#### SKRIPSI

### **EFEKTIVITAS MINYAK BUAH MERAH SEBAGAI** IMUNOSTIMULAN TERHADAP KONDISI JARINGAN UDANG VANAME (Panaeus vannamei) YANG DIINJEKSI **BAKTERI** Vibrio alginolyticus

Disusun dan diajukan oleh:

**ERWIN** L031191063



PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN DEPARTEMEN PERIKANAN **FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN** UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR 2024

# EFEKTIVITAS MINYAK BUAH MERAH SEBAGAI IMUNOSTIMULAN TERHADAP KONDISI JARINGAN UDANG VANAME (Panaeus vannamei) YANG DIINJEKSI BAKTERI Vibrio alginolyticus

#### ERWIN L031191063

#### SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan



PROGRAM STUDI PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN
DEPARTEMEN PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024

# LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

# EFEKTIVITAS MINYAK BUAH MERAH SEBAGAI IMUNOSTIMULAN TERHADAP KONDISI JARINGAN UDANG VANAME (Panaeus vannamei) YANG DIINJEKSI BAKTERI Vibrio alginolyticus

Disusun dan diajukan oleh :

ERWIN L031191063

Telah dipertahankan dihadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi Program Sarjana Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin pada tanggal Januari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

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

NIP. 19830406200512002

Dr. Ir. Sriwulan, MP.

NIP. 196606301991032002

Mengetahui, \*

Ketua Program Studi

Budidaya Perairan

TAS HAS

Dr. Andt Aliah Hidayani, S.Si., M.Si.

NIP 198005022005012002

# PERNYATAAN KEASLIAN

Bertanda tangan dibawah ini:

Nama

: Erwin

NIM

: L031191063

Program Studi: Budidaya Perairan

Fakultas

: Ilmu Kelautan dan Perikanan

Jenjang

: S1

Menyatakan bahwa Skripsi dengan judul:

EFEKTIVITAS MINYAK BUAH MERAH SEBAGAI IMUNOSTIMULAN TERHADAP KONDISI JARINGAN UDANG VANAME (Panaeus vannamei) YANG DIINJEKSI BAKTERI Vibrio alginolyticus

Adalah karya penelitian saya sendiri dan bebas plagiat, serta tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar ademik kecuali secara tertulis digunakan sebagai acuan dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber acuan serta daftar Pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam karya ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 26 April 2024

Erwin

METERAL TEMPEL

DAKX703819989

Penulis

## PERNYATAAN AUTORSHIP

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama

: Erwin

NIM

: L031191063

Program Studi: Budidaya Perairan

**Fakultas** 

: Ilmu Kelautan dan Perikanan

Jenjang

: S1

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

Makassar, 22 Maret 2024

Mengetahui,

Ketua Program Studi

Penullis

Dr. Andi Aliah Hidayani, S.Si., M, Si.

NIP. 198005022005012002

**Erwin** 

NIM. L031191063

#### **ABSTRAK**

Erwin. L031191063. "Efektivitas Minyak Buah Merah Sebagai Imunostimulan Terhadap Kondisi Jaringan Udang Vaname (*Panaeus vannamei*) Yang Diinjeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus*" dibimbing oleh **Marlina Achmad** sebagai Pembimbing Utama dan **Sriwulan** sebagai Pembimbing Anggota

Udang vaname memiliki potensi besar untuk dikembangkan di Indonesia karena memiliki nilai ekonomis yang tinggi sebagai komoditas perikanan, Budidaya udang vaname di Indonesia masih dihadapkan dengan masalah penyakit yang berdampak pada produksinya. Salah satu cara untuk mencegah infeksi penyakit adalah dengan meningkatkan sistem imun dari udang. Buah merah (Pandanus conoideus lam) mengandung banyak senyawa aktif yang dapat dijadikan sebagai Imunostimulan bagi udang penelitian ini dilaksanakan di Hatchery mini Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Hewan uji yang digunakan yaitu udang vaname dengan berat 1,15 gram dengan padat penebaran 80 per akuarium, pada penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. menggunakan dosis buah merah yang berbeda yaitu 0% untuk pakan kontrol, 5%,10%. dan 15%.sebelum diinjeksikan bakteri Vibrio alginolyticus pada perlakuan dengan dosis 0% dan 5% terjadi kerusakan pada hepatopankreas udang, dan pada perlakuan 10% dan 15% tidak terjadi kerusakan pada hepatopankreas udang, setelah diinjeksi bakteri Vibrio algynoliticus pada perlakuan dengan dosis buah merah 0%,5%, dan 10% t1erjadi kerusakan hepatopankreas pada udang, namun pada perlakuan 15% tidak terjadi kerusakan hepatopankreas pada udang.berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian dosis minyak buah merah sebanyak 15% dapat menghambat bakteri Vibrio algynoliticus untuk menyerang udang vaname.

Kata kunci: Histologi, Buah merah, P. vannamei, V. alginolyticus

#### **ABSTRACT**

**Erwin**. L031191063. "Effectiveness of Red Fruit Oil as an Immunostimulant on the Tissue Condition of Whiteleg Shrimp (Litopenaeus vannamei) Injected with Vibrio alginolyticus Bacteria," supervised by **Marlina Achmad** as the Principal Advisor and **Sriwulan** as the Co-Advisor.

Vaname shrimp have great potential to be developed in Indonesia because they have high economic value as a fishery commodity. White leg shrimp cultivation in Indonesia is still faced with disease problems that impact their production. One way to prevent disease infection is to improve the shrimp's immune system. Red fruit (Pandanus conoideus lam) contains many active compounds which can be used as immunostimulants for shrimp. This research was carried out at Hatchery mini, Faculty of Marine and Fisheries Sciences, Hasanuddin University. The test animals used were vaname shrimp weighing 1.15 grams with a stocking density of 80 per aquarium. This study used a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 3 replications. used different doses of red fruit, namely 0% for the control feed, 5%, 10%, and 15%. Before the Vibrio agynolyticus bacteria were injected, in treatments with doses of 0% and 5% damage occurred to the shrimp hepatopancreas, and in treatments with 10% and 15 % no damage occurred to the shrimp hepatopancreas. After being injected with the Vibrio algynolyticus bacteria in treatments with 0%, 5%, and 10% red fruit doses, hepatopancreatic damage occurred in shrimp, but in the 15% treatment, hepatopancreatic damage did not occur in shrimp. Based on this research, it can be concluded that giving a dose of red fruit oil was 15% can inhibit Vibrio algynolyticus bacteria from attacking vaname shrimp.

Keywords: Histology, Red fruit, P. vannamei, Vibrio alginolyticus

#### KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa berkat karunia dan hidaya-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul "EFEKTIVITAS MINYAK BUAH MERAH SEBAGAI IMUNOSTIMULAN TERHADAP KONDISI JARINGAN UDANG VANAME (Panaeus vannamei) YANG DIINJEKSI BAKTERI Vibrio alginolyticus". Shalawat dan salam tak lupa dicurahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW.

Selama penelitian dan pengerjaan skripsi ini tentunya sangat banyak ilmu yang diperoleh penulis. Kepada pihak yang berperan sehingga penulis dapat melaksanakan dan meyelesaikan Skripsi ini diucapkan banyak terimakasih dan semoga Allah SWT. membalas segala kebaikannya dan semoga dilancarkan segala urusannya. Terimakasih yang sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada:

- Kedua orang tua penulis yang sangat penulis sayangi, hormati dan banggakan (Ibunda icaya dan Ayahanda Almarhum la sari yang selalu mendukung, mendoakan dan membantu dalam setiap proses penyelesaian Skripsi.
- Ibu Prof Dr. Ir. Siti Aslamyah, MP. selaku Wakil Dekan I Bidang Akademik dan Pengembangan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.
- Bapak Dr. Fahrul, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Departemen Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.
- Ibu Dr. Andi Aliah Hidayani, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan Universitas Hasanuddin.
- Ibu Dr. Marlina Achmad, S.Pi., M.Si. selaku pembimbing utama yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, saran dan nasihat saat penelitian berlangsung hingga penyusunan Skripsi. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan ibu dengan kebaikan yang berlipat ganda, aamiin.
- 6. Ibu Dr. Ir. Sriwulan, M.P., selaku pembimbing anggota yang telah banyak memberi arahan, nasihat, membimbing, memberi masukan dan meluangkan waktunya dalam proses penelitian hingga penyusunan Skripsi. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan bapak dengan kebaikan yang berlipat ganda, aamiin.
- 7. Ibu Dr. Andi Aliah Hidayani, S.Pi., M.Si. selaku Pembimbing Akademik penulis sekaligus penguji yang telah membimbing selama perkuliahan dan memberi saran serta masukan dalam penelitian penulis. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan ibu dengan kebaikan yang berlipat ganda, aamiin.

- bentuk kebaikan ibu dengan kebaikan yang berlipat ganda, aamiin.
- 8. Bapak Prof Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc. selaku penguji yang telah meluangkan waktu danmemberikan masukan serta saran dalam penelitian penulis. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan bapak dengan kebaikan yang berlipat ganda, aamiin.
- Bapak dan Ibu dosen, serta staf pegawai Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin yang telah membantu selama proses perkuliahan baik dari segi ilmu, pengalaman serta administrasi penulis.
- Nur Fadhilah Wahyuddin, S.Si. yang telah membantu, menemani, mendukung dan mendoakan segala proses penelitian dan penyusunan skripsi.
- 11. Muh. Al Furqan Dzul Ikram, S.Pi., Firdha Annisa Darmawan, S.Pi., Muhammad Raihan Rahmanu dan Nurafiah, S.Pi. selaku teman tim penelitian.
- Kevin Marinus Sakliresy, S.Pi yang telah membantu, menemani, mendukung dan mendoakan segala proses penelitian dan penyusunan skripsi.
- Teman-teman TIRONDANG FAMS yang telah menemani, mendukung dan mendoakan segala proses penelitian dan penyusunan skripsi
- Teman-teman BANDARAYA 2019 yang telah mendukung dan mendoakan segala proses penelitian dan penyusunan skripsi.
- Teman-teman BDP 2019 yang telah mendukung dan mendoakan segala proses penelitian dan penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan penulis selama penelitian dan penyusunan Skripsi. Oleh karena itu, atas segala kekurangan dan ketidaksempurnaan Skripsi ini, penulis sangat mengharapkan masukan, kritik dan saran dari berbagai pihak yang bersifat membangun ke arah yang lebih baik.

Makassar, 17 APRIL 2024

#### RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Erwin, lahir di Barru tanggal 10 Maret 2000 yang merupakan anak dari pasangan Bapak Lasari dan Ibu Icaya. Bertempat tinggal di Jalan poros Parepare-Barru. Penulis merupakan mahasiswa Program studi Budidaya Perairan, Departemen Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar. Sebelumnya, penulis telah menyelesaikan jenjang pendidikan sekolah dasar di SDN 9 Kupa, SMP Negeri 2 Mallusetasi dan SMK Negeri 3 Barru. Selama kuliah

di Universitas Hasanuddin penulis mengikuti lembaga internal kampus yaitu sebagai Badan Pengurus Harian Korps Pencinta Alam Korpala Unhas,Badan pengurus harian Himpunan Mahasiswa Jurusan, Keluarga Mahasiswa Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Dan lembaga eksternal kampus yaitu sebagai Badan pengurus Harian Himpunan Mahasiswa Islam Universitas Hasanuddin.

#### DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
PERNYATAAN AUTORSHIP	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
RIWAYAT HIDUP	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan dan Kegunaan	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Udang Vaname (Panaeus vannamei)	3
B. Sistem Pertahanan Tubuh Udang Vaname	6
C. Vibrio alginolyticus	7
D. Buah merah	9
E. Histopatologi	10
III. METODE PENELITIAN	14
A. Waktu dan Tempat	14
B. Alat dan Bahan	14
C. Hewan uji	14
D. Wadah Penelitian	15

E. Pakan Uji15
F. Prosedur Penelitian15
G. Rancangan Percobaan18
H. Parameter yang Diamati18
I. Analisis Data18
IV. HASIL19
A. Kondisi hepatopankreas Sebelum dan sesudah Penginjeksian bakteri V.  alginolyticus
B. Kondisi Jaringan Sebelum dan Setelah Injeksi Bakteri V. alginolyticus 21
V. PEMBAHASAN23
VI. PENUTUP26
A. Simpulan
B. Saran26
DAFTAR PUSTAKA27
LAMPIRAN32

#### DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
Gambar 1. Udang vaname	3
Gambar 2. Siklus hidup udang	5
Gambar 3. Vibrio alginolyticus	7
Gambar 4. Gejala klinis udang vaname pasca infeksi bakteri V. Alginolyticus	; 9
Gambar 5. Profil histologi hepatopankreas udang windu	12
Gambar 6. Foto mikro Hepatopankreas udang	19

#### **DAFTAR TABEL**

Nomor Hala	man
Tabel 1. Nama, spesifikasi, dan fungsi alat yang digunakan pada penelitian	14
Tabel 2. Nama, satuan, dan fungsi bahan yang digunakan pada penelitian	14
Tabel 3. Formulasi pakan buatan	15
Tabel 4. Pemberian skor berdasarkan presentase kerusakan	18
Tabel 5. Kondisi jaringan hepatopankreas sebelum dan sesudah terpapar bakteri	20
Tabel 6. Gejala klinis udang vanamei sebelum dan sesudah terpapar bakteri	24

#### I. PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Udang vaname memiliki potensi besar untuk dikembangkan di Indonesia karena memiliki nilai ekonomis yang tinggi sebagai komoditas perikanan (Esa, 2022). Udang vaname memiliki keunggulan dalam melawan penyakit dan tingkat produktivitas yang tinggi. Selain itu, udang ini juga dapat mengisi seluruh kolom air dalam tambak dan dipelihara dalam kepadatan tinggi dengan penggunaan pakan dan ruang yang lebih efisien. Hal ini membuat udang vaname menjadi salah satu komoditas yang menarik untuk dikembangkan di Indonesia (Amri, 2013).

Budidaya udang vaname di Indonesia masih dihadapkan dengan masalah penyakit yang berdampak pada produksinya. Penyakit infeksius merupakan jenis penyakit yang sering terjadi pada proses pemeliharaan udang, termasuk pada pemeliharaan udang vaname. Bakteri *vibrio* sp. termasuk dalam genus patogen yang dapat membahayakan kesehatan udang. Beberapa jenis bakteri *Vibrio* yang dapat menyebabkan penyakit pada udang antara lain *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio penaeicida* (Asplund, 2013; Harlina, 2018). Penyakit *Vibrio*sis yang disebabkan oleh bakteri genus *Vibrio*, telah lama menjadi masalah utama bagi pelaku industri budidaya udang khususnya pada larva/benih udang karena dapat menyebabkan tingkat kematian larva udang melebihi 70%. Penyakit ini menjadi faktor pembatas dalam budidaya udang vaname dan seringkali menjadi penyebab kegagalan produksi udang vaname (Hardiyani, 2014).

Udang yang terpapar *Vibrio*sis atau penyakit *Vibrio*sis dapat menunjukkan perubahan pada kondisi jaringannya, seperti menghitamnya jaringan hepatopankreas dan terjadi kematian sel pada jaringan udang yang terserang bakteri *Vibrio* sp. (Yanto, 2006). Udang vaname yang terserang bakteri *V. alginolyticus* dapat menyebabkan infeksi terhadap jaringan udang vaname, seperti hepatopankreas. infeksi ini dapat menyebabkan perubahan struktural dan fungsional pada jaringan tersebut (Febriani *et al.*, 2013). Studi histologi dapat dilakukan untuk memberikan pemahaman tentang struktur dan kondisi jaringan udang, serta perubahan yang terjadi dalam respon terhadap pengaruh imunostimulan atau penyakit tertentu.

Salah satu cara untuk mencegah infeksi penyakit adalah dengan meningkatkan sistem imun dari udang. Peningkatan sistem imun dapat dilakukan dengan pemberian imunostimulan (Ni'mah et al., 2021). Imunostimulan dapat berasal dari berbagai sumber, termasuk bahan alami, seperti herbal atau ekstrak tumbuhan, dan bahan sintetis. Pemberian imunostimulan dapat dilakukan melalui berbagai cara, termasuk melalui

suplemen makanan, vaksinasi, pakan tambahan, atau pengobatan dengan obat-obatan tertentu (Kurniawan et al., 2018).

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) mengandung banyak senyawa aktif di antaranya karatenoid, tokoferol, asam oleat, asam linoleat, dekanoat, vitamin B, dan vitamin C (Palupi dan Martosupomo, 2009). Beta karoten meningkatkan integritas jaringan dan meningkatkan aktivitas pada sel pertahanan (Ermantianingrum *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Laohamongkolruk *et al.*, (2006) menunjukkan bahwa penggunaan vitamin C sebagai imunostimulan dapat meningkatkan sistem imun pada udang windu. Berdasarkan hal tersebut, maka minyak buah merah memiliki potensi sebagai imunostimulan. Pemanfaatan buah merah sebagai imunostimulan belum banyak dilaporkan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka penting untuk dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian minyak buah merah sebagai imunostimulan terhadap kondisi jaringan udang vaname setelah terpapar bakteri *V. alginolyticus*.

#### B. Tujuan dan Kegunaan

Tujuan dari penelitian ini untuk mengevaluasi kondisi jaringan udang vaname setelah dipapar bakteri V. alginolyticus.

Kegunaan dari penelitian ini dapat menjadi acuan dan informasi tentang histopatologi hepatopankreas pada udang vaname (*Panaeus vannamei*) yang sudah di infeksi *V. alginolyticus* pasca pemberian imunostimulan ekstrak minyak buah merah.

٠

#### II. TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Udang Vaname (Panaeus vannamei)

Udang vaname atau biasa disebut udang vannamei (*Panaeus vannamei*) merupakan udang introduksi. Habitat asli dari udang ini adalah di perairan pantai dan laut Amerika Latin seperti Meksiko, Nikaragua, dan Puerto Rico. Udang ini kemudian diimpor oleh negara pembudi daya udang di Asia. Daya tarik udang vaname terdapat pada ketahanannya terhadap penyakit dan tingkat produktivitas yang tinggi. Selain itu, udang ini mampu memanfaatkan seluruh kolam air dari dasar hingga ke lapisan permukaan. Faktor-faktor tersebut memungkinkan udang vaname untuk dipelihara di tambak dengan kondisi padat tebar tinggi karena mampu memanfaatkan pakan dan ruang secara lebih efisien, selain itu, udang vaname juga dapat matang gonad di dalam tambak sehingga lebih mudah dalam penyiapan bakal induk untuk usaha pembenihan (Amri, 2013).

#### 1. Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Dugassa dan Gaetan (2018), udang vaname dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Subphylum : Crustacea

Class : Malacostraca

Subclass : Eumalacostraca

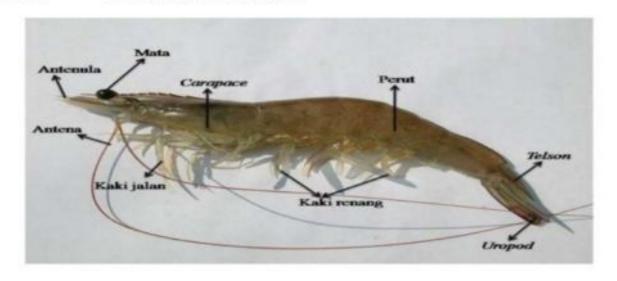
Ordo : Decapoda

Subordo : Dendrobranchiata

Family : Penaeidae

Genus : Penaeus

Species : Panaeus vannamei



Gambar 1. Udang vaname (Suri, 2017)

Morfologi udang vaname ditunjukkan oleh Gambar 1. 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).

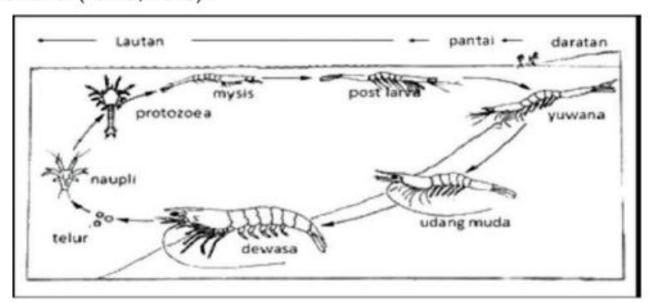
Warna tubuh udang vaname ini adalah putih transparan dengan warna biru yang terdapat dekat dengan bagian telson dan uropoda. Alat kelamin udang betina disebut thelycum yang terletak diantara kaki jalan ke-4 dan ke-5, sedangkan pada udang jantan disebut petasma terletak diantara kaki jalan ke-5 dan kaki 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).

#### 2. Habitat dan siklus hidup udang vaname

Habitat alami udang vaname hidup pada kedalaman kurang lebih 70 meter. Udang vaname bersifat nokturnal, 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, 2019).

Siklus hidup udang vaname dapat dilihat pada Gambar 2. Udang vaname 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, sistem 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, 2019).



Gambar 2. Siklus hidup udang (Husada, 2019)

#### 3. Pakan dan Kebiasaan Makan

Berdasarkan jenis makananya udang vaname tergolong ksedalam 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 munggunakan 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 NH<sub>3</sub>-N dan NH<sub>4</sub>+ yang merupakan salah satu senyawa toksik bagi udang. Kualitas pakan yang baik tergantung pada kandungan protein, lemak, serat kasat dan beberapa nutrien 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 dan Anand, 2018).

#### B. 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 (Darwatin *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 profenol oksidase (Pro-PO) yang berada dalam haemosit semigranular dan granular (Ridlo, 2009).

Upaya untuk mempertahankan sistem perhanan tubuh, dengan pemberian imunosimulan. Imunostimulan yang umum digunakan merupakan organisme maupun hasil sampingan organisme yang tidak virulen. 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 omega-3, mineral (seperti Zn dan Se) serta bermacammacam senyawa antioksidan (Subagiyo dan Fatichah, 2016).

Hemosit merupakan sel yang sangat berperan sentral dalam sistem kekebalan tubuh krustasea. hemosit berperan dalam respon imun krustasea yang memilik fungsi untuk mengidentifikasi partikel asing yang masuk kedalam tubuh krustasea, hemosit juga melakukan aktifitas fagositik, sitotoksisitas, enkapulasi, proses penyembuhan, dan berperan sebagai aktivator prophenoloksidase (Johansson *et al.*, 2000). Hemosit berperan dalam fagositosis, enkapsulasi, degranulasi dan agregasi nodular terhadap patogen atau partikel asing (Arifin dan Supriyono, 2014). Berdasarkan Manoppo & Kolopita (2014), jumlah hemosit dapat berbeda berdasarkan spesies, respon terhadap infeksi, stres lingkungan, aktivitas endokrin selama siklus molting.

Aktivitas fagositosis (PA) merupakan fungsi dari respon imun non spesifik yang menjadi mekanisme pertahanan awal terhadap serangan mikroorganisme yang menyerang tubuh krustasea. Fagositosis merupakan reaksi yang umum dalam pertahanan selular udang. 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).

#### C. Vibrio alginolyticus

#### 1. Klasifikasi dan morfologi

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

Kindom : Bakteria

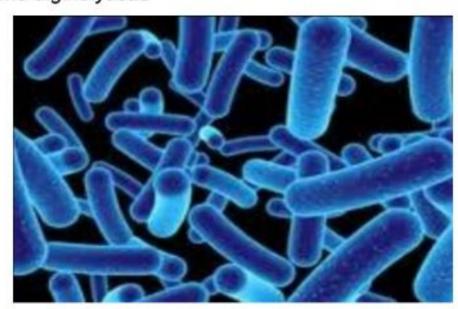
Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Vibrionales
Family : Vibrionaceae

Genus : Vibrio

Spesies : Vibrio alginolyticus



Gambar 3. Vibrio alginolyticus (Izzah, 2011).

V. alginolyticus merupakan salah satu bakteri patogen, morfologi V. algynoliticus dapat dilihat pada Gambar 3. Bakteri ini bersifat gram negatif, fakultatif anaerob, bentuk sel batang dengan ukuran panjang 2-3 µm, serta bergerak dengan satu flagella di ujung sel. V. alginolyticus merupakan bateri patogen yang dalam keadaaan normal berada pada lingkungan yang terpelihara, kemudian berkembang dari sift saprofitik menjadi

patogenik jika kondisi lingkunganya berubah. *V. alginolyticus* bersifat motil dapat menjadi bakteri pathogen penyebab penyakit bakterial yang sering menimbulkan masalah pada larva udang vaname yang disebut penyakit bakteri menyala (Sahabudin, 2015)

Menurut Luturmas dan Pattinasarany (2010) Bakteri *V. alginolyticus* merupakan bakteri gram negatif yang dapat menggunakan sejumlah komponen seperti satu-satunya sumiper karbon dan energi tapa 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 tapa makanan. Bakteri gram negatif memproduksi sejumlah toksin yang membuatnya menjadi sebuah pathogen yang berat ketika system immune dirusak.

#### 2. Habitat dan Penyebaran

Menurut Gomathi 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).

#### 3. Bakteri V. alginolyticus pada Udang Vaname

Jenis-jenis penyakit yang sering menyebabkan penyakit pada udang vannamei (*P. 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.* Jenis-jenis *Vibrio sp.* yang telah teridentifikasi menginfeksi udang adalah *V. harveyi*, *V. alginolyticus* dan *V. parahaemolyticus* (Kamiso *et al.*, 1998).

Gejala klinis setelah diinfeksi oleh bakteri *V. alginolyticus* 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).

Vibrio sp. merupakan jenis bakteri gram negatif yang bersifat fakultatif anaerob, yang dapat menyebabkan kematian pada budidaya udang secara masal. Pengamatan

morfologi bakteri memggunakan mikroskop. Apabila hasil pewarnaanya diperoleh bakteri berwarna merah berarti bakteri tersebut adalah gram negatif. Pewarnaan gram menunjukkan adanya patogenitas dan pembentukan gram dilakukan untuk melihat bentuk patogenitasnya menggunakan *mhytilen blue* agar. Bakteri gram positif mempunyai dinding dengan lapisan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negative mengandung lipid, lemak dalam presentase yang lebih tinggi dan memiliki peptidoglikan yang tipis dari pada bakteri gram positif (Sunatmo, 2007). *Vibrio sp.* memeliki sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok atau lurus, berkuran Panjang 1,4 – 5,0 μm dan lebar 0,3 – 1,3 μm, motil dan mempunyai flagel polar (Gultom, 2003).

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 pathogen opportunistic jika terjadi peningkatan material organik yang bersumber dari pakan dan feses. Baik buruknya kualitas air media pembenihan dapat mempengaruhi kesehatan biota yang dibudidayakan.

Gejala klinis udang vaname sebelum uji tantang bakteri *V. alginolyticus* pada semua perlakuan vaname dapat dilihat pada Gambar 2. dengan ciri-ciri memperlihatkan pergerakan lincah, tubuh udang berwarna abu-abu, udang responsive terhadap pakan yang diberikan, dan hepatopankreas terlihat berwarna kehijauan. Gejala klinis udang vaname yang telah diinjeksi bakteri *V. alginolyticus* memperlihatkan perubahan morfologi pada udang seperti munculnya warna kemerahan pada tubuh, ekor, dan kaki renang, usus udang juga terlihat kosong dan hepatopankreasnya berwarna lebih gelap (Natasya *et al.*, 2022). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 4 dibawah ini.



Gambar 4. Gejala klinis udang vaname pasca infeksi bakteri V. Alginolyticus (A) warna kemerahan pada ekor (B) usus udang terlihat kosong (C) warna kemerahan pada tubuh. Rusydi et al (2022).

#### D. Buah merah

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk), 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., 2019). 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  $\beta$  karoten dan  $\alpha$  tokoferol dalam buah merah lebih tinggi dibandingkan buah dan sayuran lainnya, seperti tomat, wortel, papaya, maupun taoge.

Tokoferol efektif mencegah terjadinya peroksidasi lipid dan pembentukan radikal bebas lainnya. Dalam banyak penelitian aktivitas tokoferol sebagai antioksidan diyakini kemampuannya untuk mencegah penyakit dan infeksi bakteri pada udang budidaya. Data epidemiologi menunjukkan bahwa masukan tokoferol atau vitamin E dosis tinggi, berhubungan dengan penurunan risiko penyakit dan infeksi bakteri. Vitamin E atau tokoferol berperan spesifik sebagai antioksidan (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%, dan asam palmitoleat 0,78% (Ayomi, 2015).

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. Adanya kandungan fosfor yang akan bereaksi dengan logam dan asam lemak sehingga dapat menghasilkan kerusakan oksidasi sehingga perlu dilakukan proses pemurnian pada minyak hasil ekstraksi ini sebelum digunakan atau dikonsumsi (Mayalibit *et al.*, 2019).

#### E. Histopatologi

Histopatologi adalah ilmu biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit yang bertujuan untuk melihat kemungkinan adanya mikroorganisme yang bersifat patogen dalam jaringan hewan atau manusia. Histopatologi juga bermanfaat untuk membedakan luka akibat racun atau bakteri dengan struktur normal (Izzah, 2011).

Teknik histopatologi merupakan suatu cara yang dilakukan untuk melihat perubahan metobolisme dari perubahan jaringan yang terjadi. Pemeriksaan dapat dilakukan terhadap udang yang sakit, diduga sakit dan yang sudah mati. Pemeriksaan kondisi udang di tempat pemeliharaan dan lingkungan sangat membantu dalam menentukan diagnosis penyakit (Izzah, 2011).

Secara visual warna udang menjadi merah pada setiap segmen, insang dan tubuh ditempeli oleh organisme epikomensial (Madeali et al., 1998). Kerusakan sel-sel insang ini menyebabkan gangguan sistem pernafasan, sehingga udang sering naik ke permukaan dan berenang ke pinggir tambak. Organ hepatopankres pada udang berfungsi sebagai pusat metabolisme tubuh. Organ tubuh udang yang sering diserang oleh bakteri adalah hepatopankreas, apabila hepatopankreas sudah terserang maka udang akan mengalami gangguan pada metabolisme yang menyebabkan pembusukan sel dan lisis sel, pertumbuhan lambat, pergerakan lambat dan kematian pada udang tidak dapat dihindari (Yanto, 2006).

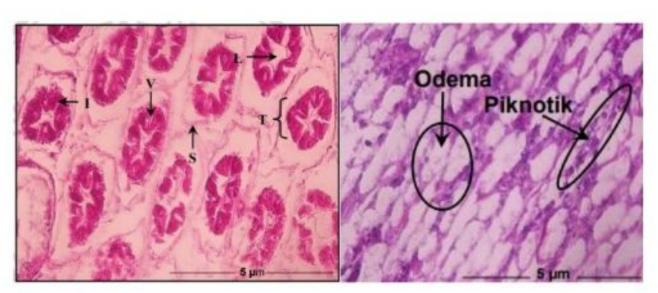
Hepatopankreas udang windu yang terpapar *V. harveyi* kerusakan sel yang sangat berat, yang ditandai dengan terjadinya hiperplasia, pecahnya sel (nekrosis), vakuolasi, dan mineralisasi. (Gambar 4). Untuk pengamatan biasanya Ciri-ciri hepatopankreas yang mengalami Hiperplasia ditandai dengan peningkatan jumlah sel pada hepatopankreas. Ini merupakan respon sel terhadap stresor atau rangsangan, yang menyebabkan sel-sel hepatopankreas membelah lebih cepat dari biasanya. Selsel yang mengalami hiperplasia biasanya menunjukkan perubahan dalam ukuran, dan bentuk. Dalam beberapa kasus, sel-sel bisa tampak lebih besar (hipertrofi) atau mengalami perubahan dalam susunan sel yang normal yang ditandai denngan jaringan hepatopankreas akan tampak lebih padat ketika diperiksa di bawah mikroskop (Putri et al., 2015).

Necrosis Hepatopankreas yang mengalami necrosis seringkali berubah warna, menjadi pucat atau keabu-abuan, yang menandakan hilangnya vitalitas jaringan sehingga mengakibatkan jringan tidak berbentuk utuh lagi karena pengkerutan nukleus secara menyeluruh (Soegiyanto, 2004).

Vakuolasi merupakan kerusakan pada hepatosit yaitu intisel dan sitoplasma yang sudah tampak lagi dengan ciri-ciri seperti lubang kosong yangn berbentuk bulat yang terjadi karena adanya penimbunan lemak pada tubulus hepatopankreas. Faktor penyebab vakuolasi adalah penumpukan bahan toksik, kekurangan oksigen atau kelebihan konsumsi lemaK (Kartika, 2010).

Mineralisasi biasanya terjadi akibat limbah budidaya seperti sisa pakan, feses dan hasil eksresi yang mengandung nitrogen yang dimana nitrogen dalam kolam terutama berasal dari hasil eksresi, veses, dan sisa pakan serta biota yang mati akan mengalami mineralisasi (Supono, 2017).

Pada udang yang terpapar Vibrio harveyi menunjukkan gejala odema dan piknotik. Odema pada hepatopankreas udang menjadi indikasi adanya inflamasi atau kerusakan pada organ. Pembengkakan akibat penumpukan cairan ini bisa disebabkan oleh infeksi bakteri, virus, atau parasit yang menyerang hepatopankreas. Sedangkan piknotik pada hepatopankreas menunjukkan adanya sel-sel yang mengalami kematian atau kerusakan (Izzah, 2011)



Gambar 5. Profil histologi hepatopankreas udang windu sebelum dan setelah terpapar Vibrio harveyi (Izzah, 2011)

Teknik Hispatologi secara umum dimulai dengan pengambilan sampel jaringan dari organisme hidup atau jaringan post-mortem, yang kemudian diproses melalui serangkaian langkah kritis. Langkah-langkah ini meliputi fiksasi untuk memperjelas struktur jaringan, pemotongan untuk membuat irisan jaringan yang sangat tipis, dan pewarnaan untuk membedakan komponen jaringan. Beberapa teknik yang diterapkan untuk menganalisis sampel yaitu:

#### 1. Pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (H&E):

Teknik standar untuk menampilkan struktur umum jaringan, di mana hematoxylin mengecat inti sel berwarna biru dan eosin mengecat sitoplasma dan komponen ekstraseluler berwarna merah muda. Proses pewarnaan dimulai dengan penerapan hematoxylin, yang memiliki afinitas untuk struktur asam dan menghasilkan warna biru pada inti sel. Hal ini untuk memeriksa detail-detail seperti bentuk, ukuran, dan struktur inti sel, yang bisa memberikan informasi penting tentang kondisi seluler dan kesehatan jaringan. Setelah itu, eosin diaplikasikan. Eosin adalah pewarna basa yang memiliki afinitas untuk struktur seperti sitoplasma, kolagen, dan serat otot, memberikan mereka warna merah muda atau merah. Hal ini membantu dalam membedakan berbagai jenis sel dan komponen jaringan, serta memberikan kontras yang baik terhadap inti yang diwarnai biru oleh hematoxylin (Asih, 2018).

Pewarnaan H&E sangat bermanfaat dalam mikroskopi karena menghasilkan gambaran yang kontras dan detail dari jaringan, yang memudahkan identifikasi struktur seluler dan jaringan. Ini sangat penting dalam diagnosis medis, seperti dalam menentukan jenis dan tahap kanker, serta dalam penelitian untuk memahami struktur jaringan normal dan patologis. Teknik ini juga sering dijadikan sebagai titik awal dalam analisis histopatologis karena kemudahan aplikasinya dan informasi yang kaya yang dapat diberikan Tehrani et al (2023).

#### 2. Pewarnaan Imunohistokimia (IHC):

Pewarnaan Imunohistokimia (IHC) adalah teknik yang digunakan dalam histologi untuk mengidentifikasi keberadaan protein spesifik dalam sel jaringan dengan menggunakan antibodi spesifik yang terikat pada antigen (protein target). Teknik ini memungkinkan deteksi lokalisasi, distribusi, dan intensitas ekspresi protein tertentu di dalam sampel jaringan, yang sangat berguna untuk diagnosis penyakit, khususnya kanker, dan untuk studi penelitian biomedis.

Jaringan yang telah difiksasi dan tertanam dalam parafin diiris tipis dan ditempatkan pada slide. Setelah serangkaian proses deparafinasi dan rehidrasi, jaringan diinkubasi dengan antibodi primer yang spesifik terhadap protein yang ingin dideteksi. Antibodi ini dapat terikat langsung dengan protein target atau dapat dideteksi dengan menggunakan antibodi sekunder yang terkonjugasi dengan enzim seperti peroksidase atau fluorofor. Saat enzim bereaksi dengan substratnya, muncul sinyal berwarna yang menunjukkan lokasi dan keberadaan protein target dalam sampel jaringan (Vijayaraj, 2022).

#### 3. In Situ Hybridization (ISH):

In Situ Hybridization (ISH) adalah teknik yang digunakan dalam biologi molekuler dan histologi untuk mendeteksi keberadaan spesifik urutan DNA atau RNA dalam jaringan atau sel. Teknik ini menggunakan probe nukleotida yang dilabeli (baik dengan radioaktif atau non-radioaktif seperti fluorofor) yang dapat berikatan secara komplementer dengan urutan DNA atau RNA target di dalam sampel jaringan. ISH memungkinkan visualisasi lokasi spesifik dari urutan asam nukleat ini, memberikan informasi tentang ekspresi gen dan organisasi genetik dalam konteks seluler atau jaringan (Jens, 2019).