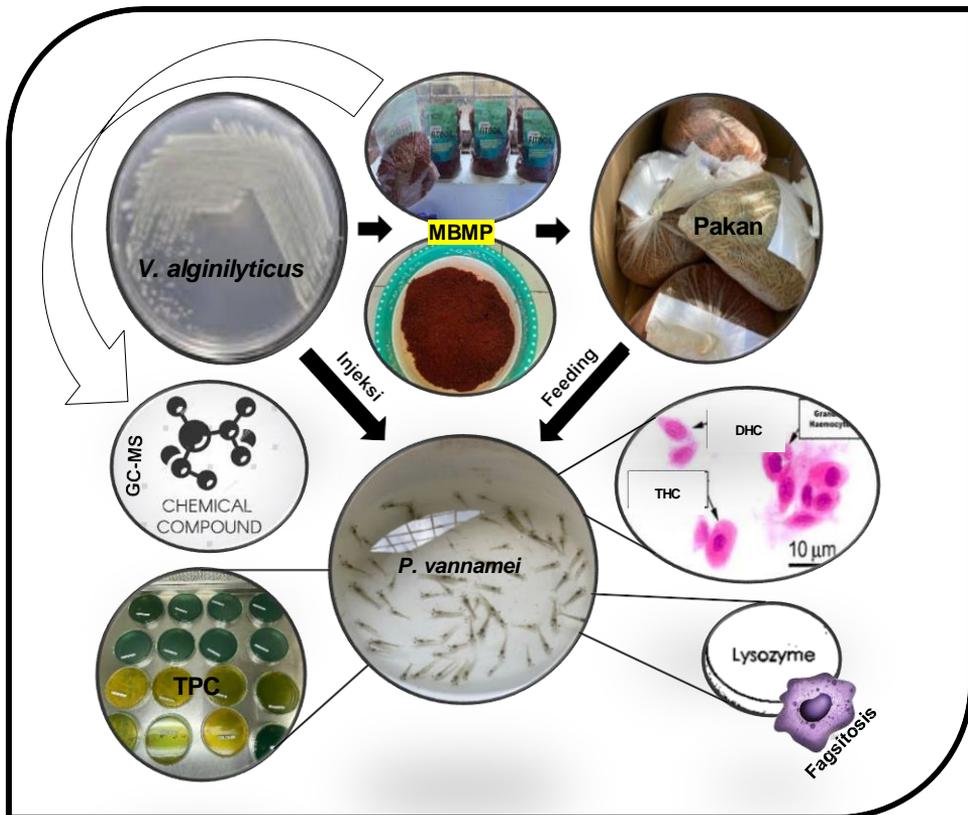


**PENGARUH MINYAK BUAH MERAH PADA PAKAN
DALAM MENINGKATKAN RESPON IMUN UDANG VANAME
Penaeus vannamei YANG DIPAPAR BAKTERI *Vibrio alginolyticus***

**THE EFFECT OF RED FRUIT OIL IN FEED IN IMPROVING THE IMMUNE
RESPONSE OF VANNAMEI SHRIMP *Penaeus vannamei* EXPOSED
TO *Vibrio alginolyticus* BACTERIA**



**NURAFIAH
L012221009**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

i

**PENGARUH MINYAK BUAH MERAH PADA PAKAN
DALAM MENINGKATKAN RESPON IMUN UDANG VANAME
Penaeus vannamei YANG DIPAPAR BAKTERI *Vibrio alginolyticus***

**NURAFIAH
L012221009**



**PROGRAM MAGISTER ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**THE EFFECT OF RED FRUIT OIL IN FEED IN IMPROVING THE IMMUNE
RESPONSE OF VANNAMEI SHRIMP *Penaeus vannamei* EXPOSED TO
Vibrio alginolyticus BACTERIA**

**NURAFIAH
L012221009**



**MAGISTER PROGRAM FISHERIES SCIENCE
FACULTY OF MARINE SCIENCE AND FISHERIES
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH MINYAK BUAH MERAH PADA PAKAN
DALAM MENINGKATKAN RESPON IMUN UDANG VANAME
Penaeus vannamei YANG DIPAPAR BAKTERI *Vibrio alginolyticus***

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu Perikanan

Disusun dan diajukan oleh

NURAFIAH
L012221009

Kepada

**PROGRAM MAGISTER ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

**PENGARUH MINYAK BUAH MERAH PADA PAKAN DALAM
MENINGKATKAN RESPON IMUN UDANG VANAME *Penaeus vannamei*
YANG DIPAPAR BAKTERI *Vibrio alginolyticus***

NURAFIAH
L012221009

Telah dipertahankan di hadapan panitia ujian pada tanggal, 4 September 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

pada

Program Studi Magister Ilmu Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan
Universitas Hasanuddin Makassar

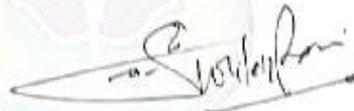
Mengesahkan,

Pembimbing Utama,



Dr. Marlina Achmad, S.Pi., M.Si.
NIP 198304062005012002

Pembimbing Pendamping,



Dr. Ir. Sriwulan, M.P.
NIP 196606301991032002

Ketua Program Studi Magister
Ilmu Perikanan,



Dr. Ir. Badraeni, M.P.
NIP 196510231991032001

Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan
Universitas Hasanuddin,



Prof. Safrudin, S.Pi., M.P., Ph.D. NIP
19750612003121003

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Pengaruh Minyak Buah Merah Pada Pakan Dalam Meningkatkan Respon Imun Udang Vaname *Penaeus vannamei* Yang Dipapar Bakteri *Vibrio alginolyticus* " adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Dr. Marina Achmad, S.Pi., M.Si dan Dr. Ir. Sriwulan, MP). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini sedang dalam proses publikasi di Jurnal FAS (Fisheries and Aquatic Sciences) sebagai artikel. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin

Makassar, 4 September 2024



Nurafiah
L012221009

PERNYATAAN KEPEMILIKIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurafiah
NIM : L012221009
Program Studi : Ilmu Perikanan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

menyatakan bahwa publikasi sebagian atau keseluruhan isi tesis pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin dan menyertakan tim pembimbing sebagai pemilik tulisan (*author*) dan Universitas Hasanuddin sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya dua semester (satu tahun sejak pengesahan tesis) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan tesis ini, maka pembimbing sebagai salah seorang dari penulis berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian, sepanjang nama mahasiswa tetap diikuti.

Makassar, 4 September 2024

Penulis,



Nurafiah
NIM. L012221009

UCAPATAN TERIMA KASIH

Penelitian dan penulisan tesis ini terlaksana dengan baik berkat bantuan, bimbingan, dan arahan dari Dr. Marlina Achmad, S.Pi., M.Si. selaku pembimbing utama dan Dr. Ir. Sriwulan, M.P selaku pembimbing kedua. Tidak lupa saya ucapkan terima kasih kepada para dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun yaitu Dr. Andi Aliah Hidayani, S.Si., M.Si., Prof. Dr. Ir. Rajuddin Syam, M.Sc., dan Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M. Sc.

Saya turut mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf dan civitas akademik fakultas ilmu kelautan dan perikanan UNHAS serta seluruh dosen yang berkontribusi selama saya menempuh pendidikan di program studi magister Ilmu perikanan.

Terkhusus dan mendalam saya ucapkan terima kasih kepada kedua orang tua saya ayahanda H. Chaerul dan Ibunda Hj. Muliana yang tidak henti-hentinya memanjatkan doa, memberikan dukungan, dan bantuan kepada penulis.

Penulis



Nurafiah

ABSTRAK

NURAFIAH. Pengaruh minyak buah merah pada pakan dalam meningkatkan respon imun udang vaname *Penaeus vannamei* yang dipapar bakteri *Vibrio alginolyticus* (dibimbing oleh Marlina Achmad dan Sriwulan).

Latar belakang. Buah merah papua (BMP) (*Pandanus conoideus* Lam) diketahui mengandung senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan mengaktifkan sel T dan makrofag. Namun, informasi mengenai pengaruh tanaman terhadap kekebalan spesies akuatik masih terbatas. **Tujuan.** Untuk menganalisis pengaruh pakan yang diformulasikan dengan Minyak Buah Merah Papua (MBMP) terhadap respon imun udang *Penaeus vannamei* dan menentukan dosis terbaik. **Metode.** Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 4 perlakuan yang diulang masing-masing sebanyak 3 kali dengan menggunakan MBMP 0%, 5%, 10%, dan 15%. Pakan diberikan ke udang vaname *Penaeus vannamei* selama 60 hari dengan pemeliharaan pada kondisi tertentu, dilanjutkan dengan penyuntikan bakteri *V. alginolyticus*. Parameter yang diamati seperti total hemocyte count (THC), differential hemocyte count (DHC), aktifitas lisozim (AL), dan aktifitas fagositosis (AF). **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa MBMP pada pakan mampu menstimulasi aktivitas imun udang vaname *Penaeus vannamei*. Selain itu, terjadi peningkatan DHC, AF, dan AL terutama pada dosis MBMP 15%. **Kesimpulan.** Penelitian menyimpulkan MBMP berpotensi sebagai imunomodulator dan dosis 15% mampu meningkatkan respon imun *P. vannamei*.

Kata kunci: Minyak buah merah Papua; pakan buatan; respon imun; udang vaname; *Vibrio alginolyticus*

ABSTRACT

NURAFIAH. **The effect of red fruit oil in feed in improving the immune response of vannamei shrimp *Penaeus vannamei* exposed to *Vibrio alginolyticus* bacteria** (supervised by Marlina Achmad and Sriwulan).

Introduction. Papua red fruit (PRF) (*Pandanus conoideus* Lam) is known to contain bioactive compounds that can boost the immune system by activating T cells and macrophages. However, information on the effect of plants on the immunity of aquatic species is still limited. **Objective.** To analyze the effect of feed formulated with Papua Red Fruit Oil (PRFO) on the immune response of *Penaeus vannamei* shrimp and determine the best dosage. **Method.** This study used an experimental research method with a completely randomized design (CRD) consisting of 4 treatments repeated 3 times each using MBMP 0%, 5%, 10%, and 15%. The feed was given to *Penaeus vannamei* white shrimp for 60 days with maintenance under certain conditions, followed by injection of *V. alginolyticus* bacteria. The parameters observed such as total hemocyte count (THC), differential hemocyte count (DHC), lysozyme activity (LA), and phagocytosis activity (PA) were assessed. **Results.** The results showed that MBMP in feed was able to stimulate the immune activity of whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. In addition, there was an increase in DHC, PA, and LA especially at a dose of 15% MBMP. **Conclusion.** The study concluded that MBMP has the potential as an immunomodulator and a dose of 15% is able to increase the immune response of *P. vannamei*.

Keywords: Artificial feed; immune response; Papuan red fruit oil; vannamei shrimp; *Vibrio alginolyticus*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	v
PERNYATAAN KEPEMILIKIAN TULISAN.....	vi
UCAPATAN TERIMA KASIH.....	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ISTILAH.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Kegunaan.....	3
1.4 Teori	3
1.4.1 Udang Vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	3
1.4.2 Klasifikasi dan Morfologi Udang Vaname.....	3
1.4.3 Habitat dan Siklus Hidup Udang Vaname	4
1.4.4 Pakan dan Kebiasaan Makan Udang Vaname.....	5
1.4.5 Sistem Pertahanan Tubuh Udang Vaname.....	6
1.4.6 Klasifikasi dan Morfologi <i>V. alginolyticus</i>	7
1.4.7 Habitat dan Penyebaran <i>V. alginolyticus</i>	8
1.4.8 Bakteri <i>V. alginolyticus</i> pada Udang Vaname	8
1.4.9 Buah Merah.....	9
1.4.10 Kualitas air	11
1.4.11 Hipotesis	12
1.5 Kerangka Pikir Penelitian.....	12
BAB II. METODE PENELITIAN	13
2.1 Waktu dan Tempat.....	13
2.2 Prosedur Penelitian	13
2.2.1 Persiapan Wadah Pemeliharaan.....	13
2.2.2 Persiapan Hewan Uji dan Aklimatisasi.....	13
2.2.3 Persiapan Minyak Buah Merah dan Pakan Uji.....	13
2.2.4 Persiapan Bakteri <i>V. alginolyticus</i> dan Injeksi	14
2.2.5 Pemeliharaan dan Pengamatan	14
2.2.6 Rancangan Percobaan	15
2.3 Parameter yang Diamati.....	15
2.3.1 Uji GC-MS	15
2.3.2 Total Hemocyte Count (THC).....	15

2.3.3 Differential Hemocyte Count (DHC)	16
2.3.4 Aktivitas Fagositosis	16
2.3.5 Aktivitas Lisozim	16
2.3.6 Perhitungan Total Koloni Bakteri	17
2.3.7 Pengukuran Kualitas Air	17
2.4 Analisis Data	17
BAB III. HASIL	18
3.1 Total Hemocyte Count (THC)	18
3.2 Differential Hemocyte Count (DHC)	18
3.3 Aktivitas Fagositosis	19
3.4 Aktivitas Lisozim	19
3.5 Total Koloni Bakteri	20
3.6 Kualitas Air	20
3.7 Uji GC-MS Minyak Buah Merah	21
BAB IV. PEMBAHASAN	23
4.1 Total Hemocyte Count (THC)	23
4.2 Differential Hemocyte Count (DHC)	23
4.3 Aktifitas Fagositosis	25
4.4 Aktivitas Lisozim	26
4.5 Total Koloni Bakteri	27
4.6 Kualitas Air	28
4.7 Uji GC-MS Minyak Buah Merah	29
BAB V. PENUTUP	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Formulasi bahan baku pakan	14
2. Total hemocyte count (THC)	18
3. Differential hemocyte count udang vaname sebelum uji tantang	18
4. Differential hemocyte udang vaname count setelah uji tantang	19
5. Aktivitas fagositosis udang vaname setelah uji tantang	19
6. Aktivitas Lisozim udang vaname setelah uji tantang.....	19
7. Total koloni bakteri pada hepatopankreas udang vaname	20
8. Kualitas air rata-rata pada media pemeliharaan selama penelitian.....	20
9. Kandungan senyawa minyak buah merah hasil uji GC-MS	21

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Udang vaname	4
2. Siklus hidup udang.....	5
3. Gejala klinis udang vaname pasca infeksi <i>V. alginolyticus</i>	9
4. Kerangka pikir penelitian.....	12
5. Hasil klimatogram GC-MS.....	21

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	42
2. Hasil Statistik Total Hemocyte Count Awal	45
3. Hasil Statistik Total Hemocyte Count Akhir	47
4. Hasil Statistik Granular Awal	50
5. Hasil Statistik Granular Akhir	52
6. Hasil Statistik Semigranular Awal	55
7. Hasil Statistik Semigranular Akhir	57
8. Hasil Statistik Hialin Awal	60
9. Hasil Statistik Hialin Akhir	62
10. Hasil Statistik Fagositosis Awal	64
11. Hasil Statistik Fagositosis Akhir	67
12. Hasil Statistik Aktifiitas Lisozim Awal	69
13. Hasil Statistik Aktifiitas Lisozim Akhir	71
14. Total Koloni Bakteri	73
15. Data Kualitas Air	74
16. Kandungan senyawa minyak buah merah	75
17. <i>Curriculum Vitae</i>	77

DAFTAR ISTILAH

Istilah	Arti dan Penjelasan
Imunostimulan	Zat yang mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh
Immune system	Kemampuan tubuh mempertahankan diri dari berbagai benda asing (patoge) yang masuk kedalam tubuh
Imunomodulator	Senyawa yang mampu mengubah aktivitas sistem imun tubuh melalui dinamisasi regulasi sel-sel imun
Fagositosis	Proses sel menelan partikel menggunakan membran plasma, sehingga menimbulkan kompartemen internal yang disebut fagosom.
Fagosom	Organel sel fagosit yang menyerupai vakuola
Hemosit	Salah satu sistem pertahanan tubuh pada udang

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu komoditas penting yang dibudidayakan sampai saat ini adalah udang vaname. Karakteristik yang dimiliki udang spesies ini menjadi alasan dapat dijadikan salah satu kultivan unggulan budidaya (Manopo, 2011). Udang vaname (*Penaeus vannamei*) memiliki banyak keunggulan, diantaranya relatif tahan terhadap penyakit dan lebih toleran terhadap perubahan lingkungan (Rakhfid et al., 2017). Permintaan ekspor udang Indonesia mengalami penurunan karena tidak memenuhi standar mutu negara konsumen, diantaranya bebas bakteri patogen, antibiotik, dan pengawet. Oleh karena itu diperlukan suatu sistem budidaya yang bisa memenuhi standar tersebut. Permasalahan penyakit udang menjadi pemicu penurunan produksi yang berujung penurunan ekspor. Data ekspor tahun 2022 tercatat 240,000 ton sedangkan pada tahun 2021 tercatat 250.700 ton (KKP, 2022). Kegiatan budidaya udang vaname di Indonesia masih dihadapkan pada permasalahan penyakit yang turut mempengaruhi produksinya. Salah satu kendala yang sering dihadapi dalam budidaya udang maupun ikan lainnya adalah serangan penyakit bakterial. Salah satu jenis bakteri yang menimbulkan penyakit pada budidaya udang dan ikan adalah bakteri *Vibrio sp*, penyakitnya disebut dengan vibriosis. Menurut (Harlina, 2018), bakteri jenis vibriosis merupakan bakteri yang berpotensi sebagai pathogen bagi udang. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri genus *Vibrio* seperti *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. penaeicida* (Asplund, 2013).

Bakteri *V. alginolyticus* merupakan penyebab penyakit bakterial yang sering menimbulkan masalah pada larva udang vaname yang disebut penyakit bakteri menyal. Larva yang terinfeksi terlihat bercahaya pada kondisi gelap. Menurut Kharisma & Manan (2012) menyatakan bahwa kondisi parameter fisika dan kimia dari media pemeliharaan yang tidak baik dan stress yang dialami udang dapat menyebabkan peningkatan jumlah bakteri *Vibrio sp* dan mudahnya penyakit vibriosis menyerang udang. Infeksi penyakit menjadi satu penyebab utama kegagalan produksi udang vaname (Putri et al., 2013). Sebagai contoh, pada tahun 2014 Kematian massal larva udang galah karena vibriosis berpendar terjadi di Balai Pengembangan Teknologi Kelautan dan Perikanan (BPTKP) Jogjakarta sehingga produksi menurun drastis hingga 40% dari kondisi normal. Semakin meningkatnya intensitas penyakit pada budidaya udang maka upaya pembentukan populasi yang lebih resisten terhadap penyakit, khususnya vibriosis menjadi penting untuk dilakukan (Khasani et al., 2015).

Budidaya udang vaname yang telah terinfeksi bakteri tidak dapat disembuhkan sehingga cara yang dapat dilakukan adalah pencegahan sebelum terjadi infeksi. Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya infeksi adalah peningkatan sistem pertahanan pada udang. Salah satu upaya untuk meningkatkan ketahanan tubuh udang adalah dengan penggunaan imunostimulan.

Imunostimulan adalah senyawa alami yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan resistensi inang terhadap penyakit yang disebabkan oleh patogen sehingga dapat menjadi pencegahan yang ampuh untuk mengendalikan penyakit ikan dan udang dengan cara perendaman, injeksi dan pemberian pakan (Declarador et al., 2014). Tujuan pemberian imunostimulan untuk mengaktifkan system imun non spesifik sel seperti hemosit pada avertebrata. Dalam pemberian imunostimulan harus diperhatikan dosis pemberian optimal, dimana dosis aplikasi pemberian immunostimulan merupakan faktor yang mempengaruhi peningkatan respon imun pada udang (Ismawati et al., 2020).

Selama ini penggunaan antibiotik oleh pembudidaya udang marak dilakukan dan memberikan dampak serius bagi konsumen dan lingkungan (Pawestri et al., 2019). Pemakaian antibiotik dapat mencemari perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi menurun. Dampak lain dari antibiotik sintesis adalah menimbulkan toksik dan peningkatan resistensi bakteri patogen serta bersifat residu bagi tubuh konsumen (Helmi et al., 2020). Hal ini juga berimbas pada penolakan produk hasil perikanan yang diduga masih menggunakan antibiotik. Untuk itu, perlu adanya bahan alami yang dapat menggantikan fungsi antibiotik secara efektif dan efisien (Natasya et al., 2022).

Penggunaan beberapa jenis fitooil untuk mencegah bakteri *Vibrio* telah dilakukan oleh Hamzah et al. (2021) dengan hasil terbaik ditemukan pada minyak sawit atau *crude palm oil* (CPO). Selain itu, minyak cengkeh diuji kemampuannya untuk menghambat vibrio pada udang vaname oleh Syarif (2013). Hasilnya menunjukkan tingkat kelulushidupan mencapai 72% dan berbeda signifikan dengan perlakuan tanpa minyak cengkeh. Kandungan senyawa fenol berupa eugenol pada minyak cengkeh membantu menekan pertumbuhan jamur dan berbagai bakteri patogen termasuk vibrio (Asman et al., 1997). Rahayu (2000) menambahkan bahwa eugenol termasuk alkohol yang bersifat asam lemah sehingga mampu terionisasi dan melepaskan H⁺ serta meninggalkan gugus bermuatan negatif. Hal tersebut berkonsekuensi pada kemampuan menghambat serangan bakteri patogen. Lebih lanjut dilaporkan minyak atsiri pada tumbuhan mangrove *Rhizophora apiculata* menunjukkan respon antibakteri (Jithesh et al., 2006; Ravikumar, 2014), khususnya bakteri *Vibrio* (Hitijahubessy dan Irmawati, 2023).

Penggunaan minyak buah merah sebagai antibakteri merupakan suatu cara alternatif yang perlu dikaji dan diuji lebih lanjut untuk mengetahui seberapa besar pengaruh ekstrak buah merah terhadap bakteri *V. alginolyticus*. Penambahan minyak buah merah tanpa menimbulkan resiko yang berbahaya pada udang seperti peningkatan respon imun belum diketahui, atau bagaimana pemberian yang efektif yang dapat mengoptimalkan jumlah hemosit. Berdasarkan uraian tersebut sangat penting untuk melakukan penelitian terkait buah merah sebagai antibakteri *Vibrio sp.* Untuk solusi dalam meningkatkan sistem ketahanan pada budidaya udang vaname sehingga dapat meningkatkan produksi budidaya udang vaname di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah penelitian ini yaitu:

1. Apa kandungan dari minyak buah merah?
2. Pada dosis berapa minyak buah merah yang diformulasikan dengan pakan buatan yang mampu meningkatkan respon imun udang vaname yang terpapar bakteri *V. alginolyticus*?

1.3 Tujuan dan Kegunaan

Adapun tujuan dan kegunaan penelitian ini untuk:

1. Untuk mengevaluasi senyawa yang terkandung dalam minyak buah merah.
2. Untuk menentukan dosis yang tepat dari minyak buah merah yang diformulasikan dengan pakan buatan yang mampu meningkatkan respon imun udang vaname yang terpapar bakteri *V. alginolyticus*.

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai sumber acuan untuk penggunaan minyak buah merah yang diformulasikan dengan pakan buatan untuk udang vaname yang terpapar penyakit bakteri *Vibrio alginolyticus* dan dapat digunakan sebagai sumber referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.4 Teori

1.4.1 Udang Vaname (*Penaeus vannamei*)

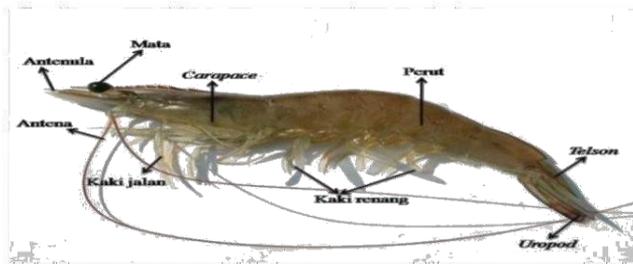
Udang vaname (*Penaeus vannamei*) (Gambar 1) adalah salah satu sumber daya hayati laut dengan sebarannya yang sangat luas serta banyak dibudidayakan baik secara tradisional, semi intensif maupun intensif oleh petani udang di pertambakan. Indonesia adalah salah satu dari sepuluh kelompok besar negara produsen udang dunia. Udang menjadi komoditas penting dengan volume produksi nasional sebanyak 886.520 ton. Tuntutan permintaan produksi udang vaname baik dalam negeri sampai luar negeri sehingga dilakukan perkembangan budidaya dari teknologi sederhana sampai dengan intensif. Udang Vanname merupakan menjadi komoditi yang banyak diminati karena pertumbuhan cepat, tahan penyakit, padat tebar tinggi, tahap terhadap lingkungan yang berubah-ubah, dan sintasan tinggi (Rahim et al., 2020).

1.4.2 Klasifikasi dan Morfologi Udang Vaname

Menurut Dugassa & Gaetan (2018), udang vaname (Gambar 1) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Phylum : Arthropoda
 Subphylum: Crustacea
 Class : Malacostraca
 Subclass : Eumalacostraca
 Order : Decapoda
 Suborder : Dendrobranchiata
 Family : Penaeidae

Genus : *Penaeus*
 Species : *Penaeus vannamei*



Gambar 1. Udang vaname (Suri, 2017).

Udang vaname memiliki bentuk tubuh yang dibagi menjadi 2 bagian yaitu bagian kepala yang menyatu hingga bagian dada (*Cephalothorax*) dan bagian tubuh yang mencapai hingga ekor udang (*Abdomen*) (Suri, 2017). *Cephalothorax* udang vaname terdiri dari *antenna antermulae*, *mandibula*, dan dua pasang *maxillae*. Kepala ditutupi oleh cangkang yang memiliki ujung runcing dan bergigi yang disebut rostrum. Kepala udang juga dilengkapi dengan tiga pasang maxilliped dan lima pasang kaki jalan (*periopod*). *Maxilliped* berfungsi sebagai organ untuk makan. Untuk bagian abdomen terdiri atas 6 ruas, terdapat 5 pasang kaki renang pada ruas pertama sampai kelima dan sepasang ekor kipas (*uropoda*) dan ujung ekor (*telson*) pada ruas yang keenam. Dibawah pangkal ujung ekor terdapat lubang dubur (anus) (Fernando, 2016).

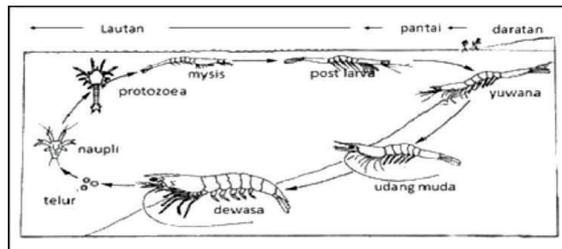
Warna tubuh udang vaname ini adalah putih transparan dengan warna biru yang terdapat dekat dengan bagian telson dan uropoda. Alat kelamin udang betina disebut *thelycum* yang terletak diantara kaki jalan ke-4 dan ke-5, sedangkan pada udang jantan disebut petasma terletak diantara kaki jalan ke-5 dan kaki renang pertama. Pada betina dewasa mempunyai *thelycum* terbuka dan hal ini adalah salah satu perbedaan yang paling mencolok pada udang vaname betina. Pada jantan dewasa petasma adalah simetris, semi open, dan tidak bertudung. Bentuk dari *spermatophore*-nya sangat kompleks, terdiri dari berbagai struktur gumpalan sperma yang *encapsulated* oleh suatu pelindung (bercabang dan terbungkus) (Panjaitan, 2012).

1.4.3 Habitat dan Siklus Hidup Udang Vaname

Habitat alami udang vaname hidup pada kedalaman kurang lebih 70 meter. Udang vaname bersifat nocturnal, yaitu aktif mencari makan pada malam hari. Proses perkawinan pada udang vaname ditandai dengan loncatan betina secara tiba-tiba. Pada saat meloncat tersebut, betina mengeluarkan sel-sel telur. Pada saat yang bersamaan, udang jantan mengeluarkan sperma, sehingga sel telur dan sperma bertemu. Proses perkawinan berlangsung kira-kira satu menit. Sepasang udang vaname berukuran 30-45 gram dapat menghasilkan telur sebanyak 100.000-250.000 butir (Lama et al., 2020).

Adapun siklus hidup udang vaname (Gambar 2) sebelum ditebar di tambak yaitu stadia naupli, stadia zoea, stadia mysis, dan stadia post larva. Pada stadia

naupli larva berukuran 0.32-0.59 mm, sistim pencernaanya belum sempurna dan masih memiliki cadangan makanan berupa kuning telur. Stadia zoea terjadi setelah larva ditebar pada bak pemeliharaan sekitar 15-24 jam. Larva sudah berukuran 1.05-3.30 mm dan pada stadia ini benur mengalami 3 kali moulting. Pada stadia ini pula benur sudah bisa diberi makan yang berupa artemia. Stadia mysis, benur udang sudah menyerupai bentuk udang. Yang sudah terlihatnya ekor kipas (uropoda) dan ekor (telson). Selanjutnya udang mencapai stadia post larva, dimana udang sudah menyerupai udang dewasa. Hitungan stadianya sudah menggunakan hitungan hari. Misalnya, PL1 berarti post larva berumur satu hari. Pada stadia ini udang sudah mulai bergerak aktif (Lama et al, 2020).



Gambar 2. Siklus hidup udang (Wyban & Sweeney, 1991)

1.4.4 Pakan dan Kebiasaan Makan Udang Vaname

Berdasarkan jenis makanannya udang vaname tergolong kedalam kelompok omnivora (pemakan semua jenis makanan). udang vaname di habitat aslinya memakan krustasea kecil, amphipoda, cocepoda, larva kerang, lumut, dan polychaeta. Udang vaname tidak makan sepanjang hari melainkan hanya makan pada waktu-waktu tertentu dalam sehari. Nafsu makan udang sangat dipengaruhi oleh kondisi udang itu sendiri serta kondisi lingkungannya. Udang akan mendeteksi pakan dengan sinyal kimiawi, bergerak menuju sumber pakan jika pakan mengandung senyawa organik dan pakan akan langsung dijepit dengan menggunakan capit kaki jalan kemudian dimasukkan langsung ke dalam mulut dan udang akan berhenti makan apabila telah merasa kenyang (Rais, 2018).

Kebiasaan makan udang vaname mencari makan di dasar perairan. Pada sistem intensif untuk pakan utamanya menggunakan pellet. Kandungan protein pada pakan udang buatan (pellet) cukup tinggi, yaitu sekitar 40%. Sehingga proses pembusukan (perombakan) pellet akan menghasikan senyawa nitrogen anorganik berupa $\text{NH}_3\text{-N}$ dan NH_4 yang merupakan salah satu senyawa toksik bagi udang. Kualitas pakan yang baik tergantung pada kandungan protein, lemak, serat kasar dan beberapa nutrisi lain yang diperlukan bagi pertumbuhan udang. Nutrisi pada pakan seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin menjadi faktor penting yang mendukung kelangsungan hidup dan laju pertumbuhan pada udang (Romadhona et al., 2016).

Udang membutuhkan protein dalam pakan yang cukup tinggi yang digunakan untuk pertumbuhannya dibandingkan dengan kebutuhan protein pada ikan. Kebutuhan protein pada udang untuk fase larva yaitu 38-40 %, fase juvenil 35-37%, dan fase dewasa 28-30 %. Kebutuhan karbohidrat yaitu 25-35 %, Lipid

(termasuk fosfolipid) 3-7 %, HUFA >0.08 %, kolesterol 0.5-0.6 %, Vitamin C 100 mg/kg, kalsium/fosfor 1.5-2 %, Zn 90 mg/kg (Nesara & Anand, 2018).

1.4.5 Sistem Pertahanan Tubuh Udang Vaname

Secara umum sistem pertahanan tubuh udang terdiri dari dua bagian yaitu sistem pertahanan tubuh seluler dan sistem pertahanan tubuh humoral. Sistem pertahanan tubuh seluler meliputi fagosit sel-sel hemosit, nodulasi dan encapsulasi. Sistem pertahanan seluler dan humoral yang penting pada udang tergantung dari faktor-faktor yang berperan pada sistem tersebut sebagai pertahanan tubuh melawan serangan organisme patogen. Salah satu faktor tersebut adalah lingkungan yang buruk akibat tingginya polusi oleh bahan organik. Polusi ini akan menghambat aktifitas fagosit dari udang yaitu lebih rendah daripada udang yang sehat (Darwanti et al., 2016). Sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi. Pertahanan pertama terhadap penyakit pada udang dilakukan oleh haemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan nodule formation. Aktifitas fagositosis dapat ditingkatkan dengan mengaktifkan sistem prophenol oksidase (Pro-PO) yang berada dalam haemosit semigranular dan granular (Ridlo, 2009).

Upaya untuk mempertahankan sistem pertahanan tubuh, dengan pemberian imunostimulan. Salah satu parameter suatu zat atau senyawa mampu menstimulasi sistem pertahanan non-spesifik udang adalah meningkatnya jumlah hemosit. Tipe sel hemosit berperan penting dalam mekanisme sistem pertahanan tubuh udang. Tiap tipe sel mempunyai fungsi yang berbeda dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang (Ermantianingrum et al., 2013). Komponen immunonutrisi diantaranya meliputi asam amino spesifik (biasanya glutamin dan arginin), nukleotida, PUFA ω -3, mineral (seperti Zn dan Se) serta bermacam-macam senyawa antioksidan (Subagiyo & Fatichah, 2016).

Hemosit adalah sel yang memainkan peran sentral dalam sistem kekebalan krustasea. Menurut Johansson et al. (2000), hemosit berperan dalam respon imun krustasea sebagai pengidentifikasi partikel asing, melakukan aktivitas fagositik, sitotoksitas, enkapsulasi, proses penyembuhan, dan berperan sebagai aktivator prophenoloksidase (proPO). Berdasarkan Manoppo & Kolopita, (2014) jumlah hemosit dapat berbeda berdasarkan spesies, respon terhadap infeksi, stres lingkungan, aktivitas endokrin selama siklus molting.

Aktivitas fagositik (PA) merupakan fungsi dari respon imun non spesifik yang menjadi mekanisme pertahanan awal terhadap serangan mikroorganisme. Proses fagositosis dimulai dengan perlekatan (*attachment*) dan penelanan (*ingestion*) partikel mikroba ke dalam sel fagosit. Sel fagosit kemudian membentuk vacuola pencernaan (*digestive vacuola*) yang disebut fagosom. Lisosom (granula dalam sitoplasma fagosit) kemudian menyatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Mikroorganisme selanjutnya dihancurkan dan debris mikroba dikeluarkan dari dalam sel melalui proses egestion. Pemusnahan partikel mikroba yang difagosit melibatkan pelepasan enzim ke dalam fagosom dan produksi ROI (reactive oxygen intermediate) yang kini disebut respiratory burst (Manoppo & Kolopita, 2014).

Organisme akuatik yang tidak memiliki respon imun spesifik, PO merupakan bagian penting dari respon imun non spesifik humoral krustasea untuk mengenali partikel asing yang masuk ke dalam tubuh udang dan berperan sebagai pertahanan tubuh terhadap patogen (Huang & Meng, 2009). Kegiatan ini dilakukan oleh sel semigranular atau granular. PO tinggi menyebabkan udang putih lebih baik dalam mengenali partikel asing. Penurunan nilai PO ini diduga karena sel semigranular atau granular juga menurun karena fungsi pertahanan tubuh udang bekerja setelah terjadinya infeksi patogen. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa PO terkait erat dengan THC. PO dan THC umumnya bersinergi karena hemosit memproduksi dan melepaskan PO ke dalam hemolimf dalam bentuk proenzim inaktif yang disebut proPO, oleh karena itu pada kondisi normal, peningkatan jumlah hemosit akan diikuti dengan peningkatan produk PO atau sebaliknya (Smith et al., 2003).

1.4.6 Klasifikasi dan Morfologi *V. alginolyticus*

Menurut Fandina (2007), klasifikasi bakteri *V. alginolyticus* adalah sebagai berikut:

Kindom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Vibrionales
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Spesies	: <i>V. alginolyticus</i>

V. alginolyticus merupakan salah satu bakteri pathogen, bakteri ini bersifat Gram negatif, fakultatif anaerob, bentuk sel batang dengan ukuran panjang 2-3 um, serta bergerak dengan satu flagella di ujung sel. *V. alginolyticus* merupakan bakteri pathogen yang dalam keadaan normal berada pada lingkungan yang terpelihara, kemudian berkembang dari sift saprofitik menjadi patogenik jika kondisi lingkungannya berubah (Sahabudin, 2015). *V. alginolyticus* bersifat motil dapat menjadi bakteri pathogen penyebab penyakit bakterial yang sering menimbulkan masalah pada larva udang vaname yang disebut penyakit bakteri menyala (Amri, 2003).

Menurut Tukan et al. (2023), *V. alginolyticus* merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menggunakan sejumlah komponen seperti satu-satunya sumber karbon dan energi tanpa membutuhkan vitamin atau growth factor. Banyak juga yang hidup pada kisaran suhu 4-42° C dan dapat menetap selama berminggu-minggu di dalam lingkungan basah dengan sedikit atau tanpa makanan. Bakteri Gram negatif memproduksi sejumlah toksin yang membuatnya menjadi sebuah pathogen yang berat ketika system immune dirusak.

1.4.7 Habitat dan Penyebaran *V. alginolyticus*

Menurut Sharma et al. (2013), untuk genus *Vibrio* yang memiliki habitat di lingkungan laut memiliki lebih dari 36 spesies termasuk *V. alginolyticus*. Spesies ini sudah tersebar di seluruh dunia dan ditemukan di wilayah laut maupun estuari. Bakteri ini mampu tumbuh dan berkembang biak pada suhu air yang relatif tinggi, misalnya pada suhu 25°C.

Vibrio adalah genus bakteri gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma), berukuran panjang 1.4 – 5.0 um dan lebar 0.3 – 1.3 um, bersifat motil dan mempunyai flagel polar dan secara khas ditemukan pada air laut. *Vibrio* bersifat anaerob fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Semua anggota jenis *Vibrio* adalah motil (bergerak) dan mempunyai kutub flagella dengan sarung pelindung, termasuk juga bakteri *V. alginolyticus* (Hidayat, 2014).

1.4.8 Bakteri *V. alginolyticus* pada Udang Vaname

Penyakit yang sering menyebabkan penyakit pada udang vannamei (*Penaeus vannamei*) adalah bakteri, jamur, dan virus. Khususnya serangan penyakit bakterial yang sering menyerang udang baik di tingkat pembenihan maupun pembesaran di tambak dan sering menyebabkan terjadinya kematian massal pada udang adalah serangan bakteri *Vibrio* sp. Siklus hidup bakteri ini dapat menyebabkan udang terkena penyakit ketika masa molting atau pergantian kulit, masa ketika udang dalam kondisi paling lemah. Bakteri *Vibrio* dapat menyebabkan kematian udang sampai 90% pada larva udang yang ketahanan tubuhnya belum terlalu kuat. Jenis-jenis *Vibrio* yang telah teridentifikasi menginfeksi udang adalah *V. harveyi*, *V. alginolyticus* dan *V. parahaemolyticus* (Kamiso et al, 1998).

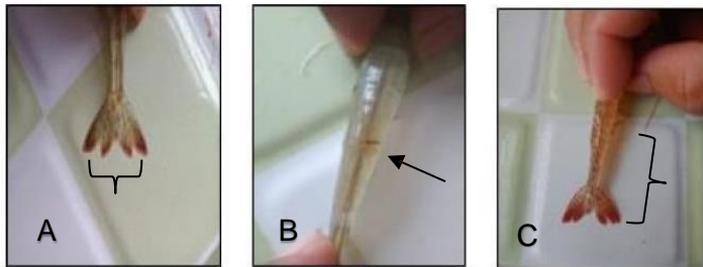
Bakteri *Vibrio* termasuk patogen oportunistik yang dapat berkembang di kolam budidaya. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* umumnya dikenal dengan istilah vibriosis (Sarjito et al., 2012). Pada lingkungan budidaya, infeksi *V. alginolyticus* dilaporkan dapat menyebabkan penyakit ice-ice pada rumput laut (Tumury et al., 2024). Golongan vibrio juga secara luas menyebabkan penyakit pada berbagai jenis ikan dan udang (Austin dan Austin, 2007; Sarjito et al., 2015). *Vibrio* dapat menyebar cepat melalui sistem budidaya, terutama jika fasilitas budidaya tidak dikelola dengan baik. *Vibrio* bersifat halofilik dan dapat tumbuh pada rentang salinitas yang luas. Penyebaran dapat melalui air, pakan, dan peralatan yang terkontaminasi (Sanam et al., 2023). Dilaporkan bahwa bakteri ini tidak hanya menyerang udang. Tercatat bahwa *Vibrio fluvialis* juga menginfeksi rumput laut (Arisandi et al., 2017) dan ikan kerapu (Sarjito et al., 2015).

Gejala klinis infeksi *V. alginolyticus* (Gambar 3) secara morfologi ditandai dengan munculnya warna kemerahan pada tubuh, ekor, kaki renang (pleopod), melanosis pada segmen tubuh udang, usus udang yang terlihat kosong yang diikuti perubahan hepatopankreas yang berubah warna lebih gelap (Sarjito et al., 2015). American Academy of Pediatrics (2012) melaporkan infeksi bakteri *Vibrio* umumnya terjadi sekitar 5-92 jam setelah pemaparan. Tinjau serupa

mengungkapkan gejala infeksi *Vibrio* akan muncul 9 jam setelah kontaminasi (Erkmen, 2022).

Dalam pewarnaan bakteri, jika berwarna merah berarti bakteri tergolong Gram negatif karena tidak mampu mempertahankan warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol. Sebaliknya, bakteri yang berwarna biru keunguan setelah diwarnai menggunakan metylen blue atau kristal violet merupakan bakteri Gram positif. Lapisan dinding sel bakteri Gram positif mengandung peptidoglikan yang tebal, sedangkan bakteri Gram negatif mengandung lipid dan lemak dalam presentase yang lebih tinggi serta peptidoglikan yang tipis (Sunatmo, 2007).

Menurut Bintari et al. (2016), bakteri *Vibrio* merupakan flora alami yang banyak jumlahnya dalam media pemeliharaan benih dibandingkan dalam media pembesaran ikan. Namun, bakteri ini dapat bersifat patogen opportunistic yang dapat berkembang lebih banyak di kolam jika terjadi peningkatan material organik yang bersumber dari pakan dan feses. Hal lebih buruk dapat terjadi ketika kondisi lingkungan kolam berubah secara signifikan seperti suhu, pH, DO, yang tidak sesuai sehingga menyebabkan udang terinfeksi bakteri *Vibrio*.



Gambar 3. Gejala klinis udang vaname pasca infeksi bakteri *V. alginolyticus*. (Natasya et al., 2022). A) Ekor memerah; B) Melanosis; C) Tubuh memerah

1.4.9 Buah Merah

Salah satu bahan antibiotik alami yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan bakteri *Vibrio* sp adalah Buah merah (*Pandanus Conoideus* Lam). Hasil penelitian Wabula et al. (2019) menunjukkan bahwa minyak buah merah memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat melawan bakteri. Menurut Sukandar (2005), ekstrak buah merah dapat menurunkan iritasi setelah pemberian bakteri pada kelinci, iritasi pada skala 4 artinya, pemerahan berat dan pembentukan luka. Namun, setelah luka diolesi ekstrak buah merah iritasi turun menjadi 3. Minyak buah merah mengandung zat-zat gizi bermanfaat atau senyawa aktif dalam kadar tinggi, diantaranya betakaroten, tokoferol, serta asam lemak. Minyak buah merah juga mengandung asam lemak seperti asam palmitat, asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat. Kandungan asam lemak paling tinggi adalah asam oleat yaitu antara 40.9%, asam linoleat 5.20%, asam linolenat 7.8 % dan asam palmitoleat 0.78% (Ayomi, 2015).

Ketiga asam merupakan antioksidan dan senyawa aktif yang dapat meningkatkan aktivitas sel-sel limfosit T termasuk T-helpers, sel T sitotoksik, dan

sel T pengatur (*supressor*) untuk menangkal radikal bebas dan meningkatkan imunitas tubuh (Khiong et al., 2009). Selain itu, kandungan tokoferol dalam minyak buah merah tinggi dan memiliki aktivitas biologi sebagai antioksidan (Sandhiutami et al., 2012). Menurut penelitian Aslianti & Nasuka (2012), minyak buah merah juga dapat dimanfaatkan sebagai pengkaya ransum pakan yuwana kakap merah yang menghasilkan sintasan sebesar 94%. Dengan adanya kandungan senyawa bioaktif yang dikandung oleh buah merah ini membuka peluang untuk penggunaannya dalam upaya peningkatan sistem imun pada udang vaname.

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam), anggota suku Pandanaceae, merupakan bioresources lokal masyarakat Pegunungan Tengah Papua. Sebagai bioresources lokal, buah merah memiliki arti penting bagi masyarakat Papua karena beberapa hal, yaitu minyak buah merah digunakan sebagai minyak makan dan bahan dasar obat (Wawo et al., 2016). Buah merah memiliki kandungan zat-zat yang baik bagi tubuh. Buah merah mengandung zat-zat alami yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan proses metabolisme. Komponen senyawa buah merah meliputi karotenoid, betakaroten, tokoferol, alfa tokoferol, dan asam lemak yang berperan sebagai senyawa anti radikal bebas pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, paru-paru dan infeksi. Kandungan antioksidan terutama β karoten dan α tokoferol dalam buah merah lebih tinggi dibandingkan buah dan sayuran lainnya, seperti tomat, wortel, papaya, maupun taoge. Buah merah diketahui banyak mengandung betakaroten (700 ppm), karoten (12.000 ppm) dan tokoferol (11.000 ppm) yang secara alami dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit akut pada manusia karena berfungsi sebagai antioksidan dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Yahya & Wiryanta, 2005). Dikatakan pula bahwa betakaroten berfungsi memperlambat berlangsungnya penumpukkan flek pada arteri dan interaksinya dengan protein dapat meningkatkan produksi antibodi.

Tokoferol efektif mencegah terjadinya peroksidasi lipid dan pembentukan radikal bebas lainnya. Dalam banyak penelitian aktivitas tokoferol sebagai antioksidan diyakini kemampuannya untuk mencegah penyakit kronik seperti penyakit kardiovaskular, atherosklerosis, dan kanker. Data epidemiologi menunjukkan bahwa masukan tokoferol atau vitamin E dosis tinggi, berhubungan dengan penurunan risiko penyakit kardiovaskular. Vitamin E atau tokoferol berperan spesifik sebagai antioksidan (Brigelius-Flohe & Traber, 1999 *dalam* Shandiutami, 2012).

Kandungan utama sari buah merah adalah asam lemak. Asam lemak yang terdapat dalam sari buah merah terdiri atas asam palmitat, asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat. Kandungan asam lemak paling tinggi adalah asam oleat yaitu antara 40.9%, asam linoleat 5.20%, asam linolenat 7.8 % dan asam palmitoleat 0.78% (Ayomi, 2015). Semuanya merupakan senyawa aktif yang dapat meningkatkan aktivitas sel-sel T-helpers dan limposit yang bersifat sebagai penangkal radikal bebas sehingga meningkatkan daya tahan tubuh.

Mikroorganisme yang hidup dan berkembang biak secara intra seluler, antara lain di dalam makrofag sehingga sulit untuk dijangkau oleh antibody. Untuk

melawan mikroorganisme intraseluler tersebut diperlukan respons imun seluler, yang diperankan oleh limfosit T. Sub populasi sel T yang disebut dengan sel T penolong (T-helper) akan mengenali mikroorganisme atau antigen bersangkutan melalui major histocompatibility complex (MHC) kelas II yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Sinyal ini menyulut limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk diantaranya interferon, yang dapat membantu makrofag untuk menghancurkan mikroorganisme tersebut (Suardana, 2017).

Minyak buah merah dapat dihasilkan dengan cara di ekstrak dari daging buah tersebut. Berdasarkan hasil pengalaman warga papua dalam mengekstrak buah merah ini adalah dengan cara basah dimana pertama-tama buah merah ini di potong terlebih dahulu kemudian dicuci hingga bersih lalu direbus dan ditambahkan air secukupnya kemudian dilumatkan hingga menghasilkan pasta, pasta ini kemudian direbus dengan suhu yang cukup tinggi hingga menghasilkan uap air agar lemak yang dihasilkan dapat dipisahkan. Minyak yang dihasilkan melalui proses ekstraksi ini masih berbentuk minyak kasar yang banyak mengandung gizi yang tinggi, selain senyawa aktif yang disebutkan diatas, minyak buah merah ini juga mengandung trigliserida seperti fosfolipid, karbohidrat dan protein (Mayalibit et al., 2019).

1.4.10 Kualitas air

Berhasil atau tidaknya suatu usaha budidaya udang vaname antara lain ditentukan oleh kemampuan mengendalikan faktor-faktor lingkungan. Agar udang vaname yang dibudidayakan dapat hidup dan tumbuh dengan baik, maka selain harus tersedia pakan bergizi dalam jumlah yang cukup, kondisi lingkungan seperti suhu, pH, salinitas, oksigen dan amoniak harus berada pada kisaran yang layak (Tirtawati, 2018).

Stadia larva dapat tumbuh dengan baik pada suhu sekitar 26-32°C (Wyban & Sweeney, 1991). Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme organisme, karena itu penyebaran organisme dibatasi oleh suhu perairan tersebut. Secara umum laju pertumbuhan meningkatkan sejalan dengan kenaikan suhu dapat menekan kehidupan hewan budidaya bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu eksrim (Amri & Kanna, 2008).

Salinitas dan pH air berhubungan erat dengan keseimbangan ionik dan proses osmoregulasi didalam tubuh udang. Udang muda yang berumur antara 1 bulan memerlukan kadar garam yang berkisar antara 15-25 ppt agar pertumbuhannya dapat optimal. Setelah umurnya lebih dewasa, pertumbuhannya relatif baik pada kisaran salinitas 5-35 ppt. Air tambak memiliki pH ideal berkisar antara 7,5-8,5. pH air tambak dapat berubah menjadi asam karena meningkatnya benda-benda membusuk dari sisa pakan atau yang lain, pH air yang asam dapat diubah menjadi alkalis dengan penambahan kapur (Fernando, 2016).

Oksigen dalam perairan dibutuhkan oleh organisme untuk respirasi yang selanjutnya dimanfaatkan untuk metabolisme. Oksigen terlarut akan mempercepat reaksi kimiawi dari bahan-bahan toksik yang membahayakan kehidupan organisme air. Untuk stadia post larva udang vaname, kadar oksigen yang dapat menunjang

pertumbuhan udang berada pada kisaran 5-7 mg/L (Tirtawati, 2018).

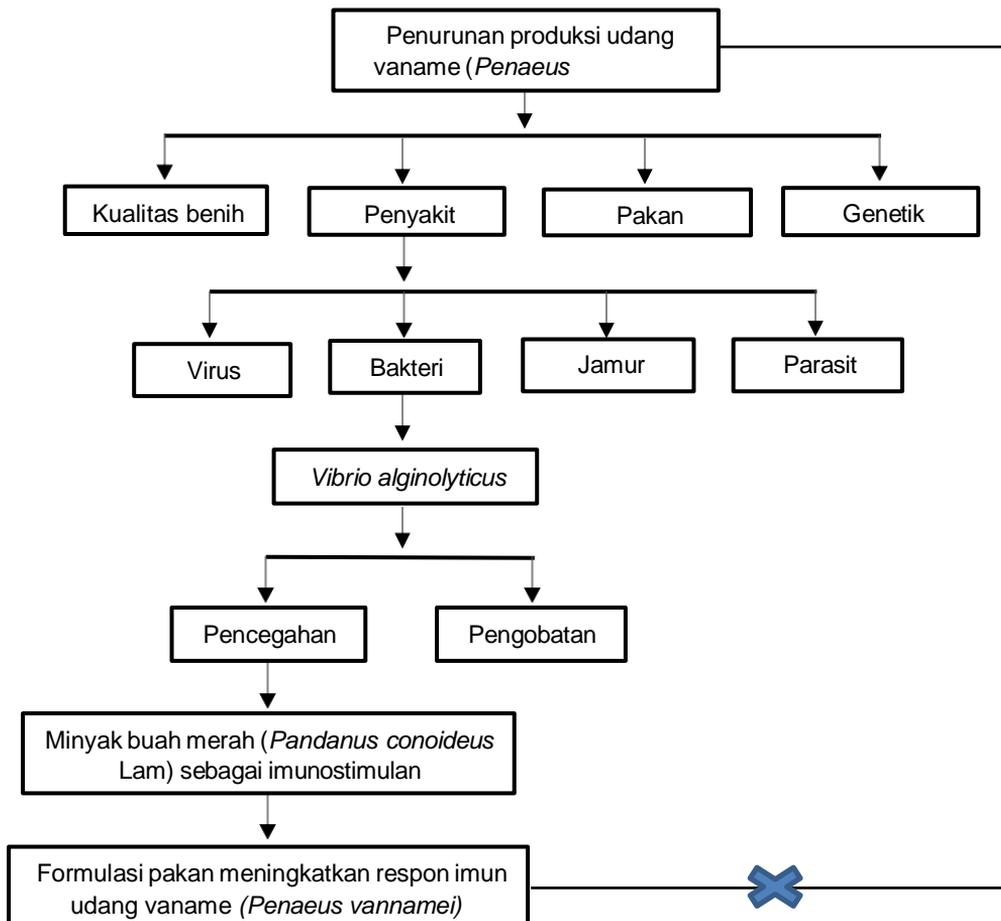
Amoniak merupakan senyawa nitrogen yang bersifat toksik. Dalam bentuk yang tidak terionisasi amoniak menjadi racun bagi organisme perairan walaupun pada saat konsentrasi rendah (Fernando, 2016). Amoniak bebas dalam sistem budidaya sebaiknya lebih kecil dari 0.1 mg/L (Hendrawati et al., 2017).

1.4.11 Hipotesis

Berdasarkan tujuan penelitian, maka hipotesis penelitian ini adalah:

1. Terdapat senyawa pada minyak buah merah yang dapat meningkatkan respon imun udang yang terinfeksi *V. alginolyticus*
2. Terdapat dosis tertentu dalam penambahan minyak buah merah pada pakan terhadap peningkatan respon imun udang yang dipapar *V. alginolyticus*

1.5 Kerangka Pikir



Gambar 4. Kerangka pikir penelitian

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga Agustus 2023 di Hatchery mini, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar. Analisis proksimat dan analisis GCMS senyawa buah merah di Laboratorium analisis Bahan Pangan, Politeknik Negeri Ujung Pandang. Analisis respon imun dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Udang, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Persiapan Wadah Pemeliharaan

Wadah pemeliharaan yang digunakan adalah akuarium ukuran 40 cm x 36 cm x 32 cm masing-masing dilengkapi dengan 2 aerator. Akuarium dicuci bersih lalu dibilas hingga bersih dan dikeringkan. Selanjutnya, akuarium diisi air dengan ketinggian 20 cm, dan diberi penutup plastik hitam dibagian luar akuarium agar tidak stres, dan bagian atas akuarium diberi waring agar udang tidak lompat hingga keluar dari akuarium.

2.2.2 Persiapan Hewan Uji dan Aklimatisasi

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang vaname dengan rata-rata bobot ± 1.15 g yang diperoleh dari PT. Esaputlii Prakarsa Utama Kabupaten Barru. Sampel udang sebanyak 80 ekor per akuarium dan total 960 ekor untuk kebutuhan 12 akuarium. Dilakukan aklimatisasi selama 6 hari untuk menyesuaikan hewan uji dengan terhadap lingkungan yang baru.

2.2.3 Persiapan Minyak Buah Merah dan Pakan Uji

Minyak buah merah yang digunakan adalah minyak buah komersil. Pakan dibuat dengan formulasi yang sesuai kebutuhan nutrisi udang vaname seperti yang tercantum pada Tabel 1. Jumlah pakan yang dibuat sebanyak 2 kg berdasarkan formulasi, selanjutnya pakan tersebut dibagi menjadi 4, yaitu sebanyak 500 g/perlakuan, pada perlakuan A tidak ditambahkan minyak buah merah, pada pakan B sebanyak 500 g ditambahkan 5% minyak buah merah atau sekitar 25 mL, selanjutnya pada pakan C sebanyak 500 g ditambahkan 10% minyak buah merah atau sekitar 50 mL, dan pada pakan D sebanyak 500 g ditambahkan 15% minyak buah merah atau sekitar 75 mL. pakan yang sudah ditambahkan minyak buah merah selanjutnya diangin-anginkan dalam temperature ruang dan setelah kering dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan dalam lemari pendingin sampai saat akan digunakan.

Pakan yang digunakan adalah pakan buatan berbentuk pellet yang diformulasikan sesuai kebutuhan nutrisi udang. Minyak buah merah dicampur ke pakan sesuai dosis setiap perlakuan. Formulasi pakan buatan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi pakan buatan

Bahan Baku Pakan	Perlakuan minyak buah merah (%)			
	0%	5%	10%	15%
Tepung ikan	39	39	39	39
Tepung kepala udang	10	10	10	10
Tepung kedelai	27	27	27	27
Tepung jagung	6	6	6	6
Tepung terigu/ kanji	5	5	5	5
CMC	2	2	2	2
Minyak ikan	8	8	8	8
Vitamix	2	2	2	2
Mineral	1	1	1	1
Total	100	100	100	100

2.2.4 Persiapan Bakteri *V. alginolyticus* dan Injeksi

Isolat bakteri *V. alginolyticus* diperoleh dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Kabupaten Takalar. Bakteri *V. alginolyticus* dikultur menggunakan media *Thiosulphate Citrate Bile Salt* (TCBS), *Trypticase Soya Agar* (TSA), dan *Trypticase Soya Broth* (TSB). Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dibawah mikroskop dengan bantuan *Counting Chamber*.

Larutan standar 0,5 McFarland (blanko) dibuat dengan membandingkan asam sulfat (H_2SO_4) dan barium klorida ($BaCl_2$) dalam 10 tabung reaksi berturut-turut, dan konsentrasi bakteri ditentukan berdasarkan standar tersebut. Bakteri berumur 24 jam diambil dari agar miring *Trypticase Soy Agar* (TSA) menggunakan inokulasi loop steril, kemudian dihomogenkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan fisiologis NaCl 0,9%. Kekeruhan larutan blanko dan suspensi bakteri diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 640 nm. Kekeruhan larutan blanko dianalisis untuk membuat kurva standar dan menghasilkan rumus regresi. Kepadatan suspensi bakteri kemudian dihitung dengan cara substitusi ke dalam rumus regresi yang dihasilkan oleh kurva standar. Kepadatan suspensi kemudian diencerkan menggunakan larutan fisiologis NaCl 0.9 % untuk memperoleh kepadatan yang diharapkan (10^7 Cfu/mL). Sejumlah 0.025 mL dari setiap suspensi diinjeksikan ke udang yang dipelihara.

2.2.5 Pemeliharaan dan Pengamatan

Setelah udang diaklimatisasi, dilakukan pemeliharaan dengan frekuensi pemberian pakan sebanyak 4 kali sehari yaitu pukul 07.00, 13.00, 16.00, dan 20.00 WITA dengan dosis 8%/hari dari bobot tubuhnya. Pemeliharaan dengan perlakuan pakan uji dilakukan selama 60 hari. Sampling dilakukan secara acak 15 ekor per akuarium pada tiap perlakuan yang dilakukan 1 kali dalam seminggu. Selama pemeliharaan, dilakukan pengelolaan kualitas air, penimbangan bobot tubuh, dan penyiponan. Pada akhir pemeliharaan selama 60 hari, udang dari

empat perlakuan dihitung, ditimbang dan digunakan untuk ujiantang udang terhadap *V. alginolyticus*.

Setelah 60 hari pemeliharaan, setiap kelompok eksperimen masing-masing diinjeksi bakteri *V. alginolyticus* sebanyak 0.025 mL dengan kepadatan bakteri 10^7 CFU/mL pada udang vaname. Injeksi menggunakan spuit pada segmen ketiga abdomen udang. Ujiantang dilakukan dengan mengamati pola kematian udang. Pengambilan sampel haemolim dilakukan pada 6 jam pertama setelah di paparkan bakteri. Berdasarkan metode Wei et al. (2012) hemolim diambil setelah dibius suhu dingin menggunakan spuit 1 mL yang diberikan antikogulan (10% NA-sitrat), dengan mengambil 0.5 mL haemolim dari bagian segmen pertama abdominal udang. Kemudian memasukkannya ke dalam mikrotube dan disimpan di dalam *coolbox* untuk menghindari kerusakan darah (Zahra et al., 2019). Stok haemolim kemudian digunakan untuk pengujian parameter DHC, THC, aktivitas fagositosis, dan aktivitas lisozim.

2.2.6 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan masing-masing tiga ulangan. Dengan demikian penelitian ini terdiri atas 12 satuan percobaan. Adapun perlakuan yang diterapkan adalah sebagai berikut:

- A = 0 % minyak buah merah
- B = 5 % minyak buah merah
- C = 10 % minyak buah merah
- D = 15 % minyak buah merah

2.3 Parameter yang Diamati

Pengukuran respon imun pada udang vaname dilakukan pada akhir penelitian meliputi parameter *total hemocyte count* (THC), *differential hemocyte count* (DHC), aktivitas fagositosis dan aktivitas lisozim.

2.3.1 Uji GC-MS

Analisis GC-MS pada minyak buah merah menggunakan alat GCMS-QP2010 ultra (Shimadzu). Menggunakan protokol standar untuk mendapatkan identifikasi senyawa aktif yang terkandung di dalamnya (Khayyat & Roselin, 2018).

2.3.2 Total Hemocyte Count (THC)

Pengamatan Total Hemocyte Count dilakukan pada akhir pemberian perlakuan dan setelah ujiantang *V. alginolyticus*. Hemolim diambil sebanyak 0.1 mL dari pangkal kaki renang pertama dengan menggunakan syringe 1 mL berisi 0.3 mL antikoagulan (Na-sitrat 3,8%). Campuran dihomogenkan dengan cara menggoyangkan tangan membentuk angka delapan. Selanjutnya hemolim diteteskan ke dalam hemositometer dan ditutup dengan *coverglass*. Selanjutnya sel hemosit diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Jumlah sel dihitung menggunakan rumus Campa-Cardova et al. (2002) sebagai berikut:

$$\text{THC}(\text{sel/mL}) = \text{Rataan sel} \times \text{jumlah kotak} \times 10^5$$

2.3.3 Differential Hemocyte Count (DHC)

Pengamatan differential hemocyte (DHC) dilakukan pada akhir penelitian dengan mengacu pada metode Martin & Graves (1985). Hemolim diteteskan pada objek gelas dan dibuat ulasan, kemudian dikeringkan di udara. Setelah kering, preparat ulasan hemolim difiksasi dengan methanol absolute selama 5-10 menit kemudian kembali dikeringkan di udara. Preparat ini direndam dalam larutan pewarna Giemsa 10% selama 15-20 menit. Setelah itu preparat dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan kering. Ulasan hemolim diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali dan diidentifikasi jenis selnya. Jumlah hemosit dihitung hingga 100 sel dan ditentukan persentase tiap jenisnya. Tipe sel hemosit yang dihitung berjumlah 100 sel lalu presentase tiap jenis sel dihitung dengan rumus (Cheng et al., 2004):

$$\text{DHC} (\%) = \frac{\text{jumlah sel hemosit tertentu}}{\text{total sel hemosit}} \times 100$$

2.3.4 Aktivitas Fagositosis

Pengamatan aktifitas fagositosis dilakukan pada akhir pemeliharaan dan setelah ujiantang *V. alginolyticus*. Hemolim udang diambil sebanyak 0.1 mL menggunakan *syringe* 1 mL berisi antikoagulan 0.1 mL. Kemudian sebanyak 50 μL darah dimasukkan kedalam *microplate*, ditambahkan 50 μL suspensi *staphylococcus aureus* dalam PBS (10^7 sel/mL). Dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit. Sebanyak 5 μL diteteskan pada objek glass dan dibuat preparat ulas dan dikeringkan di udara. Selanjutnya difiksasi dengan methanol selama 5-10 menit dan dikeringkan. Direndam dalam pewarna Giemsa selama 15-20 menit. Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan tisu. Dihitung jumlah sel yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 sel fagosit yang teramati. Indeks fagositik dihitung dengan rumus:

$$\text{AF} = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan fagositosis}}{\text{Jumlah sel hemosit}} \times 100\%$$

2.3.5 Aktivitas Lisozim

Pengamatan aktivitas lisozim dilakukan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Rowley (1993) dan Klontz (1997). Tahap pertama, hemolim udang disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah itu dipindahkan ke Eppendorf yang baru. Kemudian disiapkan Agarose dengan konsentrasi 1% sebanyak 0.20 gram dilarutkan kedalam 20 ml larutan PBS, selanjutnya dipanaskan hingga larut kemudian *micrococcus* sebanyak 0.3 gram ditambahkan kedalam agarose tersebut, lalu diaduk hingga homogen kemudian campuran tersebut disebar di atas gelas objek dan ditunggu hingga dingin.

Setelah itu bila agar pada gelas objek sudah memadat dibuat lubang pada media tersebut sebanyak 3 buah dan masukkan sampel uji kedalam lubang tersebut pada agarose menggunakan mikropipet.

Pada objek gelas tersebut dibuat lubang sebanyak tiga buah menggunakan pipet. Plasma darah sebanyak 15 μ L dimasukkan kedalam salah satu lubang tersebut, sedangkan satu lubang lagi diisi dengan 15 μ L *chicken egg white lysozyme* (Sigma) sebagai control positif dan satu lubang lagi diisi dengan *lysozyme buffer* (Sigma) sebagai control negative. Gelas objek tersebut dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Aktifitas lisozim diamati dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk.

$$AL \text{ (cm)} = \frac{\text{Diameter zona plasma darah uji}}{\text{Diameter zona control}}$$

2.3.6 Perhitungan Total Koloni Bakteri

Perhitungan koloni bakteri pada hepatopankreas udang dilakukan dengan teknik penentuan Angka Lempeng Total (ALT) atau Total Plate Count (TPC). Koloni bakteri pada media TCBS yang dihitung adalah 25-250 koloni. Total koloni dihitung menggunakan metode Harrigan berdasarkan (BSN, 2006) dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kepadatan bakteri (Cfu/mL)} = N \times \frac{1000 \text{ mL}}{V} \times D$$

Keterangan:

- N = Jumlah koloni
- V = Volume sampel
- D = Tingkat pengenceran

2.3.7 Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan 4 kali sehari yaitu pagi, siang, sore, dan malam hari pada pekan ke 1 hingga pekan ke 8. Pengukuran pH menggunakan pH-meter, oksigen terlarut menggunakan DO meter, suhu menggunakan termometer, dan salinitas menggunakan handrefractometer. Pengukuran amoniak dilakukan 2 kali sebelum dan sesudah perlakuan. Air sampel dari masing-masing perlakuan disaring 25-50 mL dengan kertas whatman no.42 dan masukkan 25 mL ke dalam botol sampel. Tambahkan 1 mL larutan phenol, 1 mL Natrium Nitro Prusside dan 2 mL larutan pengoksid (campuran NaOCl + Na-Citrat 1:4). Aduk dan diamkan \pm 30 menit. Selanjutnya ukur "*Absorbance*" dengan spektrofometer pada panjang gelombang 560 nm.

2.4 Analisis Data

Data yang diperoleh selama penelitian seperti THC, DHC, AF, AL, dan total koloni bakteri diuji statistik menggunakan analisis ragam (One-Way ANOVA). Jika hasilnya berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut W-Tukey. Sebaliknya, hasil uji GC-MS dianalisis secara deskriptif. Sebagai alat bantu untuk melaksanakann uji statistik digunakan paket program SPSS.