

1. Pendahuluan

Budidaya Ikan dimaksudkan untuk membiakkan dan melestarikan spesies ikan sekaligus untuk memperoleh profit dari kegiatan tersebut, merujuk UU nomor 45 Tahun 2009 pasal 1 ayat 6 yaitu, pembudidayaan ikan adalah kegiatan untuk memelihara, membesarkan, dan/atau membiakkan ikan serta memanen hasilnya dalam lingkungan yang terkontrol, termasuk kegiatan yang menggunakan kapal untuk memuat, mengangkut, menyimpan, mendinginkan, menangani, mengolah, dan/atau mengawetkannya.

Ikan Patin (*Pangasius* sp.) merupakan ikan air tawar yang menjadi komoditas penting di Indonesia dan memiliki nilai ekonomis tinggi (Putra, 2015), Rahmawati (2013) memaparkan jenis ikan ini biasanya dimanfaatkan sebagai ikan konsumsi. Peningkatan produksi ikan ini diharapkan mampu dijadikan alternatif dalam pemenuhan kebutuhan gizi berupa protein hewani. Peningkatan produksi dapat dilakukan melalui pembudidayaan ikan Patin (*Pangasius* sp.) secara intensif.

Budidaya ikan Patin (*Pangasius* sp.) secara intensif tidak hanya dapat mendatangkan profit yang besar, namun juga memiliki kendala berupa penyakit yang disebabkan oleh salah satunya bakteri *A. hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia*, *Hemorrhagic Septicemia*, *Ulcer Disease*, atau *Red-Sore Disease* (Swann dan Randy, 1989). Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) merupakan penyakit bakterial terpenting pada budidaya ikan air tawar. Serangan infeksiya dapat menyebabkan kematian ikan sampai 80 %

(Suhermanto *et al.*, 2011). Kerugian yang disebabkan sangat besar, dalam waktu yang singkat dapat mematikan secara massal puluhan ton ikan, baik ukuran benih maupun induk (Kordi, 2004). Penelitian Utama (2002) menemukan ikan lele yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan kelainan klinis berupa radang, hemoragik, dan berupa tukak. Swann dan Randy (1989) menjelaskan ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* memiliki banyak gejala yang berbeda diantaranya, kematian mendadak pada ikan, kurangnya nafsu makan, insang pucat, kembung, dan terjadi ulser pada kulit.

Penanggulangan yang dilakukan untuk penyakit biasanya menggunakan antibiotik, menurut Maftuch, *et al.* (2013), ada banyak teknik yang digunakan untuk mengontrol penyakit, seperti menggunakan antibiotik dan kemoterapi, namun, pengalaman menunjukkan bahwa ada beberapa masalah yang terkait dengan penggunaan antibiotik dan kemoterapi dalam pengobatan klinis penyakit udang, seperti, bahaya lingkungan, penyebaran bakteri resisten antibiotik dan terkait stres. Dengan demikian, para peneliti telah berfokus dalam menemukan metode alternatif untuk pengendalian penyakit.

Bahan alami berupa ekstrak kasar daun jambu biji diduga dapat dijadikan solusi untuk ikan Patin yang terkena penyakit bakteri *A. hydrophila* karena pada ekstrak kasar daun jambu biji terdapat komponen anti bakteri. Komponen utama dari daun jambu biji adalah tanin, hasil penelitian Yuliani, *et al.* (2001), kadar tanin tertinggi dari 3 tipe daun jambu biji yaitu 12,66%. Ajizah (2004) menjelaskan tanin mempunyai sifat sebagai pengelat berefek

spasmolitik. Efek spasmolitik ini juga mungkin dapat mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati, maka dari itu diperlukan penelitian mengenai efektifitas ekstrak kasar daun jambu biji (*P. guajava*) terhadap total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila*.

2. Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Laboratorium Ilmu Kelautan, Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, serta di Laboratorium Nutrisi Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 1 Mei – 1 Juli 2016.

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu meliputi toples, *aerator set*, *heater*, colokan kabel, seser, akuarium, autoklaf, nampan, timbangan digital, *beaker glass*, botol film, botol kaca, *haemocytometer*, mikroskop, spuit, pipet tetes, *handtally counter*, selang, Do meter, pH meter, Termometer, Inkubator, Rak tabung reaksi, tabung reaksi, apendorf kecil, pipet bulir, pipet thoma, pipa kapiler, pipet sahli, box sterofoam, lap, *haemofuge*, oven, *rotary evaporator*, *haemometer* dan ember.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak kasar daun Jambu biji (*P. guajava*), ikan Patin, bakteri *A. hydrophila*, air tawar, alkohol 70%, Etanol 96%, TSA (*Tripton*

Soya Agar), NB (*Nutrient Broth*), NA (*Nutrient Agar*), aluminium foil, akuades, Na sitrat 3,8%, Larutan Hayem.

2.2 Metode Penelitian

Metode penelitian menggunakan metode eksperimental, Sukmadinata (2005) menjelaskan penelitian eksperimental atau *experimental research* merupakan penelitian yang bertujuan untuk menguji suatu hubungan sebab-akibat. Hampir secara keseluruhan penelitian yang dilakukan dalam bidang fisika, kimia, maupun biologi menguji hubungan sebab-akibat dari beberapa hal atau variabel.

2.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL), 4 perlakuan 3 kali ulangan.

Perlakuan pada penelitian ini adalah:

- K : Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji 0% dari total pakan dan diuji tantang bakteri *A. hydrophila*;
- A : Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji 2% dari total pakan dan diuji tantang bakteri *A. hydrophila*;
- B : Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji 4% dari total pakan dan diuji tantang bakteri *A. hydrophila*;
- C : Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji 6% dari total pakan dan diuji tantang bakteri *A. hydrophila*.

2.4 Parameter Uji

2.4.1 Parameter Utama

Parameter utama pada penelitian ini adalah total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin ikan Patin.

2.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut.

2.5 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Analisis keragaman atau uji F (ANOVA) digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil), digunakan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji *polynomial orthogonal* digunakan untuk mengetahui bentuk regresi atau hubungan antara perlakuan dengan parameter. Uji T berpasangan digunakan untuk mengetahui perbedaan perlakuan antara pra dan post diuji tantang bakteri *A. hydrophila*.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Total Eritrosit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila*

Hasil penelitian total eritrosit ikan Patin disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Total Eritrosit Ikan Patin Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila* (x10⁴) (sel/mm³)

Perlakuan	(Pra Diuji Tantang) Rerata ± SD (Sel/mm ³)	(Post Diuji Tantang) Rerata ± SD (Sel/mm ³)
K (0%)	109,0 ± 15,6	97,0 ± 26,6
A (2%)	101,3 ± 20,2	80,3 ± 2,5
B (4%)	68,3 ± 1,5	59,8 ± 1,51
C (6%)	70,3 ± 5,8	60,7 ± 1,15

Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji terhadap total eritrosit pra diuji tantang menunjukkan respon berbeda nyata (F hitung > F5%).

Tabel 2. Sidik Ragam Total Eritrosit Ikan Patin Pra dan Post Diuji Tantang

F.Hit (Pra Diuji Tantang)	F. Hit (Post Diuji Tantang)	F 5%	F 1%
7,55 *	4,02 ^{ns}	4,07	7,59

Keterangan: * = Berbeda Nyata; ns = Tidak Berbeda Nyata

Adanya pengaruh nyata tersebut dikarenakan ekstrak kasar daun jambu biji ternyata dapat menurunkan total eritrosit. Wahyuni, *et al.* (2012) menjelaskan keberadaan zat tanin yang dapat mengikat protein dan melapisi dinding usus halus akan menghambat penyerapan protein. Hal ini dapat menyebabkan terhambatnya pembuatan hormon eritroprotein yang berpengaruh pada pembentukan eritrosit.

Respon total eritrosit pra diuji tantang, total eritrosit mengalami penurunan, A'yunin (2007) menjelaskan bahwa infeksi bakteri *A. hydrophila* menyebabkan eritrosit menurun, hal tersebut dikarenakan adanya antigen yang masuk ke dalam tubuh, sehingga untuk melawan antigen tersebut, sel darah yang diproduksi lebih banyak adalah sel darah putih. Selain itu bakteri juga akan mampu merusak sel eritrosit dengan cara melisiskan sel eritrosit pada ikan. Berdasarkan penjelasan tersebut, secara fisiologis ikan mengalami pengurangan eritrosit dalam tubuhnya, menyebabkan hasil uji sidik ragam (ANOVA) post diuji tantang tidak berbeda nyata.

Tabel 3. Uji T Berpasangan Total Eritrosit Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila*

T hitung	T 1%	T 5%
10,104**	4,604	2,776

Keterangan = ** berbeda sangat nyata

Hasil uji T berpasangan menunjukkan sangat berbeda nyata ($T \text{ hitung} > T_{1\%} > T_{5\%}$), karena penurunan total eritrosit setelah diujiantang bakteri *A. hydrophila* tersebut tidak sampai menyebabkan ikan Patin sakit, hal ini dapat dilihat dari total eritrosit yang masih dalam kisaran normal, menurut Putra (2015) eritrosit normal pada ikan Patin yaitu sebesar $2,0 \times 10^4 - 3,0 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$. Lagler (1977) dalam Lukistyowati dan Heny (2013), jumlah eritrosit pada ikan teleostei berkisar antara 0,02 – 3 juta sel/mm³.

3.2 Hematokrit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila*

Hasil penelitian hematokrit ikan Patin disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Hematokrit Ikan Patin Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	(Pra Diuji Tantang) Rerata ± SD (%)	(Post Diuji Tantang) Rerata ± SD (%)
K (0%)	23,01 ± 1,81	20,25 ± 0,88
A (2%)	20,55 ± 0,50	18,72 ± 1,43
B (4%)	18,73 ± 1,10	17,10 ± 1,16
C (6%)	19,66 ± 1,06	18,08 ± 1,50

Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji terhadap hematokrit menunjukkan respon berbeda nyata ($F \text{ hitung} > F_{5\%}$).

Tabel 5. Sidik Ragam Hematokrit Ikan Patin Pra dan Post Diuji Tantang

F.Hit (Pra Diuji Tantang)	F. Hit (Post Diuji Tantang)	F 5%	F 1%
6,94*	3,28 ^{ns}	4,07	7,59

Keterangan: * = Berbeda Nyata;
ns = Tidak Berbeda Nyata

Adanya pengaruh nyata tersebut dikarenakan ekstrak kasar daun jambu biji ternyata dapat menurunkan nilai hematokrit. Dijelaskan oleh Susanti, *et al.* (2013), tanin yang terkandung pada pakan yang dikonsumsi ikan dapat menekan kadar zat besi (Fe) dan menyerap protein, jika protein dan Fe berkurang, pembentukan sel darah merah juga akan terganggu, hal ini akan berimbas pada prosentase hematokrit karena hematokrit merupakan perbandingan antara total eritrosit dengan plasma. Dosim, *et al.* (2013) menyebutkan hematokrit digunakan mengukur perbandingan antara eritrosit dengan plasma, sehingga hematokrit memberikan ratio total eritrosit dengan total volume darah dalam tubuh.

Respon hematokrit terhadap uji tantang bakteri *A. hydrophila* yaitu hematokrit mengalami penurunan. Menurut Susanti, *et al.* (2013), rendahnya nilai eritrosit diduga karena darah mengalami lisis, yaitu pecahnya sel darah merah karena adanya toksin bakteri di dalam darah disebut haemolisin. A'yunin (2007), tingginya jumlah eritrosit berdampak pada semakin tingginya sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dan menyebabkan nilai hematokrit menjadi tinggi, begitu pula sebaliknya, maka secara fisiologis ikan mengalami pengurangan hematokrit dalam tubuhnya, menyebabkan hasil uji sidik ragam (ANOVA) tidak berbeda nyata.

Tabel 6. Uji T Berpasangan Total Eritrosit Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila*

T hitung	T 1%	T 5%
42,23**	4,604	2,776

Keterangan = ** berbeda sangat nyata

Hasil uji T berpasangan menunjukkan sangat berbeda nyata ($T_{hitung} > T_{1\%} > T_{5\%}$) karena, penurunan hematokrit tersebut tidak sampai menyebabkan ikan Patin sakit, hal ini dapat dilihat dari prosentase hematokrit yang masih dalam kisaran normal, Marthen (2005), prosentase hematokrit dapat dijadikan sebagai variabel dalam analisis kesehatan ikan, prosentase hematokrit untuk ikan normal berkisar antara 5-60%. Mekanisme ekstrak kasar daun jambu biji yang diaplikasikan sebagai imunostimulan dapat mempertahankan kesehatan ikan dijelaskan Alifudin (2002), imunostimulan dapat meningkatkan aktifitas dan reaktifitas sel pertahanan seluler ataupun humoral, ketika aktifitas dan reaktifitas sel pertahanan selular meningkat, maka antigen yang masuk kedalam tubuh akan mudah untuk dieliminasi.

3.2 Hemoglobin Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila*

Hasil penelitian hemoglobin ikan patin disajikan pada Tabel 7.

Tabel 9. Rerata hemoglobin Ikan Patin Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila* (G%)

Perlakuan	(Pra Diuji Tantang) Rerata ± SD (G%)	(Post Diuji Tantang) Rerata ± SD (G%)
K (0%)	6,96 ± 0,06	6,40 ± 0,10
A (2%)	6,60 ± 0,17	5,90 ± 0,10
B (4%)	6,23 ± 0,23	5,66 ± 0,25
C (6%)	6,36 ± 0,29	6,13 ± 1,97

Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji terhadap hemoglobin menunjukkan respon berbeda nyata ($F_{hitung} > F_{5\%}$).

Tabel 10. Sidik Ragam Hematokrit Ikan Patin Pra dan Post Diuji Tantang

F.Hit (Pra Diuji Tantang)	F. Hit (Post Diuji Tantang)	F 5%	F 1%
7,287*	0,298 ^{ns}	4,07	7,59

Keterangan: * = Berbeda Nyata;
ns = Tidak Berbeda Nyata

Adanya pengaruh nyata tersebut dikarenakan ekstrak kasar daun jambu biji ternyata dapat menurunkan hemoglobin. Hal tersebut terjadi karena kandungan tanin yang terdapat pada ekstrak kasar daun jambu biji dapat menyebabkan penurunan hemoglobin akibat dari menurunnya eritrosit. Menurut Fujaya (2004), hemoglobin dan eritrosit merupakan variabel yang berbanding lurus. Semakin rendah jumlah sel-sel darah merah maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah. Mekanisme penurunan hemoglobin menurut Wahyuni, *et al.* (2012), penurunan kadar hemoglobin terjadi karena rendahnya penyerapan protein (asam amino) dan atom besi (Fe). Tanin mampu mengikat protein, terikatnya protein oleh tanin menyebabkan gangguan sintesis asam amino, terutama glisin, sehingga sintesis hemoglobin terganggu.

Respon hemoglobin terhadap diuji tantang bakteri *A. hydrophila* yaitu hemoglobin mengalami penurunan, Susanti, *et al.* (2013), menjelaskan kadar hemoglobin yang rendah dapat menjadi salah satu indikasi pada ikan atas terjadinya infeksi dalam hal ini adalah bakteri. Maka secara fisiologis ikan mengalami penurunan hemoglobin dalam tubuhnya,

menyebabkan hasil uji sidik ragam tidak berbeda nyata.

Tabel 11. Uji T Berpasangan Hemoglobin Pra dan Post Diuji Tantang Bakteri *A. hydrophila*

T hitung	T 1%	T 5%
27,31**	4,604	2,776

Keterangan = ** berbeda sangat nyata

Hasil uji T berpasangan menunjukkan sangat berbeda nyata ($T \text{ hitung} > T_{1\%} > T_{5\%}$) karena, penurunan hemoglobin tersebut tidak sampai menyebabkan ikan Patin sakit, hal ini dapat dilihat dari prosentase hemoglobin yang masih dalam kisaran normal, menurut menurut Putra (2015), hemoglobin normal berkisar antara 3,7-7 G%. Mekanisme ekstrak kasar daun jambu biji dalam mempertahankan kesehatan ikan yaitu, ekstrak kasar daun jambu biji dapat meningkatkan leukosit ikan, menurut Susanti, *et al.*(2012), diferensial leukosit berupa neutrophil dan makrofage dapat memfagosit dan mengeliminasi antigen yang masuk ke dalam tubuh, sehingga tubuh akan tetap sehat.

3.3 Mortalitas

Berdasarkan pengamatan terhadap hasil mortalitas ikan uji diperoleh hasil bahwa ikan Patin tidak mengalami kematian. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ikan Patin yang diberi ekstrak kasar daun jambu biji tidak menimbulkan racun di tubuhnya sehingga ikan masih tetap sehat, sedangkan ikan Patin tidak mengalami kematian pada post diuji tantang bakteri, karena ekstrak kasar daun jambu biji dapat meningkatkan kelulushidupan pada ikan, menurut Lukistyowati dan Heni (2013), bahan alami sambiloto dan daun jambu biji dapat

meningkatkan kelangsungan hidup ikan dan pertumbuhan ikan baung.

3.4 Kualitas Air

Kualitas air menurut Minggawati dan Saptono (2012) memberikan pengaruh yang cukup besar terhadap survival dan pertumbuhan makhluk hidup di perairan itu sendiri. Beberapa parameter kualitas air yang diamati dalam penelitian ini yaitu oksigen terlarut (DO), derajat keasaman (pH), dan suhu.

Pengamatan oksigen terlarut (DO) selama penelitian mendapatkan kisaran rerata 5,9 - 6,9. Pengamatan pH selama penelitian mendapatkan kisaran rerata 6,8 - 7,1. Pengamatan suhu selama penelitian mendapatkan kisaran rerata 28,2 °C -29,1°C. Parameter kualitas air berupa oksigen terlarut, pH dan suhu, memiliki kisaran rerata yang termasuk normal, menurut Irwan, *et al.* (2015), oksigen terlarut untuk pemeliharaan ikan Patin haruslah ≥ 3 mg/l. pH air untuk ikan Patin berkisar antara 6,5-8,5. suhu perairan yang digunakan untuk pemeliharaan ikan Patin berkisar antara 27-32 °C.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diperoleh kesimpulan yaitu:

- Ekstrak kasar daun jambu biji memang tidak berpengaruh terhadap total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin ikan Patin post diuji tantang bakteri *A. hydrophila* karena bakteri *A. hydrophila* masih dapat menurunkan total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin, namun ekstrak kasar daun jambu biji masih dapat digunakan dalam

prevention of disease caused by bacteria *A. hydrophila* because it can maintain total erythrocytes, hematocrit and hemoglobin in normal range.

5. Saran

Based on the research, it is suggested to conduct further research using crude leaf extract doses of 2%, 4%, and 6%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *P. guajava* L. *Bioscientiae*. 1(1): 31-38.
- Alifuddin, M. 1999. Peran Imunostimulan (Lipopolisakarida, *Saccharomyces cerevisiae* and Levamisol) terhadap Peningkatan Respons Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Tesis. IPB. Bogor: 50 hlm.
- A'yunin, Q. 2007. Pengaruh Perlukaan dan Penginfeksi *A. hydrophila* serta Pemusaaan Terhadap Gambaran Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Skripsi. UB. Malang: 86 hlm.
- Irwan., Marhadi., Komara., N. Alpian., A.J. Pamungkas., Firdausi. 2015. Budidaya Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Sistem Kolam, Karamba Jaring Tancap, dan Karamba Jaring Apung. WWF-Indonesia. Jakarta Selatan: 42 hlm.
- Lukistyowati, I dan H. Syawal. 2013. Potensi Pakan yang Mengandung Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Daun Jambu Biji (*P. guajava*) untuk Menanggulangi Bakteri *A. hydrophila* Pada Ikan Baung (*Mystus nemurus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. 1(2): 135-147.
- Maftuch., E. Prasetyo., A. Sudianto., M. Rozik., R. Nurdiani., E. Sanusi., H. Nursyam., F. Fariedah., Marsoedi., Murachman. 2013. Improvement of Innate Immune Responses and Defense Activity in Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fab.) by Intramuscular Administration of the Outer Membrane Protein *Vibrio alginolyticus*. *A Springer Open Jurnal*. 2: 1-8.
- Marthen, DP. Gambaran Darah Ikan Nila *O. niloticus* sp. yang diberi Pakan Lemak Patin sebagai Sumber Lemak dalam Pakan. Skripsi. FPIK. IPB : Bogor: 109 hlm.
- Minggawati, I., Saptono. 2012. Parameter Kualitas Air untuk Budidaya Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) di Karamba Sungai Kahayan, Kota Palangka Raya. *Jurnal Ilmu Hewan Tropika*. 1(1): 1-4.
- Putra, A. N. 2015. Gambaran Darah Ikan Patin (*Pangasius* sp.) dengan Penambahan Prebiotik pada Pakan. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perikanan*. 4(1): 63-69.
- Suhermanto, A., S. Andayani., Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) untuk Meningkatkan Leukosit dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*. *Jurnal Kelautan*. 4(2): 49-56.
- Swann, L. dan Randy, W.D.V.M. 1989. Diagnosis and Treatment of *A. hydrophila* Infection of Fish. *Aquaculture Extension*: 1-2.
- Undang-undang Republik Indonesia Nomor 45 Tahun 2009 tentang Perubahan Atas Undang-undang Nomor 31 Tahun 2004. Jakarta.
- Wahyuni, N.Y., N. Mayasari., Abun. 2012. Pengaruh Penggunaan Ekstrak Kasar Kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa* (Jack) Prain) dalam Ransum terhadap Nilai Hematologi Ayam Broiler. *Artikel Ilmiah UNPAD*. Bandung: 1-5 hlm.
- Yuliani, S., L. Udarno., E. Haryani. 2001. Kadar Tanin Dan Quersetin Tiga Tipe Daun Jambu Biji (*P. guajava*). *Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*: 1-8.