

PENYIAPAN BAHAN KHUSUS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK SEBAGAI KOMPONEN PAKAN UNTUK IMMUNOSTIMULAN PADA BUDIDAYA IKAN GURAMI

Nunung Komalawati¹, Yus Chandrawati², Sulastuti³, Siti Anisah⁴

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsoed

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unsoed

³Fakultas Pertanian Unsoed

⁴Fakultas Peternakan Unsoed

Jln. Dr. Suparno, Grendeng, Purwokerto, Jawa Tengah 53122

Email: salsausoed@yahoo.com¹

Abstract

*Soursop leaf contains various secondary metabolites with several functions such as antioxidant, antibacterial, and immune-stimulant. Supplementation of soursop leaf extract on fish pellet might become immune-stimulant which decreases the mortality of giant gourami seeds. The aims of this study were to obtain ethanol extract of soursop leaf and utilize the extract as immune-stimulant on fish pellet. Leaf extraction was performed using explorative survey, while biological test was done using completely randomized design. Ethanol absolute was used as a solvent during extraction with the ratio between soursop mill and ethanol was 1:10. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah ethanol absolute dengan perbandingan 1:10 (daun sirsak: etanol). Two treatments were done during biological tests, those was pellet with 0.5% of soursop extract supplementation and pellet without extract supplementation. The treatments were repeated for five times. Giant gourami seeds from both treatments were infected by 0.2 mL of *A. hydrophila* with cell concentration of 10^8 CFU. The seeds were reared and their survival and mortality were counted. The result of the extraction was analyzed descriptively, whereas survival and mortality were analyzed using *t*-test. The extraction of 700 g soursop mill results in 125 g of extracts. The gourami seeds fed by commercial pellet with extract supplementation had 96% survival and 4% mortality. Nevertheless, gourami seeds fed by commercial pellet without extract supplementation was only has 8% survival and 92% mortality. The *t*-test proved that soursop extract supplementation on commercial pellet was able to increase fish survival and decrease the mortality. Therefore, ethanol extract of soursop leaf can be used as immune-stimulant on giant gourami seeds.*

Keywords: ethanol extract, soursop leaf, immuno-stimulant, mortality, gouramy

PENDAHULUAN

Ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lacepede) merupakan salah satu komoditas perikanan air tawar yang penting. Ikan tersebut telah banyak dibudidayakan di berbagai daerah di Indonesia, sehingga telah berkembang berbagai sentra produksi gurami baik di Pulau Jawa maupun di Pulau Sumatera. Salah satu sentra produksi ikan gurami adalah Kabupaten Banyumas yang memberikan sumbangan sebesar 20% terhadap produksi gurami Jawa Tengah (Tanjung *et al.*, 2011).

Menurut Setijaningsih *et al.* (2007), budidaya ikan gurami membutuhkan biaya produksi yang relatif rendah karena dapat dipelihara pada perairan dengan kandungan oksigen terlarut rendah. Namun, perkembangan budidaya ikan gurami masih terkendala oleh sifat ikan gurami itu sendiri, yakni mortalitas benih yang tinggi akibat serangan berbagai penyakit (Tanjung *et al.*, 2011). Menurut Purwaningsih *et al.* (2014) salah satu penyakit yang menyerang ikan gurami disebabkan oleh serangan bakteri *A. hydrophila*. Infeksi jenis bakteri tersebut dapat menyebabkan terjadinya penurunan kualitas produk ikan gurami.

Upaya penanggulangan penyakit pada ikan budidaya umumnya dilakukan menggunakan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat berdampak negatif, diantaranya dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri dan dapat mencemari lingkungan

(Noga, 2010). Selain itu, penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat menyebabkan terjadinya residu antibiotik yang dapat terakumulasi pada jaringan tubuh ikan (Maryono & Sundana 2002).

Belakangan ini banyak peneliti yang tertarik memanfaatkan imunostimulan sebagai alternatif untuk mengontrol penyakit pada ikan (Galina *et al.* 2009). Berbeda dengan vaksin, imunostimulan dapat meningkatkan respon imun *non-specific* (Raa 2000). Berbagai polisakarida, vitamin, ekstrak hewan, dan ekstrak tumbuhan dapat meningkatkan respon imun *non-specific* pada ikan (Raa 2000). Oleh karena itu, saat ini telah banyak ekstrak herbal yang dimanfaatkan pada perikanan komersial sebagai substansi pemacu pertumbuhan, agen mikrobial, nutrisi maupun berbagai aplikasi lainnya (Galina *et al.* 2009). Imunostimulan dapat diberikan melalui suntikan, perendaman, dan secara oral melalui pakan. Teknik terakhir nampaknya yang paling banyak dilakukan (Yin *et al.* 2006).

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa ekstrak *Astragalus membranaceus* berpengaruh imun ikan mas (Yuan *et al.* 2008). Sementara itu, menurut Yin *et al.* (2004) dan Cao *et al.* (2008) ekstrak *Astragalus* berpengaruh positif terhadap sistem imun dan berperan sebagai imunostimulan pada ikan. Lebih lanjut dinyatakan oleh Yin *et al.* (2006) dan Ardo *et al.* (2008) bahwa penambahan ekstrak *Astragalus* sebanyak 0.1 dan 0,5 % pada pakan dapat meningkatkan secara nyata terhadap aktivitas fagositosis dari leukosit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setelah satu minggu pemberian ekstrak. Aktivitas leukosit semakin meningkat selama penelitian berlangsung. Menurut Yin *et al.* (2009) pemberian ekstrak *Astragalus* pada pakan sebanyak 0.5% dapat menurunkan mortalitas dibandingkan ikan kontrol setelah uji tantangan dengan *Aeromonas hydrophila*.

Selain jenis tumbuhan di atas, jenis tumbuhan yang memiliki potensi serupa dan terdapat di Indonesia adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L). Hal ini karena hasil penelitian membuktikan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak air daun sirsak kaya dengan metabolit sekunder (Gavamukulya *et al.* 2014). Kandungan bahan aktif yang banyak pada daun sirsak menyebabkan ekstrak daun tanaman tersebut memiliki berbagai potensi, seperti antioksidan (Adri & Hersoelistyotini 2013; George *et al.* 2015), biopestisida yang dapat digunakan sebagai antiparasit (Pangaribuan *et al.* 2012, Abubacker *et al.* 2015), anti bakteri (Sulastrianah *et al.* 2014) dan sebagai imunostimulan (Ohashi *et al.*, 2003) karena ekstrak daun sirsak mengandung flavonoid dari golongan flavonol (Takahasi *et al.* 2006). yang berperan sebagai imunostimulan (Ohashi *et al.* 2003). Jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak adalah flavonol (Takashi *et al.* 2006). Menurut Ohashi *et al.* (2003) flavonol memiliki peran meningkatkan respon imun *non-specific* pada berbagai organisme. Komponen sistem imun non-spesifik adalah makrofag, monosit, granulosit dan elemen humoral seperti lisozim or the complement system (Magnadottir 2006).

Oleh karena itu ekstrak daun sirsak diduga sangat potensial untuk digunakan sebagai imunostimulan pada budidaya ikan gurami. Sampai saat ini belum pernah ada laporan ilmiah mengenai pemanfaatan ekstrak daun sirsak sebagai komponen pakan ikan untuk menurunkan mortalitas benih gurami. Pada penelitian ini dipilih ekstrak etanol karena kandungan saponinnya jauh lebih rendah dari ekstrak air (Gavamukulya *et al.* 2014). Kandungan saponin yang tinggi pada ekstrak air daun sirsak dikhawatirkan akan bersifat racun bagi ikan yang diteliti.

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan bahan khusus berupa ekstrak etanol daun sirsak sehingga dapat dimanfaatkan sebagai komponen pakan untuk imunostimulan pada ikan gurami.

BAHAN DAN METODA

a. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dikelompokkan menjadi dua yaitu bahan untuk ekstraksi dan bahan untuk pemeliharaan ikan. Bahan untuk ekstraksi daun sirsak terdiri atas etanol 96%

dan daun sirsak. Sementara itu, bahan untuk uji biologis terdiri atas pellet ikan, ikan, dan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Alat yang digunakan untuk ekstraksi daun sirsak adalah saringan tepung, *Becker glass*, pengaduk baskom, pengaduk, dan *rotary evaporator*. Alat untuk uji biologis mencakup akuarium, aerator, selang aerator, bak penampungan, dan jarum suntik.

b. Metoda

Penelitian ini dilakukan menggunakan dua metode. Ekstraksi daun sirsak dilakukan menggunakan metode survei eksploratif, sedangkan uji biologis dilakukan menggunakan metode eksperimen dengan rancangan percobaan berupa rancangan acak lengkap.

Perlakuan yang dicobakan sebanyak dua macam yaitu pemberian 0.5% ekstrak daun sirsak pada pakan komersial dan pakan komersial tanpa pemberian ekstrak daun sirsak. Setiap perlakuan diulang 5 kali. Jumlah unit percobaan sebanyak 10 akuarium.

c. Cara mengekstrak daun sirsak

Daun sirsak (*A. muricata* L.) dicuci menggunakan air dan dipotong-potong kecil. Potongan daun sirsak dikeringkan pada temperatur ruang. Daun yang sudah kering digiling menjadi tepung. Sebanyak lebih kurang 700 g tepung daun sirsak direndam menggunakan 7 L etanol absolut 96% PA selama 5 x 24 jam. Hasil rendaman disaring Hasil saringan diekstrak menggunakan *rotary evaporator* dan disimpan pada temperatur -20 °C sampai digunakan (Gavamukulya *et al.* 2014).

d. Uji biologis

Ikan dipelihara pada akuarium berukuran 40X40X60cm yang diisi air dua pertiga volumenya. Pada setiap akuarium diisi 10 individu benih gurami berukuran 5-7 cm. Sebelum perlakuan diterapkan, ikan diaklimatisasi terlebih dahulu selama dua minggu untuk mengadaptasikan ikan dengan kondisi lingkungan akuarium. Selanjutnya dilakukan aklimatisasi pakan. Pakan diberikan sebanyak 3% dari bobot total ikan yang dipelihara per akuarium per hari. Pakan diberikan sehari dua kali pada pukul 08:00 dan pukul 16:00, selama 3 minggu.

Tiga minggu setelah pemberian pakan, benih ikan gurami diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Konsentrasi *A. hydrophila* yang digunakan adalah 10^8 CFU sebanyak 0,2 ml (Kusbiyanto *et al.* 2016).

e. Analisis data

Parameter yang diamati mortalitas benih dan kelangsungan hidup pada semua perlakuan diamati setiap hari pasca infeksi *A. hydrophila*. Data mortalitas atau kelangsungan hidup dianalisis menggunakan uji t untuk membandingkan pengaruh kedua perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Ekstraksi daun sirsak

Dari 10 kg daun sirsak basah, setelah dikeringkan diperoleh sebanyak 3,46 kg daun sirsak kering. Seluruh daun sirsak kering diblender, menghasilkan tepung daun sirsak sebanyak 2,96 kg. Tepung daun sirsak diekstrak menggunakan pelarut etanol dengan perbandingan 1:10. Pada saat penelitian telah dilakukan ekstraksi terhadap 700 g tepung daun sirsak menggunakan 7 L etanol. Penggunaan etanol dengan volume 10 kali lipat dari tepung daun sirsak dilakukan dengan tujuan agar semua atau sebagian besar bahan aktif yang ada pada daun sirsak tersebut dapat terekstrak. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Gavamukulya *et al.* (2014) yang menggunakan 3,5 L etanol absolut untuk mengekstrak tepung daun sirsak sebanyak 350 g.

Penggunaan etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi dilakukan agar kandungan saponin dalam ekstrak tidak terlalu tinggi jika dibandingkan dengan penggunaan air sebagai pelarut. Menurut Gavamukulya *et al.* (2014) ekstraksi daun sirsak menggunakan etanol akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan saponin rendah, sedangkan ekstraksi menggunakan air akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan saponin tinggi. Kandungan saponin yang tinggi dalam ekstrak akan membahayakan ikan uji jika ekstrak tersebut ditambahkan kedalam pakan.

b. Kelangsungan Hidup dan Mortalitas benih gurami

Pengamatan mortalitas benih ikan gurami paska infeksi hanya dilakukan selama satu minggu. Hal tersebut dilakukan karena pada salah satu unit percobaan, semua benih ikan sudah mati. Data hasil pengamatan kelangsungan hidup dan mortalitas secara rinci disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Mortalitas Benih Gurami Pasca Infeksi

Ulangan	Pakan Komersial + Ekstrak Daun Sirsak		Pakan Komersial	
	Kelangsungan Hidup (%)	Mortalitas (%)	Kelangsungan Hidup (%)	Mortalitas (%)
	1	100	0	10
2	100	0	0	100
3	90	10	10	90
4	90	10	20	80
5	100	0	20	80
Jumlah	480	20	60	440
Rerata	96	4	12	88

Pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa rerata mortalitas benih gurami yang diberi pakan komersial dengan penambahan ekstrak etanol daun sirsak sebesar 4%, sedangkan mortalitas benih yang diberi pakan tanpa penambahan ekstrak etanol daun sirsak sebesar 88%. Hasil uji t menunjukkan bahwa kedua kelompok data memiliki nilai rata-rata berbeda sangat nyata ($p=0.000$). Hasil analisis tersebut membuktikan mortalitas benih ikan gurami yang diberi pakan komersial dengan tambahan bahan khusus ekstrak daun sirsak lebih rendah daripada benih ikan yang diberi pakan komersial tanpa penambahan ekstrak daun sirsak. Oleh karena itu, penambahan bahan khusus ekstrak etanol daun sirsak pada pakan komersial dapat dijadikan imunostimulan bagi ikan sehingga mortalitas menjadi rendah.

Perbedaan mortalitas benih ikan gurami antar perlakuan diduga karena benih ikan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak etanol daun sirsak memiliki imunitas lebih baik dari benih ikan yang diberi pakan tanpa penambahan ekstrak daun sirsak. Respon imun meningkat karena dalam ekstrak daun sirsak banyak terdapat bahan aktif metabolit sekunder yang memiliki banyak fungsi. Menurut Gavamukulya *et al.* (2014) ekstrak etanol dan ekstrak air daun sirsak kaya dengan metabolit sekunder. Menurut Raa (2000) ekstrak tumbuhan dapat meningkatkan respon imun *non-specific* pada ikan.

Rendahnya mortalitas benih ikan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak daun sirsak diduga terjadi karena tiga faktor. Faktor pertama, adalah adanya efek antioksidan yang akan membantu menurunkan kadar radikal bebas dalam tubuh ikan. Hal ini akan meningkatkan vitalitas ikan sehingga tidak mudah terserang penyakit. Menurut Adri & Hersoelityotini (2013) dan George *et al.* (2015) ekstrak daun sirsak mengandung bahan aktif yang berfungsi sebagai antioksidan. Faktor kedua, rendahnya mortalitas diduga karena bakteri yang diinfeksi kepada benih ikan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak daun sirsak tidak mampu berkembang secara maksimal karena adanya daya anti bakteri dari ekstrak yang dikonsumsi oleh ikan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan dari Sulastrianah *et al.*

(2014) bahwa ekstrak daun sirsak mengandung bahan aktif yang dapat berperan sebagai anti bakteri. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Permatasari *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa perasan atau ekstrak daun sirsak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Faktor yang ketiga adalah efek imunostimulan yang ditimbulkan oleh ekstrak daun sirsak akan meningkatkan sistem imunitas ikan. Menurut Ohashi *et al.* (2003) ekstrak daun sirsak dapat dimanfaatkan sebagai imunostimulan pada ikan. Hal tersebut dapat terjadi karena menurut Takahasi *et al.* (2006) ekstrak daun sirsak mengandung flavonoid dari golongan flavonol. Menurut Ohashi *et al.* (2003) flavonol memiliki peran meningkatkan respon imun *non-specific* pada berbagai organisme. Komponen sistem imun non-spesifik adalah makrofag, monosit, granulosit dan elemen humoral seperti lisozim or the complement system (Magnadottir, 2006).

Hasil serupa juga telah dilaporkan pada penelitian yang menggunakan ekstrak tumbuhan *Astragalus membranaceus* pada imunitas ikan mas (Yuan *et al.* 2008; Yin *et al.* 2004; Cao *et al.* 2008). Sementara itu, Yin *et al.* (2006) dan Ardo *et al.* (2008) menyatakan bahwa penambahan ekstrak *Astragalus* sebanyak 0.1 dan 0,5 % pada pakan dapat meningkatkan secara nyata terhadap aktivitas fagositosis dari leukosit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setelah satu minggu pemberian ekstrak. Aktivitas leukosit semakin meningkat selama penelitian berlangsung. Menurut Yin *et al.* (2009) pemberian ekstrak *Astragalus* pada pakan sebanyak 0.5% dapat menurunkan mortalitas dibandingkan ikan kontrol setelah uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*. Kemiripan hasil antara penelitian kami dan penelitian terdahulu diduga karena semua tanaman mengandung bahan aktif yang dapat berperan sebagai imunostimulan, antibakteri, dan antioksidan.

KESIMPULAN

Ekstrak sebanyak 125 gam diperoleh dari 700 gram tepung daun sirsak. Penambahan ekstrak etanol daun sirsak pada pakan ikan gurami mampu meningkatkan kelangsungan hidup dan menurunkan tingkat mortalitas ikan gurami. Oleh karena itu, ekstrak etanol daun sirsak dapat digunakan sebagai imunostimulan pada ikan gurami.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada universitas Jenderal Soedirman (Unsoed) yang telah mendanai penelitian ini. Ucapan terimakasih juga penelitian sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Unsoed yang telah memfasilitasi sehingga muncul skema penelitian untuk tenaga fungsional non dosen. Terimakasih kepada Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan yang telah memberikan ijin sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar. Terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini serta tidak lupa peneliti sampaikan terimakasih kepada para reviewer yang telah memberikan saran dan masukan demi penyempurnaan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubacker, M.N., T. Deepalakshmi, & C. Sathya. 2015. Isolation and identification of biolarvicide from soursop (*Annona muricata* Linn.) Aqueous leaf extract to mosquito (*Aedes aegypti* Linn.) larvae. *Biolife* 2 (2): 579-585.
- Adri, D. & W. Hersoelityotini. 2013. Aktivitas antioksidan dan sifat organoleptik teh daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) berdasarkan variasi lama pengeringan. *Jurnal Pangan dan Gizi* 4 (7): 1-12.
- Ardo, L., G. Yin, P. Xu, L. Varadi, G. Szigeti, Z. Jeney, & G. Jeney. 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific

- immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 275:26–33. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.12.022
- Cao, L., W. Ding, L. Zhang, G. Jeney, & G. Yin. 2008. Effect of the activation of immunological cells in the common carp after stimulation by Lentinan and Astragalus polysaccharides. *J Anhui Agric Univ* 35:219–223
- Galina, J., G. Yin, L. Ardo, & Z. Jeney. 2009. The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. *Fish Physiol Biochem* 35: 669-676.
- Gavamukulya, Y.,F. Abou-Elella, F. Wamunyokoli, & H. Ael-Shemy. 2014. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7 (supplement 1): 5355-5363.
- George, V.C., D.R.N. Kumar, & P.K. Suresh. 2015. Antioxidant, DNA protective efficacy and HPLC analysis of *Annona muricata* (soursop) extracts. *J Food Sci Technol* 52(4): 2328–2335.
- Kusbiyanto, A. Nuryanto, & P.H.T. Soedibja. 2016. Deteksi gen *major histocompatibility complex class II* pada yuwana gurami sowang, *Osphronemus goramy* Lacepede, 1801 asal satu pemijahan. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 16 (3): 279-288.
- Magnadottir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology* 20: 137-151.
- Maryono & A. Sundana. 2002. Teknik pencegahan dan pengobatan penyakit bercak merah pada ikan air tawar yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Buletin Teknik Pertanian* 7 (1): 33-36.
- Noga, E.J. 2010. *Fish Diseases: Diagnosis and Treatment*. 2nd ed. Wiley Balckwell, Iowa, 519 hlm.
- Ohashi, K., M. Mukai, P. Simanjutak, & P. H. Shibuya. 2003. Cancer cell invasion inhibitory effects of chemical constituents in the parasitic plant *Scurrula artopurpurea* (Lorantaceae). *Chem Phar Bulletin* 51(3):343-345.
- Pangaribuan, M., T.A. Pribadi, & D.R. Indriyanti. 2012. Uji ekstrak daun sirsak terhadap mortalitas ektoparasit benih udang windu *Penaeus monodon*. *Unnes Journal of Life Science* 1 (1): 22-28.
- Purwaningsih, U., A. Indrawati, & A.M. Lusiastuti. 2014. Proteksi vaksin monovalen dan koktail selutuh terhadap ko-infeksi *Mycobacterium fortuitum* dan *Aeromonas hydrophila* pada ikan gurame, *Osphronemus goramy*. *Jurnal Riset Akuakultur* 9 (2): 283 – 294.
- Raa, J. 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. In: Cruz-Suarez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.A. Olvera-Novoa, R. Civera-Cerecedo (eds). *Advance en Nutricion Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrcion Acouicola*. Merida, Yucatan, pp 47–56
- Setijaningsih, L., O.Z. Arifin, & R. Gustiano. 2007. Karakterisasi tiga ras ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) berdasarkan metode truss morfometriks. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 7(1): 23-30
- Sulastrianah, Imran, & E.S. Fitria. 2014. Uji daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. 76-84.

- Takahashi, J.A., C.R. Pereira, L.P. Pimenta, M.A. Boaventura, & L.G. Silva. 2006. Antibacterial activity of eight Brazilian Annonaceae plants. *Nat Prod Res.* 20(1):21–26.
- Tanjung, L.R., Triyanto, N.H. Sadi, G.S. Haryani, & D.S. Said. 2011. Uji ketahanan beberapa ras gurami terhadap penyakit *Aeromonas*. *Limnotek* 18 (1): 58 – 71.
- Yin, G., L. Ardo, K.D. Thompson, A. Adams, Z. Jeney, & G. Jeney. 2009. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology* 26: 140-145.
- Yin, G., G. Jeney, T. Racz, P. Xu, X. Jun, & Z. Jeney. 2006. Effect two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 253: 39-47.
- Yin, G., G. Wiegertjes, Y. Li, J. Schrama, J. Verreth, P. Xu, & H. Zhou. 2004. Effect of *Astragalus radix* on proliferation and nitric oxide production of head kidney macrophages in *Cyprinus carpio*: an in vitro study. *J Fish China* 28(6): 628–632
- Yuan, C., X. Pan, Y. Gong, A. Xia, G. Wu, J. Tang, & X. Han. 2008. Effects of Astragalus polysaccharides (APS) on the expression of immune response genes in head kidney, gill and spleen of the common carp, *Cyprinus carpio* L. *Int Immunopharmacol* 8:51–58. doi:10.1016/j.intimp.2007. 10.009

