*Volume 7, No. 2, 2026*

*ISSN 2723-7583 (Online)*

# Pengaruh Nanopartikel *Terminalia catappa* dan *Allium sativum* terhadap Profil Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* A-49140

***The Effect of Terminalia catappa and Allium sativum Nanoparticles on Leukocyte Cells's Tilapia wich Infected with Aeromonas hydrophila A-49140***

**Shara Jayanti[1]*, Budi Rianto Wahidi[1], Mira Mawardi[2], Nisa Hakimah[1], Budi Sugianti[1], Tri Ari Setyastuti[1], Era Insivitawati[1], Anja Asmarany[1], Dewi Nurmalita Suseno[1], Nurul Hakiki Syafrudin[1]**

[1]Program Studi Teknik Penanganan Patologi Perikanan, Politeknik Kelautan dan Perikanan Sidoarjo, Jawa Timur
[2]Balai Besar Budidaya Air Tawar Sukabumi, Jawa Barat

* Corresponding author email: sharajayanti@gmail.com

*Submitted: 13 February 2026 / Revised: 14 May 2026 / Aceppetd: 22 may 2026*

*https://doi.org/10.21107/juvenil.v7i2.33571*

**ABSTRAK**

*Penelitian ini menguji efektivitas aplikasi nanopartikel ekstrak Allium sativum dan Terminalia catappa terhadap jumlah sel leukosit dan persentase differensial leukosit Oreochromis niloticus yang diinfeksi bakteri A.hydrophila A-49140 menggunakan dosis 6 x $10^8$ CFU/mL secara intraperitoneal. Formulasi nanopartikel dilakukan dengan penambahan kitosan yang dapat mempercepat onset of action obat dam aman untuk tubuh. Nilai ($IC_{50}$) dari nanopartikel ekstrak A. sativum dan T. catappa ditentukan berdasarkan uji DPPH dengan nilai 17 mg/mL. Pengukuran nanopartikel dianalisa menggunakan uji PSA dan menghasilkan ukuran partikel sebesar 6,57 nm. Perhitungan jumlah leukosit dan persentase diferensial leukosit dilakukan secara mikroskopis. Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada perlakuan yang dilakukan serta ikan perlakuan C memiliki jumlah leukosit sebesar 2.82 x $10^5$ sel/$mm^3$ serta memiliki persentase differensial leukosit (63% limfosit, 19% monosit dan 15% eosinofil), sedangkan ikan F memiliki jumlah leukosit sebesar 1.17 x $10^5$ sel/$mm^3$ dan memiliki persentase differensial leukosit (6% limfosit. 1% monosit dan 1% eosinofil) hal ini menunjukkan bahwa pada ikan F resopon sistem imun belum optimum terbentuk sedangkan pada ikan C memiliki keadaan respon sistem imun yang paling baik diantara semua ikan percobaan.*

***Kata Kunci:*** *Allium sativum, Terminalia catappa, Oreochromis niloticus, A.hydrophila A-49140, leukosit*

**ABSTRACT**

*This study aims to determine of effect"s A. sativum and T. catappa nanoparticles on leukocyte cells and the percentage of differential leukocytes's O. niloticus wich infected A.hydrophila A-49140 at a dose of 6 x $10^8$ CFU/mL intraperitoneally. The nanoparticle formulation was carried out by adding chitosan, which can accelerate the onset of drug action and is safe for the body. The $IC_{50}$ value of the A. sativum and T. catappa extract nanoparticles was determined based on the DPPH test with a value of 17 mg/mL. The nanoparticles were analyzed using the PSA test and resulted in a particle size of 6.57 nm. The number of leukocytes and the percentage of differential leukocytes was carried out microscopically. The results stated significant in the treatments carried out and the fish treated with C had a leukocyte of 2.82 x $10^5$ cells/$mm^3$ and had a differential leukocyte percentage (63% lymphocytes, 19% monocytes and 15% eosinophils), while the fish F had a leukocyte of 1.17 x $10^5$ cells/$mm^3$ and had a differential leukocyte percentage (6% lymphocytes, 1% monocytes and 1% eosinophils). This shows that in the F fish the immune system response hasn't been optimally, while the fish C had the best immune system response among all the experimental fish.*

***Keywords:*** *Allium sativum, Terminalia catappa, Oreochromis niloticus, A.hydrophila A-49140, leukocytes*

## PENDAHULUAN

Budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berperan penting memenuhi kebutuhan gizi masyarakat Indonesia yaitu sekitar 1.317.560,64 ton di tahun 2022 (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2025). Ikan nila selain memiliki nilai gizi yang cukup juga memiliki laju pertumbuhan yang cepat serta bobot dan nilai produktivitas tergolong tinggi (Sukmawati *et.al.,* 2025). Keberhasilan budidaya dipengaruhi oleh faktor patogen dan non patogen. Faktor patogen kendala utama yang berpotensi menyebabkan kematian masal dan kerugian ekonomi yang cukup besar. Penyakit patogen bisa disebabkan oleh virus, bakteri, jamur dan parasit (Azhar *et.al.,* 2020).

Penyakit yang sering menjangkit ikan nila adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS), dimana penyakit ini disebabkan oleh bakteri *A.hydrophila* yang mampu menyebabkan angka mortalitas tinggi sehingga *survival rate* rendah dan terjadi gagal panen serta kerugian secara ekonomi (Sahoo *et al.,* 2016). Bakteri *A. hydrophila* termasuk kedalam bakteri patogen dikarenakan saat sel bakteri mati atau mengalami lisis maka bateri tersebut merelease endotoksin (lipopolisakarida) (Ramadhani *et al.,* 2024) serta menghasilkan enzim ekstraseluler untuk menghancurkan selpada jaringan normal ikan (Muslikha *et al.,* 2016). Bakteri ini juga dapat menyebabkan gejala klinis akut dan bersifat massal dalam waktu 1–2 minggu dimana nilai mortalitasnya berkisar 80–100% (Pratiwi *et al.,* 2020).

Pemanfaatan bahan herbal sebagai imunostimulan dapat meminimalisir efek residu serta resistensi (Pasaribu *et.al.,* 2021), sehingga obat herbal merupakan alternatif menjadi pengganti antibiotik lingkungan, salah satunya yaitu tanaman herbal yang berperan sebagai imunostimulan dan antimikroba. Efektivitas dari bahan herbal yang berpotensi menjadi imunostimulant dipengaruhi oleh kandungan senyawa antioksidan di dalamnya (Miranti*, et al.,* 2026). Kandungan zat antioksidan dalam daun Ketapang meliputi saponin, terpenoid, flavonoid serta tanin. Tanaman herbal seperti Bawang putih sering kali digunakan sebagai imunostimulan dikarenakan mempunyai zat aktif alisin yang yang mampu meningkatkan sistem imun non spesifik melalui mengoptimalisasi kadar ekspresi gen sitokin yang mampu meningkatkan respon imun terhadap antigen (Erguig *et al.,* 2015). Bawang putih juga dapat bertindak sebagai bakteriosid terhadap patogen serta mampu meningkatkan jumlah sel monosit serta aktivitas fagositosis terhadap sel patogen (Erguig, *et al.,* 2015). Campuran bawang putih dengan daun ketapang mampu bersinergi sebagai antibakteri dikarenakan memiliki senyawa aktif seperti tannin, triterpenoid/steroid, flavonoid, saponin dan alkaloid. Bahkan pada uji efektivitas dari ekstrak daun ketapang dengan dosis 5 g/kg pakan terbukti efektif meningkatkan pertumbuhan ikan nila dan mampu membunuh bakteri *A. hydrophila* sehingga nilai *survival rate* (SR) menjadi lebih tinggi (Bukasiang *et.al.,* 2019). Daun ketapang juga mampu meningkatkan sistem imun non-spesifik melalui peningkatan respon imun non-spesifik melalui peningkatan pada aktivitas fagositosis, lisozim, serta mampu meningkatkan kandungan protein untuk melawan patogen dengan lebih cepat (Muahiddah *et.al.,* 2023). Flavonoid merupakan kelompok dari senyawa polifenol sebagai senyawa antihiperkolesterolemia (Waluyo *et.al.,* 2017). Ekstrak bawang putih mengandung senyawa antiksidan utama berupa alicin yang sudah terbukti dapat mengoptimalkan sistem imunitas tubuh serta meningkatkan pertumbuhan ikan (Zebua *et al.*, 2024). Pada penelitian yang sudah dilakukan juga menyimpulkan bahwa ekstrak bawang putih terbukti optimum untuk meningkatkan pertumbuhan dan daya tahan tubuh terhadap patogen (Fitriyanti *et al.,* 2020).

Formulasi ekstrak menjadi nanopartikel merupakan suatu inovasi untuk mempercepat *onset of action* dari suatu obat. Studi ini dimaksudkan untuk melakukan evaluasi potensi campuran herbal daun ketapang dan bawang putih sebagai imunostimulan yang efektif dan berkelanjutan terhadap budidaya perikanan. Harapan dari hasil penelitian ini adalah pengurangan ketergantungan terhadap antibiotimelalui tanaman obat herbal untuk meningkatkan kesehatan ikan serta kualitas produk perikanan. Nanopartikel ekstrakl herbal dapat mengoptimalkan aktivitas antioksidan serta pelepasan obat 74 x lebih cepat (Dewandari *et.al.,* 2013). Pada penelitian ini untuk menganalisis efektivitas dari aplikasi nanopartikel bawang putih dan daun ketapang terhadap sel leukosit dari ikan nila yang diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila A*- 49140.

## MATERI DAN METODE

### Bahan

*Oreochromis niloticus*, Etanol 70%, *Aeromonas hydrophila A*- 49140, Aquadest, Bawang putih,

*ISSN 2723-7583 (Online)*

Daun Ketapang, PBS, T*ryptic Soy Agar* (TSA) by Himedia, *Tryptc Soy Broth* (TSB) by Himedia, Mc. Farland standard by Himedia, Serbuk Kitosan, NaTPP, Pewarnaan HE by Merck dan NaCl by Merck.

**Formulasi Nanopartikel**

Formulasi nanopartikel ekstrak herbal secara gelasi ionik menggunakan kitosan dilakukan dimana langkah pertama dengan menimbang setiap (1 g) ekstrak herbal campuran ekstrak *Terminalia catappa* dan *Allium sativum* dalam tabung duran. Ekstrak alami selanjutnya ditambahkan kedalam 35 mL etanol serta dihomogenkan dalam 15 mL akuades di beker *glass* 2000 mL, selanjutnya diberi 100 mL larutan yang berisi 0,1 g kitosan pada 100 mL larutan asam asetat glasial 1%. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan larutan yang terdiri dari 0,035 g NaTPP dalam 350 mL aquadest secara bertahap disertai pengadukan dengan stabill selama 2 jam, kemudian dihomogenkan lagi menggunakan *magnetic stirer*. Apabila semua bahan sudah homogen, dilanjutkan dengan pengadukan lagi oleh *magnetic stirrer* selama kurang lebih 2 jam menggunakan kecepatan yang stabil

**2,2 Diefenil-1-Pikrildhidrasil / DPPH**

Analisa kandungan senyawa aktif menggunakan uji DPPH, dimanan pada uji ini mengukur nilai absorbansi menggunakan alat UV-Vis spektrofotometer dengan Panjang gelombang $\lambda$ = 516 nm untuk menentukan nilai $IC_{50}$. Analisa kandungan antioksidan dimulai menggunakan DPPH liquid sebagai *negative control*. Kemudian sebanyak 4 mL DPPH liquide dipipet, ditunggu ±30 menit di ruangan yang kedang cahaya selanjutnya dilihat nilai absorbansi. Tahapan kedua yaitu uji efek antioksidan nanopartikel ekstrak bawang putih dan daun Ketapang dalam berbagai konsentrasi. Ekstrak tersebut ditimbang (200, 400, 600, 800, 1000 ppm) dan dimasukkan dalam pipet 0,5 mL dipipet kemudian dilakukan penambahan 3,5 mL DPPH liquid dan dihomogenisasi, setelah homogen dilakuakn penyimpanan selama 30 menit dalam ruang gelap kemudian diamati absorbansinya. Hasil pengamatan dinyatakan dalam persentase penghambatan dengan perhitungan:

% inhibisi = $Abs\ kontrol - Abs\ Uji\ X$ 100%

Setelah perhitungan % dilakuakn penetapan persamaan regresi linier dimana x merupakan konsentrasi dan y merupakan persentase dari nilai inhibisi. Berikutnya didapatkan persamaan regresi, dengan memasukkan nilai y = 50 yang mengartikan kondisi inhibisi dari 50% DPPH. Nilai x yang diperoleh merupakan konsentrasi larutan ekstrak herbal yang mampu meredam 50% dari total DPPH ($IC_{50}$). Nilai $IC_{50}$ dalam uji DPPH menunjukkan konsentrasi saat sampel berhasil meredam 50% DPPH dan merupakan dosis efektif untuk aktivitas antioksidan suatu sampel (Tristantini *et al.,* 2016).

**Identifikasi Biokimia**

Pengamatan biokomia dilakukan untuk mengkonfirmasi jenis bakteri yang akan dipakai sesuai dengan karakteristik bakteri *Aeromonas hydrophila A*-49140. Pengujian koloni pada media GSP dan diperbanyak di media TSA serta dilanjutkan di media TSB. Isolat bakteri hasil pemurnian selanjutnya dikultur dan diinkubasi pada suhu 37℃ selama 24 jam. Uji biokimiawi dilakukan sepertu uji pewarnaan gram, uji motility pada media MIO serta kemampuan bakteri dalam memfermentasi gula menggunakan media TSIA.

**Postulat Koch Bakteri *A. hydrophila A*-49140**

Isolat bakteri *A. hydrphila* A-49140 selanjutnya dilanjutkan uji postulat Koch. Uji Postulat Koch diterapkan dengan melakukan penginjeksian ikan melalui rute intraperitoneal masing-masing isolat bakteri pada 10 ekor ikan nila setiap bak yang dilakukan dengan pengulangan 3 kali. Pengujian serta pengamatan dilaksanakan setiap hari dalam kurun waktu 14 hari untuk melihat dan mencatat gejala klinis yang timbul baik yang tampak pada organ eksternal maupun internal.

**Aplikasi Nanopartikel Bawang Putih – Daun Ketapang**

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan berat 150 g sebagai hewan coba pada penelitian ini terlebih dahulu diadaptasikan dalam kurun waktu 7 hari. Sebelum diletakkan pada bak fiber, ikan diberi terapi dengan larutan garam secara rendemen dnegan dosisi 5 ppm selama 5 menit. Terapi ini dimaksudkan untuk melepaskan ektoparasit yang menempel serta mengurangi *stress*. Pada kurun waktu adaptasi, kualitas air dikontrol setiap hari supaya tetap stabil. Feses ikan juga dibuang melalui penyiponan yang dilaksanakan setiap 2 hari sekali sesudah diberikan pakan. Sedangkan untuk pergantian media air dilaksanakan setiap 3 hari sekali dan tergantung dengan kebersihan serta kondisi

media air dengan volume pergantian air sebanyak 30% (Lengka *et al.,* 2013). Jika jumlah kematian ikan mencapai 10%, maka dilakukan penggantian hewan uji**.** Sebanyak 210 ekor ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan berat 150 g. Ikan yang akan digunakan dalam penelitian ini diberikan perlakuan dengan Imunostimulan dengan nanopartikel ekstrak *Terminalia catappa* dan *Allium sativum* maupun ekstrak *Terminalia catappa* dan *Allium sativum* dari dengan rute injeksi intraperitoneal.

- A (A1, A2, A3): ikan nila tanpa diinjeksi dengan imunostimulan dan tanpa bakteri *A. hydrophila* (kontrol +)
- B (B1, B2, B3): ikan nila diinjeksi dengan *A.hydrophila* dan imunostimulan nanopartikel ekstrak daun ketapang dan bawang putih ($IC_{50}$)
- C (C1, C2, C3): ikan nila diinjeksi dengan *A.hydrophila* dan imunostimulan nanopartikel ekstrak daun ketapang dan bawang putih ($2IC_{50}$)
- D (D1, D2, D3): ikan nila diinjeksi dengan *A.hydrophila* dan imunostimulan ekstrak daun ketapang dan bawang putih ($IC_{50}$)
- E (E1, E2, E3): ikan nila diinjeksi dengan *A.hydrophila* $10^9$ CFU/mL dan imunostimulan ekstrak daun ketapang dan bawang putih ($2IC_{50}$)
- F (F1, F2, F3): ikan nila diinjeksi dengan *A.hydrophila* (kontrol -)
- G (G1, G2, G3): ikan nila imunostimulan nanopartikel ($IC_{50}$)

**Pemeriksaan Jumlah Sel Leukosit dan Pengamatan Differensial Leukosit**

Pengujian Total *Leukosit Total Leucocyte Count* dihitung menggunakan haemocytometer. Darah dihisap dengan pipet Thoma untuk leukosit sampai dengan skala 0,5 dan diberikan larutan Turk's sampai dengan skala 11, pipet digerakkan dengan membentuk angka delapan selama 3-5 menit hingga homogen serta empat tetes pertama dibuang. Larutan tersebut diteteskan pada hemocytometer kemudian ditutup dengan gelas penutup (Oktarina *et al.,* 2018). Sel leukosit dilakuakn pengamatan pada mikroskop perbesaran 400x serta total leukosit dihitung pada empat kotak besar di bagian sudut kiri dan kanan atas serta pada sudut kiri dan kanan bawah (Maftuch *et al.,* 2020). Total leukosit dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$Total$ Jumlah Sel $Leukosit$ = Σ leukosit dihitung x 50 $sel/mm^3$

**Periode dan Lokasi Studi**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan Politeknik Kelautan dan Perikanan Sidoarjo, Unit Layanan Penelitian (ULP) sUniversitas Airlangga. Studi ini dilaksanakan dalam kurun waktu3 (tiga) bulan, yaitu Juli - September 2025.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Rendemen dan Ukuran Partikel**

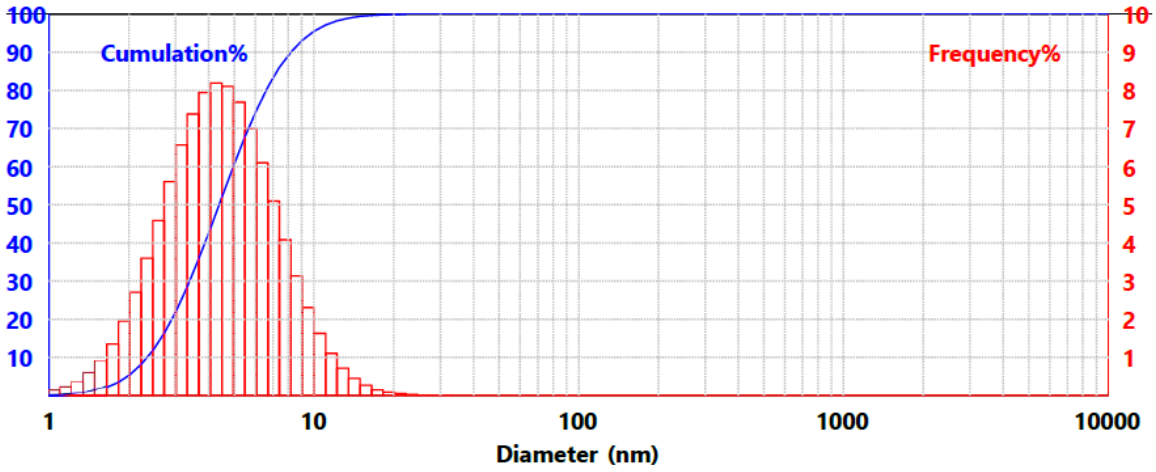
Rendemen merupakan perbandingan jumlah (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Satuan dari rendemen adalah %, dimana semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka menunjukkan bahwa semakin banyak nilai ekstrak yang dihasilkan. Berdasarkan hasil perhitungan bobot rendemen campuran simplisia bawang putih (*Allium sativum*) dengan daun ketapang (*Terminalia catappa*), hasil yang diperoleh sangat rendah yaitu 22,8%. Angka tersebut menandakan bahwa diduga ektrak tersebut memiliki mutu yang bagus karena berbanding terbalik dengan kuantitas ekstrak yang dihasilkan dari proses ektraksi campuranBawang Putih (*Allium sativum*) dengan Daun Ketapang (*Terminalia catappa*).

Rendemen (%) = (Bobot Ekstrak / Bobot Daun Ketapang dan Bawang Putih) x 100%.
Rendemen (%) = (2.281,4 g/10.000 g) x 100%
Rendemen (%) = 22,8 %

Larutan nanopartikel ekstrak sebanyak 2-3 tetes diujikan pada alat PSA (*Particle Size Analyzer*) untuk mengidentifikasi size dari sampel. Prinsip PSA adalah fraksi dengan bantuan laser untuk identifikasi mulai dari ukuran submikron sampai dengan milimeter, Counter principle untuk mengidentifikasi ukuran partikel yang memiliki ukuran mikron hingga milimeter serta penghamburan sinar untuk identifikasi partikel dengan size mikron sampai dengan nanometer (Kim *et.al.,* 2006).

**Tabel 1.** Hasil uji *particle size analyzer*

| **Hasil UJI PSA Nanopartikel Bawang Putih – Daun Ketapang** | | |
|---|---|---|
| Dav.Diameter:Xav= 6.57nm | Dispersion Index:PI=0.2680 | Photon Count: 3 |
| D10 = 2.35 nm | D50 = 4.38 nm | D90 = 8.17 nm |




**Gambar 1.** Hasil PSA nanopartikel ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa*) dan bawang putih (*Allium sativum*) by PSA BioBase

Nanopartikel adalah partikel koloid dengan ukuran antara (10-1000) nm. Kesesuaian bentuk sediaan nanopartikel, diperlukan untuk memperoleh sistem yang dapat memberikan hasil terapi yang optimal (Hendra *et.al.,* 2012). Beberapa hasil penelitian nanopartikel herbal menunjukkan bioavailibilitas dan sifat fungsional lainnya meningkat secara signifikan. Hasil dari analisis ukuran partikel menunjukkan ukuran distribusi rata-rata sebesar 6,57 nm, seperti grafik pada **Gambar 1 dan Tabel 1**. Particle size analyzer (PSA) yang digunakan pada penelitian ini adalah BioBase. Kemampuan partikel nano untuk menembus dinding sel juga lebih efisien sehingga tingkat absorbs sediaan obat herbal dalam tubuh juga tinggi. Size dari suatu partikel berpengaruh terhadap target reseptor zat aktif, kelarutan obat, dan level aktivitas farmakologi suatu zat aktif.

**DPPH**

Berdasarkan pengujian (2,2 Diefenil-1-Pikrildhidrasil, didapatkan hasil dari rata rata absorbansi sampel dan komsentrasi sampel (mg/L) adalah 17 mg/mL, sehingga $IC_{50}$ dari nanopartikel ekstrak tersebut adalah 17 mg/mL. Kandungan kitosan dalam nanopartikel ini juga memiliki respon terhadap antibody yang tepat terutama Th 1 dimana sel T helper ini mampu melindungi organisme dari patogen intraseluler. Selain itu kitosan juga bersifat mukoadhesif yang membuatnya cocok untuk optimasi vaksin dikarenakan cepat mengangkut antigen menuju lokasi efektor imun tubuh. Ekstrak juga herbal sering digunakan untuk obat dan adjuvant. Senyawa allicin disebutkan sebagai komponen bioaktif seperti sulfur yang terdapat dalam bawang putih yang sudah dibentuk menjadi bagian yang lebih halus seperti serbuk ataupun bagian yang terpotong kecil dimana perubahan bentuk bawang putih ini memicu pembentukan enzim alliinase untuk membentuk senyawa allicin. Allicin juga akan terurai menjadi senyawa vinyldithiines dan Ddallyl disulfide, senyawa ini berpera sebagai zat antibakteri spektrum luas. Daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) adalah jenis tanamanfamilia dari Combretaceae dari kepulauan Melayu yang berperan sebagai antibakteri pada ikan.

Kandungan allicin dalam bawang putih memiliki aktivitas antibakteri dan dapat bertindak juga sebagai antijamur, dan antivirus. Allicin mampu menghambat sintesis RNA bakteri, dan menghambat sintesis DNA dan protein bakteri secara parsial. Allicin (*Diallyl Thiosulfinate*) memiliki sifat yang kurang stabil dan dapat berubah kembali menjadi vynilthidiines atau dyallildisulfide atau yang disebut ajoene. Selain allicin umbi bawang putih, juga mengandung senyawa ynag berperan sebagai antibakteri seperti minyak atsiri, flavonoid, polifenol, dan saponin. Ketika *Allium sativum* dilumatkan, akan *release* enzim alliinase dimana enzim ini dengan cepat mampu melisiskan alliin dengan memecah ikatan karbon dan sulfur alliin kemudian membentuk senyawa asam sulfenik. Senyawa asam sulfenik berkondensasi menjadi allicin dan thiosulfinat lainnya (Singh *et.al*., 2008). *Allium sativum* lebih mudah merusak gugus thiol dan DNA

polymerase yang dibutuhkan untuk replikasi kromosom bakteri serta mampu merangssang sistem imun dengan peningkatan jumlah fagosit, limfosit dan titer antibodi. *Allium sativum* bersifat bakterisidal juga mampu menghambat mikroorganisme MRSA (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) dan strain multi drug resistance terotoxigennic (*E. coli, Enterococcus, Shigella disentriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei*). *Allium sativum* juga mencegah produksi toksin bakteri seperti enterotoksin dari bakteri Staphylococcus A, B, C1 serta thermonuclease (Rantapina, 2003).

Allicin masuk dalam sel melalui membran sel kemudian sistein dalam membran bakteri mempunyai sisi rantai terminating pada grup sulfihidril. Gugus thiosulfinat S(=O) S dapat mengikat gugus thiol / gugus sulfihidril SH-enzim bakteri disamping rantai disulfide (Singh *et.al.,* 2008) sehingga metabolisme sel bakteri terganggu dan terjadi kematian bakteri. Dalam literatur lain menyebutkan bahwa proteinase bakteri diaktifkan oleh senyawa sulfihidril pada pH 5,5-6,5. Jika sulfihidril ini diikat oleh gugus S(=O) S dari senyawa allicin atau senyawa thiosulfinat lainnya, maka mekanisme pengaktifan proteinase bakteri ini juga akan dihambat (Huriawati, 2006).

Hasil pengujian kadar alkaloid dengan komposisi 50% daun ketapang (*Terminalia catappa*) dan 50% bawang putih (*Allium sativum*) menghasilkan kadar alkaloid tertinggi sebesar 37,91% (b/b) dengan persentase RPD 1,5%. Hasil ini menunjukkan bahwa daun ketapang dan bawang putih mampu bersinergis untuk meningkatkan kadar alkaloid. Bawang putih diketahui memiliki kandungan sulfur bioaktif, terutama allicin untuk berperan sebagai antimikroba dan imunostimulan (Rahman & Lowe, 2020). Daun ketapang yang mengandung flavonoid dan tannin dan alkaloid yang mampu meningkatkan sistem imun melalui aktivitas antioksidan serta proteksi jaringan (Immanuel, *et al.,* 2018). Alkaloid juga mempunyai berbagai aktivitas biologis antioksidan, antimikroba dan imunostimulan (Wink, 2015).

**Uji Postulat Koch**

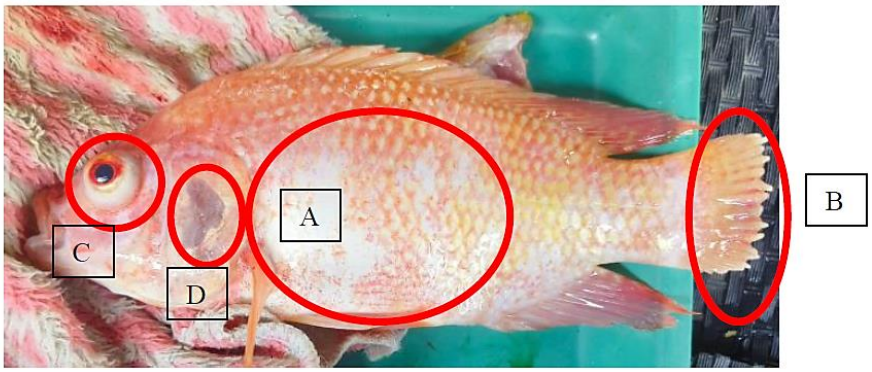
*Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri oportunistik yang bersifat *gram negative* yang mampu menyebabkan kematian ikan secara cepat. Bakteri aeromonas ini juga berpotensi menginfeksi manusia dan hewan lainnya. Saat sel bakteri lisis, *Aeromonas hydrophila* menghasilkan endotoksin berupa lipopolisakarida yang terdapat pada dinding selnya (Ramadhani *et al*., 2024). Bakteri ini mampu memproduksi enzim ekstraseluler untukmerusak sel ikan normal (Muslikha *et al.,* 2016). Infeksi oleh *Aeromonas hydrophila* dapat berefek negative pada produksi akuakultur karena mengakibatkan kematian massal dalam waktu 1–2 minggu dengan tingkat mortalitas di angka 80–100% (Pratiwi *et al.,* 2020; Astria *et al*., 2017).

**Tabel 2** Gejala klinis eksternal dan internal ikan nila ynag diinfeksi bakteri *A hydrophilla* strain A49140

| Kode Isolat | Sampel | Mortalitas (ekor) | Mortalitas (%) | G.K. Eksternal | G.K.Internal |
|---|---|---|---|---|---|
| Kontrol (PBS) | 30 | 0 | 0 | Ikan tampak sehat hanya respon makan lambat | Normal |
| 1,5 x $10^8$ CFU/mL | 30 | 10 | 33,3% | Pembengkakan pada kloaka | Normal |
| 3 x $10^8$ CFU/mL | 30 | 13 | 43,33% | Lendir di tubuh ikan terlihat banyak | Normal |
| 6 x $10^8$ CFU/mL | 30 | 15 | 50% | Exophtalmia dan sedikit luka pada kulit tetapi sisik tidak terkelupas | Hepar tampak pucat |
| 9 x $10^8$ CFU/mL | 30 | 15 | 50% | Lendir sangat berlebih dan terdapat sedikit luka pada kulit | Hepar tampak pucat |

Kultur bakteri murni yang sudah didapatkan kemudian diujikan Postulat melalui route intraperitoneal dengan dosis 1,5 x $10^8$ CFU/ikan, 3 x $10^8$ CFU/ikan, 6 x $10^8$ CFU/ikan dan 1,5 x $10^8$ CFU/ikan pada 30 ekor ikan nila dengan 3x pengulangan serta dipelihara

selama 14 hari untuk diamati gejala klinis eksternal dan internal serta tingkat mortalitas ikan akibat penyuntikan tersebut. Ikan yang telah terindikasi penyakit dan atau sudah mati, dilakukan swab dari luka pada sisik, organ gilnjal dan hepar kemudian dikultur pada media GSP, kemudian diperbanyak pada media TSB untuk kemudian dilanjutkan dengan uji fenotipik. Uji Postulat Koch dilaksankan untuk mengetahui apakah isolate murni bakteri mampu menimbulkan patogenitas terhadap ikan patin. Hasil uji coba postulat koch menunjukkan gejala klinis eksternal, internal, dan mortalitas ikan patin yang dideskripsikan pada (**Tabel 2**). Gejala klinis pada fisik ikan patin setelah uji postulat Koch yaitu haemoragi




area mulut (oral) serta pembengkakan pada kloaka serta kematian (A'yunin *et.al.,*2021).

Berdasarkan pengamatan gejala klinik hasil uji Postulat Koch, gejala klinik yang terlihat mengarah kepada aeromoniasis. Konsentrasi standard macfarland digunakan untuk menentukan jumlah suspense bakteri. Berdasarkan tingkat mortalitas, pada penelitian ini memilih dosis bakteri 6 x $10^8$ CFU/mL dikarenakan mendekati $LD_{50}$ (dosis akut yang menyebabkan 50% kematian) berdasarkan tingkat mortalitas dan munculnya gejala klinis (**Gambar 2**). Metode penentuan nilai $LD_{50}$ mengacu pada Peraturan BPOM Nomor 10 Tahun 2022 tentang Pedoman Uji *tro* (BPOM,

**Gambar 2. (**A) Luka dan erosi pada bagian sisik, (B) Geripis pada sirip ekor ikan nila, (C) ikan mengalami exopthalmia, (D) Perdarahan pada insang

**Identifikasi Biokimia**

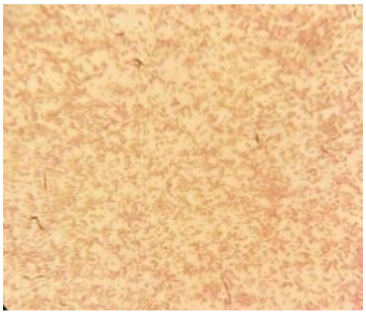
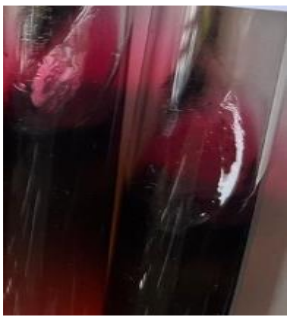
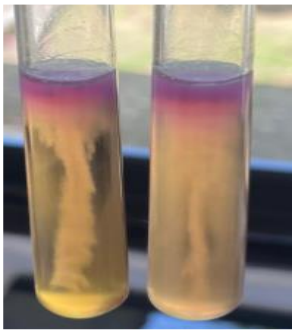
Ikan yang mengalami gejala klinis pada saat uji Postulat Koch dengan dosis bakteri 6 x $10^8$ CFU/mL dinekropsi untuk swab organ dan luka kemudian dikultur pada media GSP (glutamate Strach Phenol Red Agar yang merupakan media *differensial* untuk genus Aeromonas dan Pseudomonas. Tahapan selanjutnya setelah koloni bakteri tumbuh pada media GSP adalah memperbanyak koloni bakteri pada media tumbuh broth seperti TSB (*Tryptone Soya Broth*), hal ini dilakukan untuk memperkaya bakteri dan proses penyimpanan bakteri supaya hasil uji fenotipik lebih optimal (Seniati, *et.al.,* 2020). Bakteri *A hydrophilla* strain A-49140 merupakan kultur murni bakteri ATCC yang didapatkan dari Balai Besar Budidaya Air Tawar Sukabumi.

Pengujian biokimia untuk mengetahui sifat dari bakteri *A hydrophilla* strain A-49140. Uji yang dilakukan adalah uji sifat gram bakteri dengan pewarnaan gram dan uji motilitas pada media MIO (*Motility Indole, Ornithine*) serta uji pada media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Media MIO merupakan media semi *solid* yang digunakan untuk menguji tiga sifat bakteri seperti pergerakan (motilitas), produksi indol, dan dekarboksilasi ornithin. Bakteri *Aeromonas hydrophilla* merupakan bakteri gram negative, termasuk dalam bakteri yang motil dan positif indol,

Media TSIA merupakan media diferensial untuk menguji kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa serta kemampuan dalam memproduksI hydrogen sulfida ($H_2S$). Bakteri *Aeromonas hydrophilla* memiliki kemampuan untuk menghasilkan *hydrogen sulfida* ($H_2S$) tanpa menghasilkan gas $CO_2$ tetapi mampu memfermentasikan glukosa. Pewarnaan gram dilakukan untuk melihat sifat gram pada bakteri dimana kelompok bakteri gram

negative yang ditandai dengan warna merah yang berasal dari safranin dikarenakan peptidoglikan pada dinding sel bakteri *A.hydrophila* tipis sehingga tidak bisa mempertahankan warna pertama (gentian violet) (Bahariyanto *et.al.,* 2025). Bakteri *A.hydrophila* merupakan bakteri berbentuk batang (basil) berukuran pendek. Hasil dari uji fenotipik dijelaskan pada **Tabel 3.**

**Tabel 3.** Hasil uji biokimia isolat bakteri *A hydrophilla* strain A-49140

| Uji Bakteri Gram | Uji TSIA | Uji MIO |
|---|---|---|
|  |  |  |
| • Pada pewarnaan gram menunjukkan bahwa sampel ini merupakan kelompok bakteri gram negative yang ditandai dengan warna merah yang berasal dari safranin dikarenakan peptidoglikan pada dinding sel bakteri *A.hydrophila*tipis sehingga tidak bisa mempertahankan warna pertama (gentian violet).<br>• Berbentuk batang pendek | • Pada hasil pengujian dalam media TSIA, diketahui bahwa terdapat perubahan warna media menjadi kuning kecoklatan yang memandakan bahwa Bakteri *Aeromonas hydrophilla*mampu memfermentasi glukosa<br>• Menghasilkan H2S tanpa gas CO2 | • Terjadi perubahan warna putih pada area tusukan, hal ini menunjukkan sifat bakteri *A. hydropila* sampel *A-49140* bersifat motil, |

**Pengujian Sel Leukosit**

Leukosit merupakan komponen sel darah yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh ikan. plikasi imunostimulan, jumlah leukosit juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti umur ikan, aktivitas otot, aksitasi dan masa estras serta kondisi stress pada ikan. Jumlah leukosi dapat mengalami penurunan apabila ikan berada dalam kondisi stress (Yanto *et al.,* 2015. Jumlah leukosit dihitung dengan menggunakan haemocytometer. Jumlah leukosit pada ikan normal adalah 2 – 5 x $10^4$ sel/$mm^3$. Sel leukosit diamati di bawah mikroskop dengan ukuran pembesaran 10x dan total leukosit dihitung pada empat kotak besar di bagian sudut kiri dan kanan atas serta pada sudut kiri dan kanan bawah (Maftuch *et al.,* 2020).

Analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan nilai signifikansi < 0,05, yang mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap jumlah leukosit ikan aeromoniasis yang diterapi dengan naopartikel esktrak campuran bawang putih dan daun ketapang. Berdasarkan **Tabel 4** dapat diketahui bahwa kelompok ikan perlakuan C berbeda nyata dengan seluruh kelompok lainnya.Jumlah sel leukosit ikan pada perlakuan C menunjukkan hasil yang paling optimum terhadap dosis terapi 2IC50 nanopartikel ekstrak terhadap paparan bakteri *A. hydrophilla* strain *A-49140.*

Leukosit memiliki banyak sekali kelompok sel seperti sel B plasma yang mampu menghasilkan antibodi sebagai hasil respon dari sistem imunitas berupa pertahanan humoral. Meningkatnya total leukosit memperlihatkan peningkatan kekebalan tubuh ikan terhadap suatu antigen. Jumlah total leukosit yang meningkat pada ikan yang diinjeksi dengan nanopartikel ekstrak bawang putih dan daun ketapang menunjukan bahwa imunostimulan ini mampu menstimulasi respon imun positif dalam tubuh ikan. Hal ini sesuai dengan teori empiris dari beberapa penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa formulasi berbahan dasar kitosan juga telah dibuktikan dapat meningkatkan maturasi dendritic cell (DC), serta meningkatkan titer antibodi IgG (Sui *et al*. 2010). Kitosan dan turunannya dapat digunakan sebagai bahan

pembantu nanopartikel herbal yang diformulasikan Bersama sehingga memiliki kemampuan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dan pelepasan obat 74 x lebih tinggi, termasuk pemberian vaksinasi didalamnya (Dewandari *et.al., 2013).* Selain itu senyawa quercetin yang dijadikan adjuvant nanopartikel juga dapat meningkatkan aktioksidan pelepasan obat 74xlebih tinggi (Zhang, 2007).

**Tabel 4.** Jumlah sel leukosit pada ikan nila

| | Dosis | Sebelum Perlakuan (Awal) | Setelah Perlakuan (Akhir) | Analisa Jumlah Sel Leukosit |
|---|---|---|---|---|
| A | Ikan Sehat tanpa terapi | 2,21 x $10^5$ sel/$mm^3$ | 2.58x $10^5$ sel/$mm^3$ | 2,54 ± 0,36 $^c$ |
| B | *A. hydrophilla*+ Nano IC50 | 2.35 x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3,34x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3,33 ± 0,15 $^e$ |
| C | *A. hydrophilla*+ Nano 2IC50 | 2.34 x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3.59x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3,58 ± 0,15 $^f$ |
| D | *A.hydrophilla*+ EksIC50 | 2,41 x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3,12x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3,11 ± 0,10 $^d$ |
| E | *A. hydrophilla*+ Eks2IC50 | 2,29 x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3,30x $10^5$ sel/$mm^3$ | 3,29 ± 0,10 $^e$ |
| F | Infeksi *A.hydrophilla* | 2,17x $10^5$ sel/$mm^3$ | 2,20 x $10^5$ sel/$mm^3$ | 2,14 ± 0,49 $^a$ |
| G | Pemberian Nanopartikel ekstrak (IC50) | 2,22x $10^5$ sel/$mm^3$ | 2,46 x $10^5$ sel/$mm^3$ | 2,45 ± 0,10 $^b$ |

**Differensial Sel Leukosit**

Dalam hal ini peningkatan total leukosit akibat pemberian imunostimulan, secara tidak langsung dapat meningkatkan respon imun alami yang ditandai dengan peningkatan sel fagosit berupa monosit dan limfosit. Sel-sel fagosit tersebut memiliki hubungan korelasi terhadap uji titer antibodi yang telah dilakukan, yaitu sel fagosit berfungsi sebagai pengenalan antigen atau vaksin yang diberikan pada tubuh ikan. Dengan demikian sel fagosit yaitu limfosit dapat mengenali antigen, dan dapat merangsang sel memori, dan sel B untuk menghasilkan antibodi, yang peningkatannya terlihat pada reaksi aglutinasi dengan uji titer antibodi. Antibodi tidak saja meningkatkan pertahanan humoral tetapi juga pertahanan seluler sehingga hasil kerja masing-masing maupun hasil kerja antara pertahanan humoral dan seluler meningkat (Soeripto, 2002).

Leukosit dibagi atas 2 (dua) kelompok yaitu granulosit (neutrofil, eosinofil dan basofil) dan agranulosit (monosit dan limfosit).Berdasarkan hasil pemeriksaan diferensial sel leukosit didapatkan hasil bahwa terdeteksi sel limfosit dan neutrophil serta monosit. Bentuk dari ketiga sel ini berbeda sehingga dapat diidentifikasi berdasarkan morfologinya. Sel monosit merupakan sel leukosit yang paling besar dan berfungsi untuk mencerna sel sel yang rusak serta membantu sistem kekebalan tubuh. Monosit dalam melaksanakan fungsi sistem imun berperan sebagai macrophage yakni menelan dan menghancurkan sel, mikroorganisme dan benda asing yang bersifat pathogen (Moenek *et.al.,* 2024).

**Tabel 5.** Persentase diferensial (%) sel leukosit ikan (uji dengan *Aeromonas hydrophilla* strain *A-49140*

| Perlakuan | Limfosit | Neutrofil | Monosit | Basofil | Eosinofil |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 10 | 0 | 7 | 0 | 5 |
| B | 42 | 0 | 11 | 0 | 10 |
| C | 63 | 0 | 19 | 0 | 15 |
| D | 21 | 0 | 10 | 0 | 6 |
| E | 37 | 0 | 13 | 0 | 8 |
| F | 6 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| G | 11 | 0 | 6 | 0 | 3 |

Neutrofil akan meningkat (neutrofilia) sebagai respon terhadap inflamasi atau infeksi. Sel limfosit terdiri dari sel T dan sel B, dimana sel ini sangat berperan pada kekebalan tubuh spesifik. Sel B plasma merupakan sel yang menghasilkan antibodi. Sedangkan sel neutrophil berperan dalam fagosit (merespon secara langsung antigen yang masuk kedalam tubuh) (Prakoeswa Flora, R, 2020). Sel leukosit yang diproduksi akan tinggi jika terdapat infeksi pada tubuh ikan. Peningkatan jumlah leukosit ini terkait dengan kinerja sistem imun ikan dalam mereduksi antigen yang masuk. Semakin meningkatnya serangan pathogen atau antigen yang masuk maka akan semakin meningkat pula produksi leukosit dalam darah. Respon ikan terhadap stresor bergantung pada jenis stres yang dialami oleh ikan tersebut, dimana peningkatan jumlah sel darah putih, penurunan kadar hematokrit dan peningkatan neutrofil bergantung pada jenis *stress* yang dialami (Martin *et al.,* 2004).

**Tabel 5** menunjukkan bahwa limfosit paling tinggi adalah pada ikan perlakuan C, dimana hal ini berhubungan dengan fungsi sel limfosit yang terdiri dari sel B dan sel T sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa antibody terbesar yang terbentuk ada pada ikan C karena antibody dihasilkan oleh sel B plasma. Respon sistem imun dalam menghasilkan antibody saat ada paparan patogen seperti *A.hydrophilla* menunjukkan bahwa tubuh ikan dalam kondisi yang memiliki sistem imunitas baik , hal ini disebabkan ikan C diberi terapi imunostimulan nanopartikel campuran bawang putih dan daun Ketapang dengan dosis 2IC50. Sedangkan nilai limfosit terendah adalah pada ikan F yaitu ikan yang tidak diterapi oleh imunostimulan apapun namun terinfeksi patogen bakteri *A. hydrophilla. (*Prakoeswa Flora, R, 2020)

**Tabel 5** menunjukkan bahwa monosit paling tinggi adalah pada ikan perlakuan C, dimana hal ini berhubungan dengan regenerasi sel dikarenakan fungsi sel monosit untuk membantu mencerna sel sel yang rusak serta membantu sistem kekebalan tubuh. Peran monosit sebagai macrophage yakni menelan dan menghancurkan sel, mikroorganisme dan benda asing yang bersifat pathogen (Moenek *et.al.,* 2024). Jumlah monosit yang tinggi juga disebabkan karena ikan C diberi terapi imunostimulan nanopartikel campuran bawang putih dan daun Ketapang dengan dosis 2IC50. Sedangkan nilai monosit terendah adalah pada ikan F yaitu ikan yang tidak diterapi oleh imunostimulan apapun namun terinfeksi patogen bakteri *A. hydrophilla.* Berikut adalah gambar mikroskopis dari differensial sel leukosit.

## KESIMPULAN

Berdasarkan formulasi nanopartikel yang telah dilakukan mendapatkan ukuran sebesar 6,57 nm, kemudian diaplikasikan secara intraperitoneal pada ikan nila yang sudah diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophilla* strain A-49140 dengan dosis paling efektif berdasarkan potulat koch yaitu 6 x $10^8$ CFU/mL, hingga ikan pengalami aeromoniasis. Hasil pengujian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa setiap perlakuan memiliki perbedaan nyata terhadap jumlah leukosit. imunitas19% monosit dan 15% eosinofil. Hasil jumlah leukosit yang paling sedikit adalah pada ikan F dengan jumlah sel leukosit 2,20 x $10^5$ sel/$mm^3$ dengan persentase 6% limfosit, 1% monosit dan 1% eosinofil, hal ini dikarenakan ikan F hanya diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophilla* strain A-49140 tanpa diberikan terapi apapun.

## ACKNOWLEDGMENT

Terima kasih disampaikan kepada Kepala Laboratorium Patologi, Laboratorium Kualitas Air dan Tanah dan Laboratorium Biologi Lingkungan serta Direktur Politeknik Kelautan dan Perikanan Sidoarjo yang telah membantu memfasilitasi penelitian ini. Penelitian ini didanai dari DIPA Politeknik Kelautan dan Perikanan Sidoarjo Tahun Anggaran 2025.

## DAFTAR PUSTAKA

Astria, Q., Nuryati, S., Nirmala, K., &Alimuddin, A. (2017). Effectiveness of ambon banana stem juice as an immunostimulatory against *Aeromonas hydrophila* infections in catfish *Clarias gariepinus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia,*16(2), 154-163.

Azhar, F., Muhammad, J., Alis, M., Andre, R.S. 2020. Penanggulangan penyakit mas (motile *Aeromonas septicemia*) pada ikan nila menggunakan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorriza* R.). *Jurnal Abdi Insani Universitas Mataram*. Vol.7 (3), 320-324. DOI:http://doi.org/10.29303/abdiinsani.v7i3.282

Bahariyanto.D.R, Pieter.A, Rifqah. P.2025. Uji Makroskopik dan biokimia terhadap *Aeromonas hydrophila* sebagai upaya diagnostik bakteri

Pada Ikan Nila *Oreochromis niloticus.* Jurnal Megaptera Vol. 4 (1) Mei 2025: 21-32. *DOI: http://dx.doi.org/10.15578/jmtr.v4i1.15576*

Bukasiang, S., Manoppo, H., Lantu, S., Nego E. Bataragoa, Lumenta, C., Kreckhoff, RL. 2019. The potential of catappa leave to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in nile tilapia *Oreochromis niloticus*.*Jurnal Ilmiah Platax*. Vol.7 (2): 341-346. http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

[BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2022. *Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In Vivo*. https://peraturan.bpk.go.id/Home/Dtails/223969/ peraturan-bpom-no-10 tahun-2022.

Dewandari, K.T., Yuliani, S. dan Yasni, S. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi nanopartikel ekstrak sirih merah. *Jurnal Pascapanen*.Vol 10 (2). Halaman 58-65.

Dewi, T., Alifah, I., Bhayangkara, T.P., Jason, G..J..2016. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada daun tanjung (*Mimusops elengi* L), *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan*" pp. 1–7

Dongjo, K., Sunho, Jooho, M., 2006. *Sinthesis of Silver Nanoparticles using the polyol process and the influence of precursor injection nanotechnology*.17: 4019 – 4024. doi: 10.1088/0957 – 4484 /17/16/004

Erguig, M., Yahyaoui, A., Fekhaoui, M., & Dakki, M. 2015. The use of garlic in aquaqulture. *European Journal of Biotechnology and Bioscience* 3(8): Halaman 28-33.

Fitriyanti, P. D., Desrina, D., & Prayitno, S. B. (2020). Pengaruh perendaman kombinasi ekstrak daun binahong dan bawang putih pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi *aeromonas hydrophila*. *Sains Akuakultur Tropis*, *4*(1), 61–67. https://doi.org/10.14710/sat.v4i1.6912

Huriawati. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta.EGC.

Immanuel, G., Vincybai, V. C., Sivaram, V., Palavesam, A., & Marian, M. P. (2018). Effects of dietary medicinal plants on hematology, serum biochemistry, and survival of shrimp challenged with Vibrio harveyi. *Journal of Aquaculture International*, 16(2), 167-181.

Kadek, H.D., Ronny,M., Nugraha, D., E., Sarah,M.S., Hamindar, P., 2017. Pemanfaatan nano ekstrak etanolik kombinasi meniran (*Phyllanthus Niruri* L.) dan bawang putih (*Allium Sativum* L.) sebagai immunomodulator alami dalam pengembangan nanoherbal, studi in silico dan in vitro. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2017, 02, 110- 119

Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. (2025). *Produksi Perikanan Budidaya Tahun* 2022. Diakses dari https://portaldata.kkp.go.id/portals/data-statistik/prod-ikan/tbl-statis/d/13

Lengka, K., Manopo, H., dan Kolopita, M.E.F. 2013. Peningkatan respon imun non spesik ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) melalui pemberian bawang putih *(Allium sativum). Jurnal Budidaya Perairan*. 1(2): 21-28.

Maftuch, F.M., Henny S., Jauharotul A., dan Muhammad A. A. 2020. Effect of giving crude extract of stink bean pod (*Parkia speciosa*) on the hematology of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 9(2): 4933 – 4938.

Meddy, S. 2017. Hubungan antara kejadian asites pada cirrhosis hepamtis dengan komplikasi spontaneous bacterial peritonitis.*Jurnal Saintika Medika*.Vol 7 (15):79-93.
https://doi.org/10.22219/sm.v7i2.4082

Muslikha, M., Pujiyanto, S., Jannah, S.N., & Novita, H. (2016). Isolasi, karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan deteksi gen penyebab penyakit motile *Aeromonas septicemia* (MAS) dengan 16s rRNA dan aerolysin pada ikan lele *Clarias sp*. *Jurnal Biologi*, 5(4), 1-7.

Muahiddah, N., Muhammad, S.2023. pemberian ekstrak daun ketapang untuk meningkatkan imun- non spesifikpada ikan (artikel review). *Jurnal Ganec Swara*.17(4):1325-1329.

Moenek D.Y.J.A, Aven B. O dan Novianti N. Toelle.2024. Total leukosit dan diferensial leukosit darah ayam kampung yang terpapar *Ascaridia galli* secara alami. *Jurnal PARTNER*, Vol. 24 (2), 991 – 997.

Miranti, R.M, Yulianita P. I. Lestari, Nurul F. 2025. Antidiabetic, antioxidant activities and bioactive compound profile of extracts and fractions of tawar seribu root (*Bauhinia purpurea). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. JIFI* 2026; 24(1): 11-16.

Pasaribu, W., Djonu, A. (2021). Kajian pustaka: penggunaan bahan herbal untuk pencegahan dan pengobatan penyakit bakterial ikan air tawar. *Jurnal Bahari Papadak*, *2021*(April), 41–52.

Prakoeswa.F.R.2020. Peranan sel limfosit dalam imunulogi. *Jurnal Sains Kesehatan*.Vol. 2 No. 4.525-537. https://jsk.ff.unmul.ac.id/index.php/JSK/article/view/287

Pratiwi, R., Hidayat, K.W., & Sumitro, S. (2020). Production performance of catfish *Clarias gariepinus* Burchell, 1822 cultured with added probiotic *Bacillus* sp. on biofloc technology. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 9(3), 274- 285.

Qurrota, A., Dinarti,N., Budianto.2021. Potensi ekstrak makroalga watercress sebagai anti bakteri *Aeromonas hydrophila* secara in vitro. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*,5 (4),407414.https://doi.org/10.46252/jsai-fpik-unipa.2021.Vol.5.No.4.193

Rahman, M. S., & Lowe, J. (2020). Garlic (*Allium sativum*) as an Immunostimulant in Aquaculture: A Review. *Journal of Aquatic Animal Health*, 32(3), 197-209.

Ramadhani, D.E., Pratiwi, R., Gultom, N.M., Hakim, R.F., Hapsari, M., Alhaq, S., Widiyanti, I., Agustina, K., Bintoro, A.H., Maulana, R., Hafid, M.E., & Nurrafa, N.W. (2024). Efektivitas bahan kimia dalam mengobati penyakit Motile *Aeromonas Septicemia* pada ikan nila *Oreochromis niloticus*. *Jurnal Megaptera*, 3(1), 15-22.

Rantapina, K. S. 2003. *pengaruh allicin pada bawang putih (Allium sativum L.) terhadap pertubuhan Streptococcus sp.* Fakultas Kedokteran UNS.

Sahoo, P. K., (2016). Current perspectives on the use of immunostimulants and herbal medicines in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 8(1), 57–78.

Seniati, R. M., Syahruddin. 2020. Uji viabilitas bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan metode penyimpanan beku pada media TSB dan gliser.*Jurnal Lutjanus*. Vol 25 (2) :41-48. DOI: 10.51978/jlpp.v25i2.274

Singh, Amritpal, Maholtra, S.,Subban, R. (2008). Antiinflamatory and analgesic agents from indian medicinal plants. *International Journal of Integrative Biology*.Vol.3 (1),

Soeripto. 2002. *Pendekatan Konsep Kesehatan Hewan Melalui Vaksinasi. Bogor*. J. Litbang Pertanian. 21(2): 4855.

Sui Z, Chen Q, Fang F. (2010) Cross-protection against influenza virus infection by intranasal administration of M1-based vaccine with chitosan as an adjuvant. *Vaccine* 28:7690–7698 [PubMed: 20870054]

Sukmawati, Y., Arnisa, P., Paryono, Andre, Rachmat, S., Baiq, N., Sazkina, P.N., Dinda, K.H., Silva, P., M. Junaidi, Salahudin. 2025. Tingkat pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada sistem budidaya bioflok. *Jurnal Pengabdian Perikanan Indonesia*. Vol 5 (3), 80 – 89.

Waluyo, J., & Wahyuni, D. (2017). The effect of ketapang leaf extracts (*Terminalia catappa* L.) on the cholesterol levels of male mice (*Mus musculus* L.) hypercholesterolmia. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, *4*(7), 45–49. https://doi.org/10.22161/ijaers.4.7.8

Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Journal of Medicines*, *2*(3), 251–286. https://doi.org/10.3390/medicines2030251

Yanto, T., Karseno, K., Purnamasari, M.M. 2015. The influence of the type and concentration of sugar on the physicochemical and sensory characteristics of jelly drinks. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian* 8(2): 123 –

Zebua, R. D., Telaumbanua, B. V., Laoli, D., Dawolo, J., Okniel Zebua, O. Z., & Zega, A. (2024). Penggunaan ekstrak bawang putih (Allium sativum) untuk peningkatan respon imun dan pertumbuhan ikan. *Jurnal Penelitian Dan Kajian Ilmu Perikanan Dan Kelautan, 12(2). https://doi.org/10.29406/jr.v12i2.6657*

Zhang S, Du C, Wang Z, Han X, Zhang K, Liu L. Reduced cytotoxicity of silver ions to mammalian cells at high concentration due to the formation of silver chloride. *Toxicol In Vitro*. 2013 Mar;27(2):739-44. doi: 10.1016/j.tiv.2012.12.003. Epub 2012 Dec 12. PMID: 23246472