penyakit-penyakit tersebut muncul karena disebabkan oleh interaksi kompleks antara ikan budidaya, lingkungan budidaya dan beberapa organisme yang menyebabkan penyakit (Post, 1987).

Adanya penyakit pada lingkungan budidaya ikan nila tentunya akan menyebabkan kerugian secara ekonomi bagi para petani. Para petani budidaya melakukan pencegahan dengan memberikan antibiotik, vaksin dan imunostimulan (Payung & Manopo, 2015). Namun, pemberian vaksin dan antibiotik selain harganya yang mahal, juga memiliki keefektifan hanya pada satu jenis penyakit saja. Pencegahan dan pengobatan dengan vaksin dan antibiotik yang lama tentunya akan meningkatkan residu yang berbahaya bagi lingkungan dan secara tidak langsung berbahaya pada manusia. Selain itu, dapat menyebabkan mikroorganisme patogen resistensi yang akan menimbulkan kekebalan terhadap penggunaan vaksin dan antibiotik (Manurung, 2013).

Daun *Macaranga tanarius* mengandung dua *prenylflavonoid* sebagai komponen utama pada tanaman jantan dan betina yaitu *nymphaenol-B* dan *isonymhaenol-B* (Kumazawa, dkk., 2014). Menurut Carvalho, dkk., (2013) bahwa senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk menghambat siklus replikasi virus. Adapun yang termasuk senyawa flavonoid yaitu quercetin, morin, rutin, dan hesperidin secara *in vitro* mampu

menghambat replikasi virus pada tahap adsorpsi dan penetrasi. Senyawa tannin juga memiliki polimer yang mampu menghambat replikasi virus *immunodeficiency human* (HIV) dan virus herpes simpleks (HSV) (Lee, dkk., 2000). Senyawa-senyawa tersebut secara *in vitro* teruji sebagai anti virus, fungi, bakteri, dan patogen serta sebagai senyawa bioaktif. Berdasarkan uraian di atas perlu adanya uji coba secara *in vivo* untuk mengetahui keefektifan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *M. tanarius* sebagai imunostimulator pada ikan nila yang diberikan dengan metode injeksi.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Benih Ikan Wundulako Kabupaten Kolaka sebagai tempat pemeliharaan ikan nila. Sedangkan pengamatan jumlah sel darah putih dan aktivitas fagositosis dilaksanakan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Sembilanbelas November Kolaka. Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Mei 2020 hingga September 2020.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan *true eksperiment* dengan *posttest-only control desain* (Sugiyono, 2013), terdiri atas 2 kelompok yaitu kelompok pertama sebagai kontrol dan kelompok kedua sebagai eksperimen yang diberikan perlakuan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) tunggal dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan.

Prosedur Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan penelitian yaitu akuarium, aerasi, selang, oxymeter, pH meter, timba, gelas ukur, gelas kimia, jaring ikan, syring 1 ml, vacutainer, mikroskop, haemocytometer, kaca obyek, cawan petri, *hand counter*, sentrifus, gelas kimia, mistar plastik, dan pipet tetes. Bahan-bahan penelitian yaitu larutan (etanol, metanol, giemsa, turk), HCl 0,1 N, kertas label, akuades ikan nila, dan pakan ikan pellet.

Pembuatan Ekstraks Etanol Daun *Macaranga tanarius*

Daun *M. tanarius* yang telah dikumpulkan, dibersihkan dengan air dan ditiriskan. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 4-6 hari hingga daunnya berwarna hitam. Daun yang kering dihaluskan menggunakan blender hingga menghasilkan serbuk halus. Selanjutnya, serbuk direndam dengan larutan etanol 80%. Dilakukan penyaringan

dengan kertas saring sebanyak tiga kali secara berulang hingga warnanya pudar untuk memisahkan ampas dengan filtrat yang mengandung senyawa yang ikut larut dalam pelarut. Kemudian, diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan kecepatan putaran 80 rpm, dengan tekanan 175 mbar, pada suhu 60°C (Octarina, dkk., 2018).

Desain Perlakuan dan Pemeliharaan Ikan Nila

Penelitian ini dilakukan dengan lima perlakuan yaitu dua perlakuan kontrol (P) (positif dan negatif) dan tiga perlakuan dengan dosis yang berbeda dari ekstrak daun *M. tanarius*. Setiap perlakuan dilakukan dengan tiga ulangan. Dosis ekstrak diinjeksi pada intra muscular sebanyak 0,1 mL (Satyantini, dkk., 2016). Perlakuan (P1) sebagai kontrol positif dengan menyuntikkan larutan fisiologi sebanyak 0,1 mL/ekor. Perlakuan (P2) dengan dosis ekstrak 4% (v/v) sebanyak 0,1 mL/ekor, perlakuan (P3) dengan dosis ekstrak 8% (v/v) sebanyak 0,1 mL/ekor, perlakuan (P4) dengan dosis 12% (v/v) sebanyak 0,1 mL/ekor (Effendi & Widiastuti, 2014). Sedangkan perlakuan (P5) sebagai kontrol negatif tanpa dosis ekstrak. Setiap ulangan menggunakan 12 ekor ikan nila yang berumur tiga bulan atau sudah berukuran 4-5 cm dan masing-masing perlakuan dipelihara pada akuarium dengan ukuran (80 cm x 50 cm x 40 cm) sebanyak 15 akuarium selama 14 hari. Pemberian pakan dilakukan pagi dan sore dengan pakan komersil.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah jumlah sel darah putih dan aktivitas fagositosis. Selama penelitian, terdapat lima kali pengambilan darah ikan sebagai sampel yaitu pada hari ke-0 sebelum diinjeksikan ekstrak pada masing-masing perlakuan. Hari ke-1 yaitu satu hari setelah diinjeksikan ekstrak, hari ke-4 yaitu empat hari setelah diinjeksikan ekstrak, hari ke-7 yaitu tujuh hari setelah diinjeksikan ekstrak dan hari ke-14 yaitu empat belas hari setelah diinjeksi ekstrak. Darah diambil dengan alat *syiring* 1 mL yang mengandung anti koagulan pada bagian intra-vena (Lengka, Manoppo & Kolopita, 2013). Alat yang digunakan untuk menghitung jumlah sel darah putih adalah *haemocytometer*. Alat ini digunakan dengan mengisap sampel darah pada setiap perlakuan hingga skala 0,5, lalu ditambahkan larutan Turk's sampai skala 11, selanjutnya pipet diayunkan hingga bercampur rata selama 5 menit. Diteteskan pada kolom perhitungan sel *haemocytometer*. Kemudian diamati dan dihitung jumlah sel darah putihnya.

Pengukuran aktivitas fagositosis dilakukan dengan mengaktifkan ragi terlebih dahulu sebagai mikroorganisme untuk mengamati aktivitas fagositosis. Pembuatan ragi dilakukan dengan mencampurkan 0,05 mg ragi dan 0,1 g gula pasir, dilarutkan dalam air panas 70°C dengan volume 25 mL (Utami, 2009). Ragi yang aktif bersama dengan darah 50 µL dimasukkan ke dalam microtube. Sebelum diinkubasi dalam suhu ruangan suspense ragi dihomogenkan terlebih dahulu selama 15 menit. Selanjutnya, 5 iL dibuatkan sediaan ulasan (Octarina, dkk., 2018). Direndam dalam larutan giemsa selama 15 menit sebagai pewarna, dan dicuci dengan air mengalir, agar gambar sel terlihat jelas yang menunjukkan proses fagositosis.

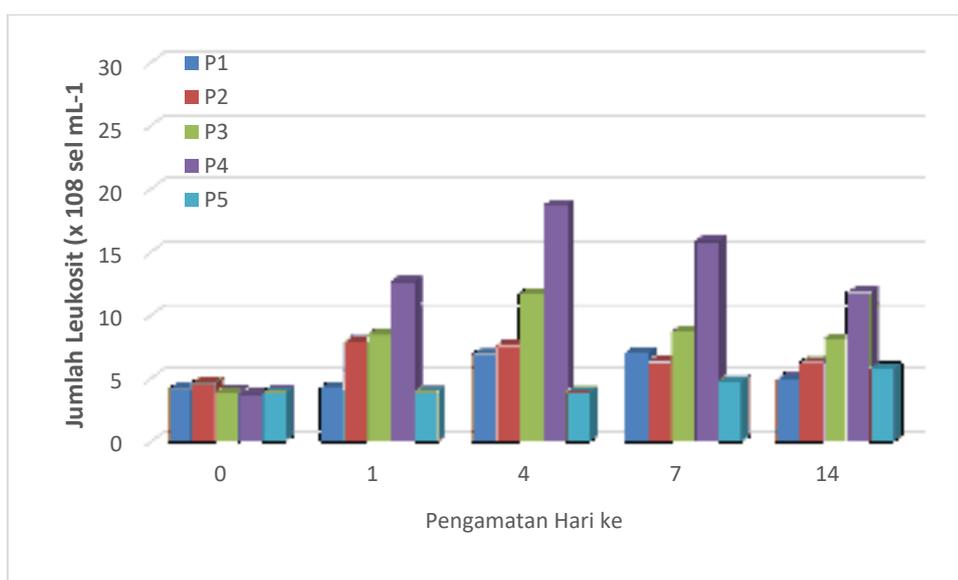
Analisis Data

Data hasil pengamatan meliputi jumlah sel darah putih dan aktivitas fagositosis menggunakan analisis ANOVA kemudian dilanjutkan uji duncan untuk menunjukkan pengaruh yang berbeda pada hasil tabel sidik ragam dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Sel Darah Putih

Sistem pertahanan tubuh pada ikan *teleostei* yang bersifat non-spesifik adalah sel darah putih (Uribe dkk., 2011). Jumlah sel darah putih yang menurun disebut leukopenia, sementara leukositosis merupakan peningkatan jumlah sel darah putih. Bentuk pertahanan tubuh ikan jika adanya infeksi virus yaitu meningkatkan produksi sel darah putih (Azhar, 2014). Hasil pengamatan jumlah sel darah putih dari 5 perlakuan dapat dilihat pada gambar 1.



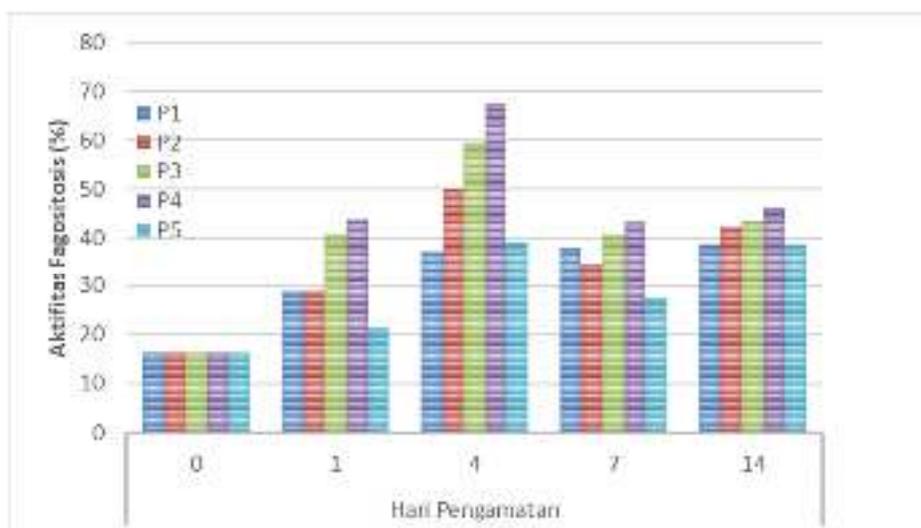
Gambar 1. Jumlah Sel Darah Putih Ikan Nila pada Semua Perlakuan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dosis ekstrak dapat meningkatkan jumlah sel darah putih. Pengamatan pada hari ke-0 menunjukkan jumlah sel darah putih ikan nila masih normal. Pengamatan pada hari ke-1 menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel darah putih dari jumlah awal (hari ke-0). Pada perlakuan P4 mengalami peningkatan jumlah sel darah putih yang tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P1 dan P5, namun tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan P2 dan P3. Pengamatan pada hari ke-4 untuk semua perlakuan menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel darah putih. Pada perlakuan P4 juga menunjukkan jumlah sel darah putih tinggi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan semua perlakuan.

Hasil pengamatan hari ke-7, perlakuan P4 jumlah sel darah putih mengalami penurunan dari jumlah leukosit pengamatan pada hari ke-4. Tetapi, perlakuan P4 memberikan respon berbeda nyata dengan semua perlakuan. Demikian juga pada pengamatan hari ke-14 bahwa jumlah sel darah putih mengalami penurunan lagi dari pengamatan pada hari ke-7. Hasil ini menandakan bahwa akan ada respon imun humoral jika ada antigen masuk dalam tubuh. 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 pemberian dosis ekstrak (Effendi & Widiastuti, 2014).

Aktivitas Fagositosis

Fagositosis merupakan proses penelanan partikel asing yang masuk ke dalam tubuh. Hasil pengamatan aktivitas fagositosis (%) ikan nila terdapat pada Gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas Fagositosis (%) Ikan Nila pada Semua Perlakuan

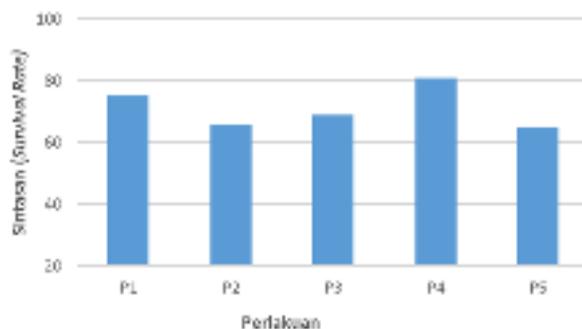
Sistem pertahanan tubuh ikan nila sama halnya dengan sistem pertahanan pada hewan lainnya, yaitu memiliki neutrofil. Selain itu, sel-sel fagositik juga mampu mengeliminasi benda-benda asing yang masuk dalam tubuh. Monosit dan makrofag termasuk bagian dari fagositik yang mampu menfagosit 100 bakteri. Monosit berfungsi untuk meningkatkan kekebalan tubuh ikan terhadap benda-benda asing yang masuk dalam tubuh ikan. Hal ini aktivitas fagositosis dapat dijadikan sebagai indikator sistem kekebalan tubuh ikan.

Pengamatan hari ke-0 menunjukkan aktivitas fagositosis ikan nila masih normal. Aktivitas fagositosis pada hari ke-1 menunjukkan bahwa perlakuan P4 tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P3, namun memberikan respon berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap P5, P1, dan P2. Pengamatan aktivitas fagositosis hari ke-4 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan semua perlakuan. Pada perlakuan P4 memiliki aktivitas fagositosis tertinggi dari semua perlakuan. Pengamatan pada hari ke-7 diketahui bahwa P4 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan (P5), (P2), dan (P1), tetapi tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P3. Pengamatan pada hari ke-14 P4 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P5 dan P1, namun tidak berbeda nyata dengan P2 dan P3.

Dari seluruh hasil pengamatan pada setiap perlakuan menunjukkan bahwa ekstrak daun *M. tanarius* dapat meningkatkan aktivitas fagositosis. Hal ini dapat dijadikan sebagai indikator peningkatan sistem imun pada tubuh ikan nila (Alifuddin, 2002). Proses fagositosis merupakan kontak antara sel fagositosis dan partikel dengan membran sel mengalami invaginasi yang menelan benda asing (Anderson, 1992).

Sintasan (SR)

Sintasan merupakan *survival rate* dari suatu populasi dalam jangka waktu tertentu. *Survival rate* ikan nila dengan waktu pemeliharaan selama 14 hari dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kelangsungan Hidup Ikan Nila pada Semua Perlakuan

Hasil pengamatan *survival rate* ikan nila dari setiap perlakuan menunjukkan bahwa tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P > 0,05$) diantara sesama perlakuan dalam 14 hari pemeliharaan. Persentase *survival rate* ikan nila dari seluruh perlakuan selama 14 hari adalah lebih dari 50%. Hal ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak yang diberikan pada setiap perlakuan masih bisa ditoleransi oleh ikan nila. Menurut Taufik (1984) bahwa *survival rate* ikan sangat dipengaruhi oleh kualitas air karena setiap terjadinya perubahan satu parameter kualitas air maka parameter-parameter yang lain ikut terpengaruh.

Kualitas Air

Air merupakan media pemeliharaan ikan nila yang harus diperhatikan kualitasnya, karena menentukan kelangsungan dan kebutuhan biota air yang dapat diamati dari berbagai karakter yaitu karakter fisik, kimia dan biologisnya. Hasil pengamatan kualitas air selama penelitian, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas Air Selama Penelitian

Perlakuan <i>treatment</i>	Parameter (<i>Parameter</i>)		
	Suhu Temperatur (°C)	pH	DO (mg L ⁻¹)
P1	25-29	6,9 – 7,5	5,7 – 6,4
P2	26-29	6,9 – 7,6	5,6 – 6,2
P3	27-28	7,0 – 7,4	5,7 – 6,2
P4	26-29	6,9 – 7,5	5,6 – 6,0
P5	25-28	6,9 – 7,5	5,7 – 6,1
SNI	25-30	6,5 – 8,5	≥50

Hasil pengamatan kualitas air yang diukur dan mendukung pemeliharaan ikan nila selama penelitian yaitu suhu, pH dan DO menunjukkan kondisi baik. Hasil parameter kualitas air ini sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) dalam pemeliharaan ikan nila. Selama penelitian keadaan suhu air berkisar 25-29 °C. Perubahan suhu dapat mempengaruhi sistem imun ikan, menyebabkan stress ikan, dan akan mempengaruhi perkembangbiakan ikan (Manurung, 2013). Hasil pengamatan oksigen yaitu berkisar antara 5,1-6,1 mg L⁻¹. Keadaan ini dapat memenuhi kelayakan pemenuhan oksigen ikan nila yaitu berkisar antara 6,5-12,5 mg L⁻¹ (Anderson, 1992). Hasil pengamatan pH selama penelitian sudah sesuai dengan standar nasional ikan nila yakni berkisar antara 6,9-7,5.

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa ekstrak daun *M. tanarius* dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan nila, ditandai dengan meningkatnya jumlah sel darah putih dan aktivitas fagositosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. (2002). Imunostimulasi pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 1(2), 87-92. <https://doi.org/10.19027/jai.1.87-92>
- Anderson, D.P. (1992). Immunostimulant, Adjuvant And Vaccine Carrier In Fish: Applications To Aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 281-307. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90067-8)
- Azhar, F. (2014). Pengaruh Pemberian Probiotik Dan Prebiotik Terhadap Performan Juvenil Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes Altivelis*). *Buletin Veteriner Udayana*, 6(1), 1-9. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/buletinvet/article/view/8877>
- Carvalho, O.V., Botelho, C.V., Ferreira, C.G.T., Ferreira, H.C.C., Santos, M.R., Diaz, M.A.N., Oliveira, T.T., Soares-Martines, J.A.P., Almeida, M.R. & Junior, A.S. (2013). In Vitro Inhibition Of Canine Distemper Virus By Flavonoids And Phenolic Acids: Implications Of Structural Differences For Antiviral Design. *Research in Veterinary Science*, 95(2), 717-724. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.04.013>
- Effendi, N. & Widiastuti, H. (2014). Identifikasi Aktivitas Immunoglobulin M (Ig.M) Ekstrak Etanolik Daun Ciplukan (*Physalis minima* linn.) Pada Mencit. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 353-360. <https://media.neliti.com/media/publications/137542-ID-none.pdf>
- 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. [http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60184-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60184-4)
- Lee, M., Chiou, J., Yena, K. dan Yang, L. (2000) : EBV DNA Polymerase Inhibition Of Tannins From *Eugenia Uniflora*. *Graduate Institute of Pharmacognosy Science*, Taipei Medical College, 250 Wu-Hsing Street, Taipei 110, Taiwan.
- 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*). *Budidaya Perairan*, 1(2), 21-28. <https://doi.org/10.35800/bdp.1.2.2013.1912>
- Manurung, U.N. 2013. Evaluasi Ragi Roti (*Saccharomyces cereviciae*) Sebagai Imunostimulan dalam Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi*. Manado: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado.

- Octarina, Y., Prasetyono, E., Febrianti, D. & Robin. (2018). Efektivitas Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata L*) Terhadap Sistem Kekebalan Tubuh Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(3), 259-265. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra/article/view/6888>
- Pasaribu, W., Longdong, S.N.J. & Mudeng, J.D. (2015). Efektivitas Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) untuk Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Budidaya Perairan*, 3(1), 83-82. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>
- Payung, C.N. & Manopo, H. (2015). Peningkatan Respon Kebal Non-Spesifik Dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Melalui Pemberian Jahe, (*Zingiber officinale*). *Jurnal Budidaya Perairan*, 1(3), 12. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/bdp/article/view/6925>
- Post G. 1987. *The Fish Health*. T.F.H Publication Inc. For Revised and Expanded Edition. New Jersey.
- Satyantini, W.H, Agustono, Arimbi, Sabdoningrum, E.K., Budi, M. & Asmi, L.W. (2016). Peningkatan Respon Imun Non Spesifik Ikan Gurami Pascapemberian Ekstrak Air Panas Mikroalga *Spirulina platensis*. *Jurnal Veteriner*, 17(3), 347-354. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/24570>
- Sugiyono. (2013). *Metode Penelitian Pendidikan; Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, dan R & D*. Bandung: Alfabeta.
- Taufik, P. (1984). *Faktor kualitas air dapat mempengaruhi timbulnya suatu penyakit pada ikan*. *Majalah Pertanian No. 3, Tahun Ke-31*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R. & Moran, G. (2011). Innate And Adaptive Immunity In Teleost Fish: A Riview. *Veterinari Medicina*, 56(10), 484-503. <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/50222.pdf>
- Utami, W.P. (2009). Efektifitas Ekstrak Paci-paci (*Leucas lavandulaefolia*) yang Diberikan Lewat Pakan untuk Pencegahan dan Pengobatan Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp. Skripsi*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.