

## Pemanfaatan Daun Miana yang Dicampur Madu dalam Pengobatan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) yang Terinfeksi *Aeromonas Hydrophilla*

Yuliana Salosso\*

Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Kelautan dan Perikanan Universitas Nusa Cendana  
\*e-mail : yulimarasin@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan perasan daun miana yang di campur madu dalam meenyembuhkan ikan mas yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan satu variabel bebas (konsentrasi perasan miaya yang dicampur madu yang berbeda). Perlakuan konsentrasi perasan miaya yang dicampur madu yang diberikan dengan metode penyuntikan pada penelitian ini adalah 40%, 50%, 60%. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali dan selain itu ditambahkan 2 unit kontrol yaitu kontrol negatif (disuntik akuades) dan kontrol positif (disuntik bakteri tanpa pengobatan). Kepadatan bakteri *A. hydrophilla* sebagai patogen adalah  $10^6$  sel/ml. Hasil penelitian menunjukkan Perasan daun miana yang dicampur madu mampu menyembuhkan ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla*, dengan menurunkan kepadatan bakteri pada ikan yang terserang bakteri *A. hydrophilla* sehingga menormalkan hematologi ikan mas yang pada akhirnya meningkatkan sintasan ikan mas tersebut. Konsentrasi perasan daun miana yang dicampur madu yang efektif dalam meningkatkan kesembuhan pada ikan mas yang terinfeksi *A. hydrophilla* sehingga meningkatkan sintasannya pada akhir penelitian adalah 60% yang diberikan dengan metode penyuntikan.

**Kata Kunci :** *Aeromonas hydrophila*, ikan mas, madu, daun miana

### Pendahuluan

Kendala yang sering dihadapi oleh pengelola panti benih dan pengusaha pembesaran ikan air tawar adalah terjadinya serangan penyakit. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan mas dan ikan air tawar lainnya adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Ikan yang terserang bakteri ini akan mengalami pendarahan pada bagian tubuh terutama di bagian dada, perut, dan pangkal sirip (Yuhana dkk, 2008). Serangan bakteri *A. hydrophila* ini bersifat patogenik, menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi dan dapat mengakibatkan kematian massal (Haniffa and Shanthi, 2012). Selanjutnya menurut Cipriano (2001), serangan bakteri ini, dapat mematikan benih dengan tingkat kematian mencapai 80-100% dalam waktu 1-2 minggu.

Banyak upaya yang telah dilakukan para ahli untuk menanggulangnya baik upaya-upaya pencegahan maupun pengobatan. Upaya pencegahan dan pengobatan yang selama ini banyak dilakukan adalah dengan menggunakan bahan kimia dan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri serta dapat mencemari lingkungan (Mariyono dan Sundana, 2002). Dengan demikian perlu dicari alternatif lain untuk mengatasi hal tersebut. Salah satu cara pengobatan alternatif yang aman dan ramah lingkungan adalah menggunakan fitofarmaka. Fitofarmaka atau tanaman obat adalah obat alamiah yang bahan bakunya disarikan dari tanaman untuk digunakan dalam pengobatan. Tanaman yang mungkin dapat digunakan untuk tujuan tersebut antara lain daun Miana. Daun miana mengandung bahan aktif alami (fito-kimia) berupa flavanoid, saponin dan tanin (Ridwan dan Ayunita, 2007

Dalam pemanfaatannya sebagai obat pada manusia, miana biasanya dicampur dengan madu (Mutiatikum, dkk (2010) dan Koernia (2007)). Salosso

dkk (2013) telah mengkaji penggunaan daun miana yang dicampur madu pada berbagai perbandingan sebagai antibakteri terhadap bakteri *A. hydrophilla* secara *in vitro*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa Perasan daun miana yang dicampur madu mampu menghambat bakteri *A. hydrophilla* pada berbagai perbandingan dan zona hambat yang paling efektif dihasilkan pada perbandingan 1 : 3 dengan diameter zona hambat 15 mm.

Untuk mengetahui potensi daun miana yang dicampur madu sebagai antibakteri alami pada ikan, maka perlu dilakukan kajian mengenai pemanfaatan daun miana yang dicampur madu pada perbandingan 1 : 3 dalam pengobatan ikan mas (*cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophilla*

## Metode Penelitian

### *Pembuatan Perasan Daun Miana yang dicampur madu*

Daun miana yang berwarna ungu dikumpulkan dari masyarakat kota kupang. Daun tersebut dicuci dengan air bersih kemudian ditiriskan airnya, setelah itu siap untuk dibuat perasannya. Perasan daun miana dibuat dengan cara melumat daun miana dan menyaring cairannya dengan kain saring. Perasan daun miana tersebut dicampur madu pada perbandingan 1 : 3 (daun miana 25% dan madu 75%). Perasan daun miana yang dicampur madu dengan perbandingan 1 : 3, yang dianggap larutan 100% (Salosso, 2013).

### *Uji Pengobatan*

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan perlakuan konsentrasi perasan daun miana yang dicampur madu yang diberikan dengan metode penyuntikan. Perlakuan A adalah konsentrasi 60%, perlakuan B adalah konsentrasi 50% dan perlakuan C adalah konsentrasi 40%. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali dan selain itu ditambahkan 2 unit kontrol yaitu kontrol negatif (disuntik akuades) dan kontrol positif (disuntik bakteri tanpa pengobatan). Kepadatan bakteri *A. hydrophilla* sebagai patogen adalah  $10^6$  sel/ml.

Wadah yang digunakan untuk uji pengobatan ini adalah akuarium ukuran 30 x 50 x 30 cm yang telah didesinfeksi dengan kaporit 150 ppm dan dinetralsisir dengan Natrium tiosulfat 75 ppm. Setiap wadah diisi dengan air steril sebanyak 30 liter dan ikan mas dengan kepadatan 6 ekor/wadah. Kemudian diadaptasikan selama dua hari.

Ikan uji yang telah diadaptasikan diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophilla* pada kepadatan  $10^6$  sel/ml dengan cara penyuntikan sebanyak 0.1 ml/ekor. Setelah ikan menunjukkan gejala terinfeksi bakteri, kemudian dilakukan pengobatan dengan perasan daun miana sesuai dengan masing-masing perlakuan. Selanjutnya ikan dipelihara selama 7 hari dalam kondisi kualitas air yang baik dan pakan yang cukup. Setelah 7 hari dilakukan pengamatan. Pengamatan tingkah laku, morfologi dan kematian ikan dilakukan setiap 24 jam selama 7 hari setelah infeksi. Sedangkan pemeriksaan hematologi dilakukan sebelum infeksi, setelah infeksi dan setelah pengobatan.

*Parameter yang diukur***Hematologi Ikan mas**

Darah ikan diambil pada bagian depan serip ekor atau pada jantung ikan dengan menggunakan injection yang terlebih dahulu diisi dengan Na-citrat. Darah yang telah diambil selanjutnya dilakukan pengamatan hematologinya yang meliputi, sel darah merah, sel darah putih dan deferensiasi leukosit (monosit dan limfosit).

**Sintasan ikan mas**

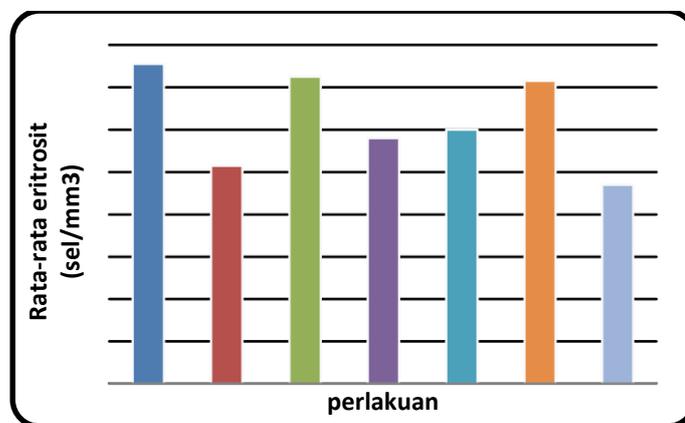
Pengukuran sintasan ikan mas menggunakan rumus yang dikemukakan dalam Efendi (1997) .

*Analisis Data*

Data hematologi dan sintasan yang di peroleh dianalisis sidik ragam (ANOVA). Jika hasil yang diperoleh menunjukkan pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji BNT.

**Hasil dan Pembahasan***Hematologi Ikan Mas***Total Eritrosit**

Hasil pengamatan total eritrosit ikan mas selama penelitian pengobatan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram Rata-rata Jumlah Eritrosit (sel/mm<sup>3</sup>)

Gambar 1, menunjukkan bahwa rata-rata jumlah eritrosit tertinggi adalah pada saat ikan dalam keadaan sehat, yaitu sebesar 1.510.000 sel/ml. Namun mengalami penurunan pada saat ikan sakit yaitu sebesar 1.030.000 sel/ml. Setelah mengalami pengobatan dengan pemberian perasan daun miana yang dicampur madu jumlah eritrosit ikan mulai naik kembali pada semua perlakuan, tetapi pada ikan yang tidak diberi obat (Kontrol Bakteri), jumlah eritrositnya semakin menurun, sedangkan pada kontrol yang disuntik akuades total eritrositnya cenderung sama dengan ikan sehat. Hal ini menunjukkan bahwa metode penyuntikan tidak memberi efek terhadap perubahan jumlah eritrosit ikan mas,

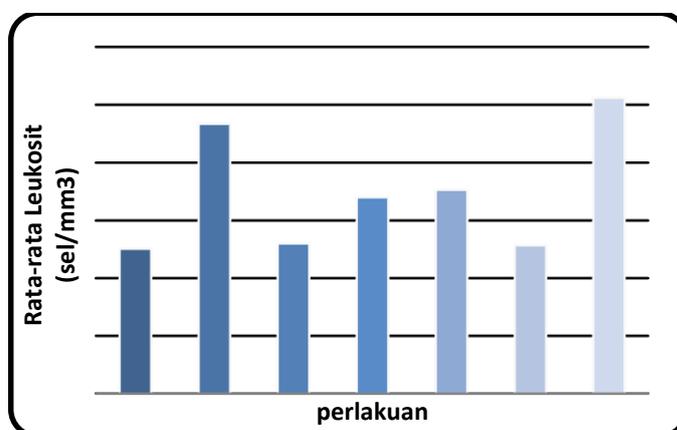
tetapi dipengaruhi oleh bakteri yang disuntikkan ke ikan mas. Jika dibandingkan antara perlakuan yang diberi pengobatan, maka peningkatan jumlah eritrosit yang paling tinggi terjadi pada konsentrasi 60% dan paling rendah pada konsentrasi 50 %.

Menurut Lestari dkk (2017), darah merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk melihat kelainan yang terjadi pada ikan, baik yang terjadi karena penyakit ataupun karena keadaan lingkungan. Tingginya jumlah eritrosit pada ikan sehat disebabkan karena kondisi lingkungan sesuai untuk kehidupan ikan serta tidak adanya faktor stress. Hal ini berlaku sebaliknya untuk kondisi ikan sakit, karena adanya benda asing atau patogen yang masuk ke dalam tubuh sehingga jumlah eritrosit berkurang karena tubuh harus melawan benda asing tersebut. Eritrosit yang cukup, ikut menjamin jumlah oksigen yang cukup untuk sel-sel di berbagai jaringan sehingga sel-sel tersebut dapat bekerja sebaik-baiknya. Sebaliknya, apabila jumlah eritrosit berkurang maka keadaan tersebut ada indikasi masuknya benda asing ke dalam tubuh (Sadikin, 2007). Selanjutnya menurut Yanto dkk., (2015), faktor yang dapat mempengaruhi nilai eritrosit ikan antara lain lingkungan, umur, jenis kelamin, nutrisi, dan kondisi kekurangan oksigen.

Berdasarkan hasil anova nilai rata-rata jumlah eritrosit ikan mas setelah diberi perlakuan pengobatan dengan perasan daun miana, menunjukkan adanya pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap konsentrasi perasan daun miana. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi perasan daun miana berpengaruh terhadap jumlah eritrosit ikan mas setelah pengobatan. Berdasarkan uji BNT dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah eritrosit pada konsentrasi 60% berbeda dengan rata-rata jumlah eritrosit pada konsentrasi 40% dan 50%. Sedangkan untuk rata-rata jumlah eritrosit 40% dan 50% tidak berbeda. Oleh karena itu perlakuan yang terbaik yang dapat meningkatkan eritrosit ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* adalah konsentrasi 60%.

### Total Leukosit

Pola perubahan jumlah leukosit pada ikan yang sehat, sakit dan yang telah diobati dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Histogram Rata-rata Total Leukosit (sel/mm<sup>3</sup>)

Gambar 2, memperlihatkan bahwa pada ikan yang sehat rata-rata leukositnya paling rendah yaitu sebesar 125.500 sel/mm<sup>3</sup>. Jumlah leukosit meningkat pada ikan yang sakit dan meningkat terus pada ikan yang tidak mendapat pengobatan (kontrol bakteri), sedangkan pada ikan yang mengalami pengobatan jumlah leukositnya menurun kembali. Selain itu dapat juga diketahui bahwa konsentrasi obat yang mampu menurunkan leukosit ikan setelah pengobatan paling tinggi adalah pada konsentrasi obat 60% dengan penurunan hingga 130.000 sel/mm<sup>3</sup>. Sedangkan penurunan leukosit yang paling rendah yaitu pada perlakuan konsentrasi 40% dengan penurunan hanya hingga 176.500 sel/mm<sup>3</sup>.

Leukosit berperan dalam sistem pertahanan tubuh ikan terhadap infeksi patogen (Anderson, 1974). Pada saat terjadi infeksi, maka leukosit dikerahkan menuju ke tempat terjadinya infeksi untuk memberikan pertahanan yang cepat terhadap gen infeksi (Sadikin, 2002). Oleh karena itu pada saat ikan terinfeksi bakteri, jumlah leukositnya meningkat (Fauzan dkk, 2017). Dengan adanya perlakuan pengobatan dengan perasan daun miana yang dicampur madu akan membantu sistem pertahanan tubuh ikan dalam melawan infeksi bakteri. Sifat baktericidal dari senyawa fenolik, flavanoit, triterpenoid yang dikandung dalam perasan daun miana ini akan mematikan bakteri sehingga sel leukosit tidak diproduksi lagi dalam jumlah yang besar. Dengan demikian jumlah sel leukosit akan normal kembali, seperti yang terlihat pada jumlah sel leukosit pada ikan yang direndam dengan perasan daun miana pada penelitian ini.

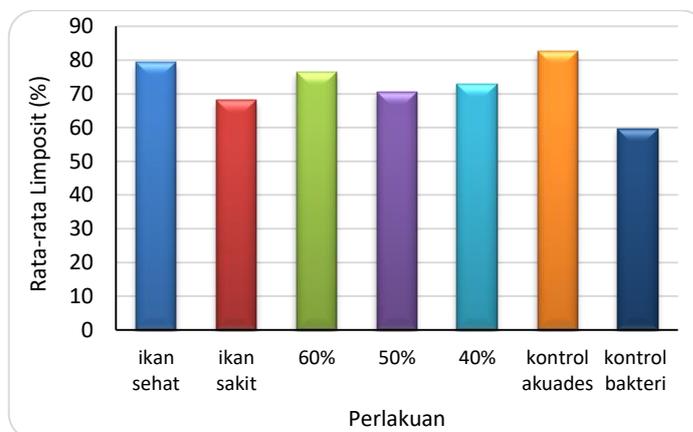
Berdasarkan hasil uji anova nilai leukosit ikan mas dapat diketahui bahwa nilai  $F_{hitung} (5,14) > F_{tabel} (0,0012)$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi obat memberikan pengaruh yang berbeda pada leukosit ikan setelah diobati. Berdasarkan uji BNT (Lampiran ) dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah leukosit pada konsentrasi 60% berbeda dengan rata-rata jumlah leukosit pada konsentrasi 40% dan 50%. Sedangkan untuk rata-rata jumlah leukosit 40% dan 50% tidak berbeda. Oleh karena itu perlakuan yang terbaik yang dapat menurunkan leukosit ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah konsentrasi 60%.

### Limposit

Pada penelitian ini, selain dilakukan penghitungan jumlah leukosit, juga dihitung deferensiasi leukositnya yang meliputi Limposit dan monosit. Pola perubahan persentase limposit ikan mas yang sakit, sehat dan yang telah diobati pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.

Pada Gambar 3, terlihat bahwa rata-rata persentase limposit pada ikan sehat adalah 79,4 %, tetapi mengalami penurunan pada ikan yang sakit yaitu menjadi 68,2%. Tujuh hari setelah pengobatan, ikan mas yang diberi perasan daun miana dicampur madu mengalami peningkatan kembali sedang ikan yang tidak diberi pengobatan (kontrol bakteri) semakin menurun. Untuk kontrol akuades tetap cenderung sama dengan ikan sehat. Nilai limposit pada ikan sehat yang ditemukan pada penelitian ini yaitu 79,4% masih berada dalam kisaran nilai limposit normal

yang dikemukakan oleh Anderson (1974), yaitu 60 – 80%. Namun lebih rendah dari nilai limposit ikan normal yang dikemukakan oleh Smith (2007) yaitu > 80% dan lebih tinggi dari nilai limposit normal yang dikemukakan oleh Stoskopf (1993), yaitu 66-67% untuk ikan famili Serranidae.



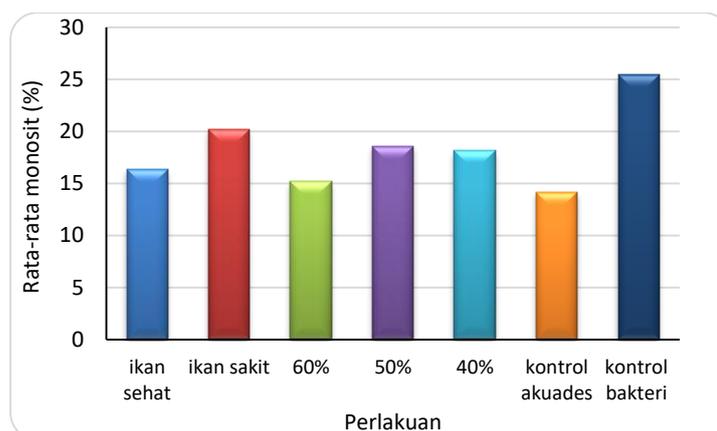
Gambar 3. Histogram Rata-rata persentase Limposit (%)

Limposit tidak bersifat fagositik tetapi memegang peranan penting dalam pembentukan antibodi. Kekurangan limfosit dapat menurunkan konsentrasi antibodi dan menyebabkan meningkatnya serangan penyakit. Limfosit mempunyai peranan dalam respon immunitas (Fange, 1994). Pada penelitian ini, ditemukan jumlah limfosit yang menurun pada darah ikan sakit. Hal ini terjadi karena pada ikan yang terinfeksi bakteri, sel limfosit yang berperan dalam menghasilkan antibodi untuk melawan serangan bakteri yang berada sementara dalam darah akan bermigrasi ke berbagai getah bening atau ke dalam limpa. Apabila bertemu dengan benda asing maka limfosit akan berkembang dan mengalami mitosis menjadi sel plasma yang berfungsi sebagai penghasil antibodi (Sadikin, 2002).

Berdasarkan hasil anova, dapat diketahui bahwa nilai  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga konsentrasi obat memberikan pengaruh yang berbeda pada limposit ikan setelah diobati. Sedangkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa rata-rata limposit pada konsentrasi 60% berbeda dengan konsentrasi 50% dan 40%, demikian pula konsentrasi 50% berbeda dengan konsentrasi 40%. Rata-rata limposit ikan yang mengalami peningkatan paling tinggi adalah konsentrasi 60%, yaitu sebesar 76,4 %, sedangkan rata-rata limposit ikan yang paling terendah peningkatannya setelah diberikan obat adalah konsentrasi 50%, yaitu sebesar 70,6%. Dengan demikian konsentrasi perasan daun miana yang terbaik dalam menurunkan nilai limposit ikan yang terinfeksi *A. hydrophilla* adalah konsentrasi 60%.

### Monosit

Persentase monosit ikan yang sehat, sakit dan yang telah diobati dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Histogram Rata-rata Persentase Monosit (%)

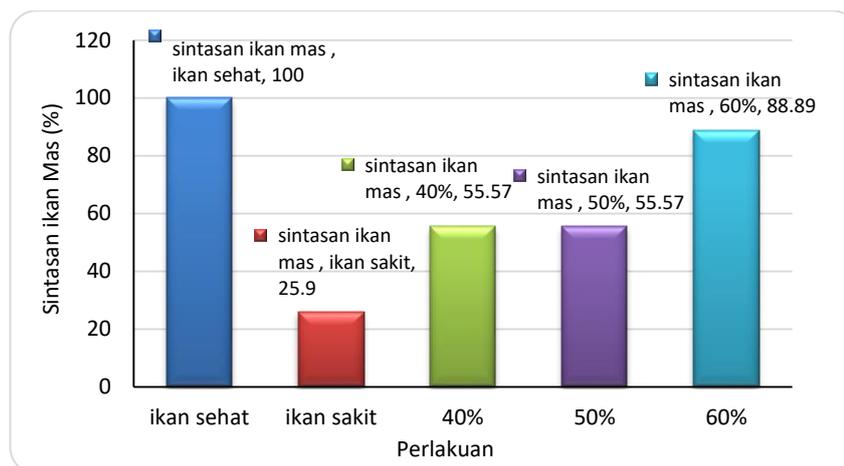
Pada Gambar 4 terlihat bahwa pada ikan sehat persentase monositnya adalah 16,4%, namun mengalami peningkatan adalah pada ikan yang sakit yaitu sebesar 20,2%. Setelah diberi pengobatan dan dipelihara selama tujuh hari, didapatkan bahwa jumlah monosit mengalami penurunan kembali pada semua perlakuan yang diberi pengobatan sedang paka kontrol bakteri monositnya semakin meningkat. Selain itu dapat juga diketahui bahwa konsentrasi obat yang mampu menurunkan rata-rata monosit ikan setelah sakit paling tinggi pada konsentrasi obat sebesar 60% dengan rata-rata monosit turun hingga 15,2%, sedangkan penurunan monosit yang terendah terjadi pada konsentrasi obat 50% dengan rata-rata penurunan monosit hanya hingga 18,6%.

Pada ikan yang sakit ditemukan jumlah monosit yang lebih tinggi, hal ini disebabkan karena pada saat bakteri masuk ke dalam tubuh ikan maka tubuh ikan akan memproduksi monosit untuk memfagosit patogen yang masuk ke dalam tubuh ikan tersebut. Menurut Anderson (1974), proporsi monosit sangat rendah dalam populasi leukosit, akan tetapi dapat meningkat sekitar 38% dalam waktu singkat bila terjadi infeksi. Pada penelitian peningkatan jumlah monosit hanya sampai 20,2 %. Namun pada ikan yang diberi perlakuan pengobatan dengan perasan daun miana terjadi lagi penurunan monosit, hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi proses penyembuhan dalam tubuh ikan karena pemberian perasan daun miana tersebut.

Untuk membandingkan nilai monosit masing-masing perlakuan konsentrasi perasan daun miana maka dilakukan anova terhadap rata-rata nilai monosit ikan setelah pengobatan. Berdasarkan hasil anova, dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga konsentrasi obat memberikan pengaruh yang berbeda pada monosit ikan setelah diobati. Sedangkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa rata-rata monosit pada konsentrasi 60% berbeda dengan konsentrasi 40% dan 50%. Sedangkan konsentrasi 40% tidak berbeda dengan konsentrasi 50%. Dengan demikian konsentrasi perasan daun miana yang terbaik dalam menurunkan nilai monosit ikan yang terinfeksi *A. hydrophilla* adalah konsentrasi 60%.

### Sintasan Ikan Mas

Dengan kemampuan perasan daun miana yang dicampur madu menyembuhkan ikan yang terserang *A.hydropilla*, diharapkan dapat meningkatkan sintasan ikan mas setelah diuji tantang dengan bakteri patogen *A.hydropilla*. Rata-rata sintasan ikan mas yang dipelihara pada berbagai konsentrasi perasan daun miana yang dicampur madu dan diberikan dengan metode penyuntikan yang diuji tantang dengan bakteri *A.hydropilla* pada kepadatan  $10^6$  cfu/ml dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Histogram Rata-rata Sintasan ikan mas pada akhir penelitian.

Pada Gambar 5, terlihat bahwa sintasan ikan mas yang tertinggi terjadi pada perlakuan kontrol akuades yaitu sebesar 100%, dan terendah pada kontrol bakteri yaitu sebesar 25,9%. Hal ini menunjukkan bahwa kematian ikan disebabkan oleh patogenesitas dari bakteri *A.hydropilla* sedangkan metode penyuntikan tidak menimbulkan efek pada ikan mas. Pada semua perlakuan penyuntikan dengan perasan daun miana yang dicampur madu, didapatkan sintasan ikan mas yang lebih tinggi dari kontrol bakteri dan sintasan yang tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi 60%. Hal ini menunjukkan bahwa dengan adanya *A.hydropilla* sintasan ikan mas akan rendah tetapi dengan pengobatan dengan bahan aktif dari perasan daun miana yang dicampur madu mampu menurunkan populasi *A.hydropilla* sehingga sintasan ikan mas dapat meningkat. Hal ini dimungkinkan karena adanya bahan bioaktif yang dimiliki oleh perasan daun miana yang dicampur madu yang bersifat antibakteri.

Berdasarkan hasil anova nilai sintasan ikan mas pada akhir penelitian, dapat disimpulkan bahwa ketiga konsentrasi obat memberikan pengaruh yang berbeda pada sintasan ikan setelah diberi perlakuan pengobatan dengan perasan daun miana yang dicampur madu ( $F_{hitung} < F_{tabel}$ ), sehingga. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 60% berbeda dengan konsentrasi 50% dan 40%, sedangkan antara perlakuan 50% dan 40% tidak berbeda. Oleh karena itu berdasarkan nilai sintasan ikan mas maka perlakuan konsentrasi perasan daun miana yang dicampur madu yang terbaik adalah 60% yang diberikan dengan metode penyuntikan.

Tingginya sintasan ikan mas yang dihasilkan setelah diberi dengan perasan daun miana yang dicampur madu, dimungkinkan karena kandungan bioaktif yang dimiliki oleh daun miana yang dicampur madu yang berupa senyawa fenolik, flavanoid dan triterpenoid yang dapat bersifat sebagai antibakteri. Senyawa fenolik dapat berinteraksi dengan komponen dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan dapat juga berdifusi kedalam sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati, selain itu senyawa ini juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi.

### Kesimpulan

Perasan daun miana yang dicampur madu mampu menyembuhkan ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan mas, dengan menurunkan kepadatan bakteri pada ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* sehingga menormalkan hematologi ikan mas yang pada akhirnya meningkatkan sintasan ikan mas tersebut. Konsentrasi perasan daun miana yang dicampur madu yang efektif dalam meningkatkan kesembuhan pada ikan mas yang terinfeksi *A. hydrophila* adalah 60% yang diberikan dengan metode penyuntikan.

### Daftar Pustaka

- Anderson, D.P. 1974. Fish Immunology. T.F.H. Publications. Australis. 218 pp.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and *Motile Aeromonad Septicemias* Of Fish. Disease Leaflet 68. Washington DC. 20 hlm.
- Effendie, M.I. 1997. Biologi Perikanan. Penerbit Yasa Guna, Bogor.
- Erawati, C.I dan Marsoedi. 2004. Pengaruh pemberian Perasan Kasar Daun pepaya (*Carica papaya*) dengan Dosis Yang Berbeda terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Penelitian Perikanan Volume 7 nomor 2. Universitas Brawijaya, Malang.
- Fange, R. 1994. Immunity to Bacteria in Fish. Journal of fish and Shelfish Immunology.
- Fauzan M., Rosmaidar, Sugito, Zuhrawati, Muttaqien, dan Azhar. 2017. Pengaruh Tingkat Paparan Timbal (Pb) Terhadap Profil Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Jimvet 01(4):702-708.
- Haniffa, M.A and K. Kavitha. 2012. Antibacterial activity of medicinal herbs against the fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. Journal of Agricultural Technology 2012 Vol. 8(1): 205-211. Available online <http://www.ijat-aatsea.com> ISSN 1686-9141
- Koernia. 2007. Khasiat Miana, Warna Ceria Miana Dan Penyembuhan Wasir <http://koernia05.blogspot.com/2007/11/khasiat-miana.html>
- Lestari, E., T.R. Setyawati dan A.H. Yanti. 2017. Profil hematologi Ikan gabus (*Channa srtiata* Bloch). Jurnal Protobiont, Vol 6 (3) : 283-289.
- Mariyono dan Sundana. 2002. Teknik pencegahan dan pengobatan penyakit bercak merah pada ikan air tawar yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Buletin Teknik Pertanian. Badan Litbang Pertanian. Jakarta. Vol. 7(1):33-36.
- Mutiatikum, D., S. Alegantina dan Y.Astuti. 2010. Standardisasi Simplisia dari Buah Miana (*Plectanthus seutellaroides*) yang berasal dari 3 tempat tumbuh menado, kupang dan papua. Bul.Penelit. Kesehatan. Vol. 38, No 1, 2010.

- Ridwan, Y dan Y. Q. Ayunita. 2007. Fitokimia dan Aktivitas Anthelmintika terhadap Cacing Pita Ayam dari beberapa Varietas Miana (*Coleus blumei* . Benth) secara In Vitro. Jurnal Protein Vol.14.No.1.Th.2007
- Sadikin, H. M.,. 2002. Biokimia Darah. Penerbit Widya Medika
- Salosso, Y., Y. Jasmanindar, L. Haryadi, Dan M.Farchan. 2013. Uji Antibakteri Daun Miana Yang Dicampur Madu Pada Berbagai Perbandingan Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophilla* Secara In Vitro. jurnal Bios, Jurnal Biotropikal sains, Jurusan Biologi FST Undana, vol 10 no 1, April 2013
- Stoskopf, M.K. 1993. Fish Medicine. WB Saunders Company Harcourt Brace Jovanivich Inc. Nort Carolina. 882 pp
- Yanto, H., H. Hasan, dan Sunarto. 2015. Studi hematologi untuk diagnosa penyakit ikan secara dini di sentra produksi budidaya ikan air tawar sungai kapuas Kota Pontianak. *Jurnal akuatika*. 6(1): 11- 20.
- Yuhana, M. I. Normalina dan Sukenda. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Putih *Allium sativum* Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Pada Ikan Patin *Pangasionodon hypophthalmus* Yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Akuakultur Indonesia, 7(1): 95–107 (2008)