

BAB I PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Udang windu (*Penaeus monodon*) merupakan udang asli Indonesia yang banyak diminati oleh pasar domestik maupun mancanegara, termasuk Eropa. Harga yang relatif stabil sepanjang waktu sehingga udang windu menjadi salah satu produk unggulan yang menarik untuk dibudidayakan. Komoditi udang diekspor ke berbagai negara tujuan antara lain : Jepang, Rep. Korea, Belgia, Amerika Serikat, Inggris, Vietnam, Puerto Rico, Australia, China, Belanda, Prancis, Jerman, Rusia, Taiwan, Italia, Canada (Pantjara *et al.*, 2021). Nilai ekspor udang windu di tahun 2014 sejumlah 43.865,00 ton mengalami penurunan di tahun 2015 menjadi 40.346,70 ton dan di tahun 2016 meningkat sebesar 41.685,90 ton, tapi belum menyamai produksi di tahun 2014. Tahun 2019 nilai produksi udang windu Sulawesi Selatan sebesar 10,370.2 dan mengalami sedikit peningkatan di tahun 2020 sebesar 10,595.5 (DKP SulSel, 2023). Data terbaru tahun 2024, produksi udang windu Sulawesi Selatan tahun 2022-2023 sangat menurun dengan total produksi sementara sebesar 4,847.4 ton (PPID Sulawesi Selatan, 2024). Kecenderungan penurunan nilai ekspor tentunya kembali kepada nilai produksi yang menurun di tingkat budidaya.

Berdasarkan pada hasil identifikasi permasalahan budidaya udang windu, terdapat sedikitnya empat faktor penyebab tambak pembesaran udang windu gagal berproduksi, yaitu kualitas benih yang rendah (benih bermutu yang kurang tersedia), banyaknya wabah hama dan penyakit, daya dukung lahan dan kualitas air cenderung menurun, dan lingkungan tempat budidaya yang terkontaminasi (Pantjara *et al.*, 2021; Febri *et al.*, 2024). Penyakit infeksi sangat banyak ditemukan sebagai penyebab kematian pada udang di tambak maupun perbenihan (Prabowo *et al.*, 2015; Hidayani *et al.*, 2015), bahkan seringkali menyebabkan gagal panen. Penyakit infeksi ini diantaranya dapat disebabkan oleh serangan bakteri dan virus. Bakteri dan virus yang banyak ditemukan menginfeksi adalah *V. harveyi* dan white spot syndrome virus (WSSV) (Yanti *et al.*, 2017; Koesharyani *et al.*, 2015), taura syndrome virus (TSV) dan yellow head virus (YHV) (Smith *et al.*, 2003). Menurut Latritiani *et al.* (2017) bahwa infeksi virus dapat terjadi pada udang di tambak dapat disebabkan oleh beberapa hal yang terkait pada sistem *biosecurity* tambak, tidak tersedianya tempat pengelolaan air masuk dan keluar dari tambak pemeliharaan (tandon) ataupun penyaringan air, jadwal pemasukan dan manajemen kualitas air, adanya *carier* yang disebabkan oleh organisme lain yang masuk ke dalam tambak, serta pakan yang kurang tepat.

Berbagai upaya telah dilakukan melalui riset untuk mengatasi infeksi penyakit bakteri dan virus pada udang windu. Penggunaan antibiotik sudah tidak disarankan yang dapat ditimbulkan (Sanchez & Demain, 2015; Rocha *et al.*, 2016; Kusmarwati *et al.*, 2017), sehingga penanganan penyakit dengan bahan-bahan bioaktif alami seperti yang terdapat pada umumnya memiliki nutrisi dan senyawa metabolit sekunder yang diantaranya untuk meningkatkan imunitas (Palette, 2017). bioaktif alami seperti daun miana (*Coleous scutellarioides* L. satu tumbuhan yang sudah dikaji melalui beberapa riset terhadap



kemampuannya meningkatkan imunitas karena memiliki kandungan senyawa aktif yang dapat meningkatkan respon imun (Rosnizar *et al.*, 2017) dan berfungsi sebagai imunomodulator (Pakadang *et al.*, 2015) serta pemanfaatannya sebagai obat.

Daun miana diketahui memiliki senyawa bioaktif yang telah digunakan sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan. Daun miana telah diuji fitokimia oleh beberapa peneliti sebelumnya dan mengandung asam rosmarin, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, minyak atsiri, fenol, lemak, fitosterol, kalsium oksalat, dan senyawa peptide (Saraswati *et al.*, 2016; Ridwan dan Ayunita, 2007; Mutiakum *et al.*, 2010). Daun miana telah diketahui secara *in-vitro* memiliki aktivitas antibakteri yang menyamai kemampuan antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. (Basir *et al.*, 2024). Selanjutnya telah diujicobakan pula perendaman ekstrak daun miana pada udang vanamei yang terinfeksi *Vibrio alginolyticus*, dan menunjukkan pemulihan setelah 4 kali perendaman selama 4 hari (Basir *et al.*, 2023). Efek farmakologis yang terjadi pada kultivan diduga karena senyawa bioaktif yang dikandung oleh daun miana.

Pencegahan infeksi penyakit pada budidaya udang penting dilakukan dengan semakin meningkatnya pencemaran yang beresiko terhadap kerusakan lingkungan budidaya. Upaya pencegahan dapat dilakukan dengan cara meningkatkan sistem imun udang melalui penggunaan imunostimulan ke dalam pakan. Sistem imun dapat diketahui meningkat dengan menganalisis komponen atau parameter-parameter imun pada udang. Parameter imun yang penting untuk diketahui dengan mengukur sistem imun udang melalui pengukuran *total hemocyte count* (THC), aktifitas fagositosis, dan respon phenol oksidase (PO) (Muahhidah *et al.*, 2022; Kilawati & Islamy, 2021; Noble *et al.*, 2023). Sementara komponen imun yang dianggap sangat respon terhadap aktivitas virus adalah interferon (Li *et al.*, 2015; Kulkarni *et al.*, 2020; Limkul *et al.*, 2022). Pengukuran interferon penting pula dilakukan untuk mengetahui responnya terhadap infeksi bakteri dan virus yang terjadi pada udang.

Pemanfaatan ekstrak daun miana ungu sebagai imunostimulan pada udang belum banyak dikaji, sehingga percobaan penggunaan ekstrak daun miana ke pakan udang dianggap penting untuk dilakukan. Kemampuan daun miana sebagai bahan imunostimulan penting untuk diketahui dalam mencegah infeksi bakteri, virus ataupun infeksi ganda bakteri dan virus pada udang. Selain itu potensi efek farmakologi ekstrak daun miana penting pula diketahui terhadap kondisi histologi udang. Selain berpotensi sebagai imunostimulan dan obat, ekstrak daun miana berpotensi toksik juga terhadap udang. Metabolit sekunder tumbuhan jika dikonsumsi secara berlebihan akan menyebabkan efek toksik terhadap kultivan, seperti halnya daun miana (Artantyo *et al.*, 2022; Ridwan *et al.*, 2020).

Hepatopankreas merupakan jaringan yang sangat sensitif terhadap perubahan terutama bahan yang dapat mencemari lingkungan serta ran berbahaya seperti ammonia dan zat toksik lainnya, termasuk ng menginfeksi (Dharmawan *et al.*, 2020). Oleh karena itu perlu kondisi histologis hepatopankreas pada udang yang mengkonsumsi sebagai campuran pada pakan, dan setelahnya ditantang dengan



1.2 Landasan Teori

White spot syndrome virus (WSSV) merupakan penyakit infeksi yang paling banyak menimbulkan kerugian secara ekonomi akibat gagal panen yang terjadi pada tingkat perbesaran di tambak. Serangan penyakit *white spot* di Indonesia pertama kali dilaporkan pada areal pertambakan udang windu di Tangerang, Serang, dan Karawang pertengahan tahun 1994 (Mahardika *et al.*, 2004). Penyebaran WSSV sangat cepat dan tinggi, dan dapat mengakibatkan kematian mencapai 100% dalam waktu 3-10 hari sejak timbulnya gejala klinis (Wittefeldt *et al.*, 2004; Rahma *et al.*, 2014). Virus *white spot* yang dikenal dengan nama bintik putih dapat menginfeksi udang pada semua stadia pemeliharaan, mulai dari post larva hingga ukuran dewasa. Penularan WSSV dapat terjadi melalui induk dan menularkan ke larvanya, dapat melalui air (*waterborne transmission*) yang terkontaminasi, kanibalisme, kotoran udang yang terinfeksi, makanan alami ataupun makanan segar jenis krustasea maupun hama tambak jenis krustasea (Chang *et al.*, 1996; Rahma *et al.*, 2014).

Kondisi yang memperburuk diduga karena infeksi yang terjadi oleh virus diikuti pula oleh infeksi bakteri *Vibrio* spp. Infeksi patogen yang bersamaan (infeksi ganda) inilah yang mempercepat tingkat kematian. Virus sindrom bintik putih (WSSV) dan spesies *vibrio* adalah patogen utama yang dengan cepat menyebabkan tingkat kematian yang tinggi dalam budidaya udang (Flegel, 2006; Longyant *et al.*, 2008). Phuoc *et al.* (2009) melaporkan juga bahwa tubuh udang yang sudah tertular *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dapat dengan mudah tertular oleh bakteri *Vibrio* spp.

Imunitas merupakan kemampuan individu untuk mempertahankan tubuhnya dari serangan penyakit. Sementara pada udang itu sendiri, sistem imun pada tubuhnya merupakan sistem pertahanan non spesifik. Sistem Imunitas non spesifik merupakan sistem pertahanan tubuh (bawaan) terhadap berbagai serangan substansi asing (mikroorganisme, parasit, alergi dan sebagainya) tanpa memerlukan pengenalan terlebih dahulu. Sistem imunitas non spesifik akan bekerja dan merespon benda asing walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar zat tersebut (Luthfianto *et al.*, 2023).

Komponen sistem imun non spesifik pada udang windu meliputi fisik, seluler dan humoral (Ekawati *et al.*, 2012; Amparyup *et al.*, 2013; Darwanti *et al.*, 2016). Pertahanan fisik yang berperan sebagai pertahanan terluar pada udang adalah kulit, sedangkan sistem imun seluler terdiri dari Hemosit dan *fixed phagocytes* (sel yang tidak bergerak yang tersebar pada insang, jantung, dan jaringan pengikat). Faktor pertahanan humoral seperti protein antikoagulan, aglutinin (seperti lektin), enzim hidrolitik dan peptide antimikroba yang dihasilkan oleh dan akibat aksi sel imun (Rengpipat *et al.*, 2000; Kurniawan, 2018).

Sistem imun non spesifik humoral penting juga diketahui kaitannya dengan sistem imun seluler udang. Enzim lisozim, lektin tipe-C dan enzim *phenol oxidase* (PO)



ari system pertahanan non spesifik humoral. Masing-masing dari al tersebut bertujuan sama, yaitu memusnahkan patogen yang uuh udang yang menimbulkan gangguan fungsi di dalam tubuh ise merupakan enzim utama yang berperan memproduksi melanin am bentuk proPO tidak aktif. ProPO kemudian diaktifkan untuk g memicu melanisasi dan mengaktifkan mekanisme pertahanan, nkapsulasi, pembentukan nodul, fagositosis, dan menggerakkan

hemosit. Hemosit kemudian membentuk zat bakterisida yang dapat meningkatkan perlawanan udang terhadap patogen (Kumar *et al.*, 2023).

Fitokimia merupakan senyawa bioaktif kimia yang diproduksi alami oleh tumbuhan melalui metabolisme primer atau metabolisme sekunder. Analisis senyawa bioaktif dapat dilakukan dengan uji Fitokimia dan uji *Gas Chromatography-Mass Spektrometry* (GCMS). Fitokimia merupakan kajian ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi senyawa kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan (Julianto, 2019). *Gas Chromatography Mass Spectrophotometry* (GCMS) merupakan salah satu alat kimia yang banyak digunakan dalam analisis senyawa dalam tanaman obat seperti minyak esensial, asam lemak, hidrokarbon, lipid dan lain-lain. Metode ini sederhana, sensitif dan efektif dalam memisahkan komponen suatu campuran. Selain itu, GCMS merupakan alat untuk identifikasi senyawa-senyawa bioaktif yang dapat diandalkan (Surahmaida *et al.*, 2018).

Daun miana dikenal oleh masyarakat memiliki banyak kegunaan, terutama digunakan sebagai obat untuk mengatasi berbagai penyakit. Daun miana dapat digunakan sebagai obat batuk (Wahidah dan Silalahi, 2018), menetralkan racun, radang paru, gangguan pencernaan, dan menghambat pertumbuhan bakteri (Yuniarti, 2008). Daun miana berkhasiat sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan untuk menangani beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Rahmawati, 2008). Efek farmakologis dari daun miana disebabkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan merupakan senyawa bioaktif yang disebut fitokimia (Duru and Onyedineke, 2010).

Histopatologi sangat penting dalam kaitannya dengan diagnosis penyakit. Melalui pengamatan histopatologi dapat diketahui apakah tubuh kulturan mengalami infeksi atau tidak. Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan dan diamati setelah kematian terjadi. Ini dapat dilakukan terhadap udang yang sakit, diduga sakit, dan yang sudah mati. Kondisi infeksi pada udang dapat juga diketahui melalui pengamatan jaringan atau bagian tubuh yang mengalami kerusakan atau perubahan struktur, dan membandingkan dengan kondisi jaringan yang sehat.

1.3 Rumusan Masalah

Penyakit yang sering dijumpai menginfeksi udang pada saat budidaya berasal dari kelompok bakteri dan virus. Penyakit ini dapat mengakibatkan kematian massal dalam waktu singkat dan sangat merugikan petambak. Berbagai upaya terus dilakukan melalui riset untuk mendapatkan strategi penanganan dan pengelolaan kesehatan ikan. Penanganan dilakukan dengan berbagai bahan yang diberikan melalui pakan, perendaman, maupun melalui injeksi. Bahan bioaktif alami sudah banyak dikaji pemanfaatannya dalam meningkatkan imunitas, ataupun sebagai obat alami untuk a udang. Bahan alam yang mengandung senyawa aktif yang imunostimulan ataupun obat alami salah satunya adalah daun akan diuji cobakan untuk meningkatkan imunitas pada udang itu perlu menetapkan rumusan masalah dari penggunaan bahan kut :



tif apa saja yang terkandung pada daun miana ungu yang bahan imunostimulan ?

2. Pada konsentrasi berapa ekstrak daun miana ungu yang terbaik menghasilkan total hemosit, fagositosis, sintasan, dan pertumbuhan udang windu?
3. Pada konsentrasi berapa ekstrak daun miana ungu yang menghasilkan kondisi histopatologi hepatopankreas dan ekspresi gen interferon udang windu yang terbaik setelah terpapar bakteri dan virus?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Menganalisis komponen bioaktif yang terkandung pada daun miana ungu yang berpotensi sebagai imunostimulan,
2. Menganalisis dosis terbaik ekstrak daun miana ungu pada pakan terhadap total hemosit, fagositosis, sintasan, dan pertumbuhan udang windu.
3. Menganalisis dosis terbaik ekstrak daun miana ungu pada pakan terhadap kondisi histopatologi hepatopankreas dan ekspresi gen interferon udang windu yang mengkonsumsi pakan ekstrak daun miana kemudian terpapar bakteri dan virus.

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian sebagai berikut :

1. Dapat menjadi acuan terhadap penggunaan daun miana dalam budidaya udang windu,
2. Dapat menjadi rujukan untuk pengembangan riset selanjutnya dalam meningkatkan kesehatan dan kekebalan tubuh udang.

1.6 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian meliputi penentuan komponen bioaktif yang dimiliki oleh daun miana serta kajiannya sebagai imunostimulan pada pakan.

1.7 Kebaruan Penelitian

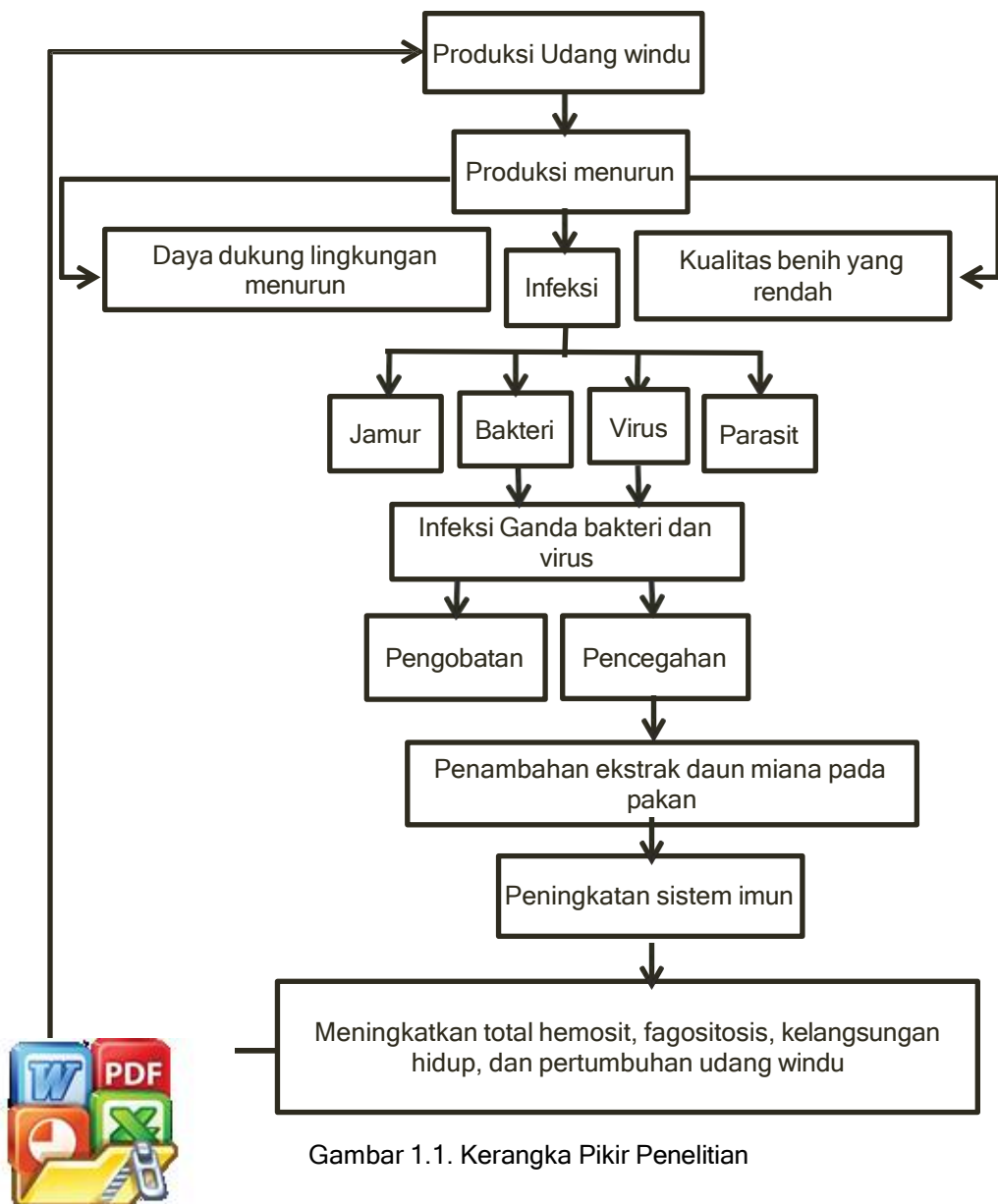
Penelitian terkait penggunaan ekstrak daun miana ungu sebagai imunostimulan pada pakan dan pengaruhnya terhadap parameter imun dan kondisi histopatologi udang windu belum ditemukan. Salah satu parameter imun yang penting diandalkan didalam mendeteksi keberadaan virus pada *crustaceae* termasuk udang windu yaitu interferon (IRF), termasuk dalam hal ini deteksi interferon pada udang windu (pmIRF) yang mengkonsumsi pakan yang mengandung ekstrak daun miana. Pengetahuan terhadap interferon pada udang yang mengkonsumsi ekstrak daun miana belum ditemukan, hubungannya dengan keberadaan white spot syndrom virus dan *Vibrio harveyi* yang masuk ke dalam tubuh udang. Penelitian ini mencoba menganalisis kemampuan daun miana terhadap kekebalan tubuh udang dan hubungannya dengan



2. Penambahan ekstrak daun miana dosis tertentu pada pakan dapat meningkatkan total hemosit, fagositosis, sintasan dan pertumbuhan udang windu.
3. Penambahan ekstrak daun miana pada pakan dosis tertentu berdampak terhadap histopatologi hepatopankreas dan ekspresi gen interferon udang windu.

1.9 Kerangka Pikir

Kerangka pikir penelitian ditampilkan pada Gambar 1



Gambar 1.1. Kerangka Pikir Penelitian



pakan komoditas unggulan Indonesia mengalami penurunan oleh beberapa faktor antara lain, kualitas air yang menurun,

manajemen pakan yang kurang terkontrol serta serangan penyakit. Penyakit yang umumnya menginfeksi dan banyak menyebabkan gagal panen berasal dari kelompok Virus (*white spot syndrome virus*) dan bakteri *Vibrio* spp. Terutama infeksi yang secara bersamaan (infeksi ganda) yang terjadi pada saat budidaya.

Penanganan dan pengendalian alternatif mengarah ke penggunaan bahan alami karena penggunaan antibiotik sudah tidak disarankan akibat efek negatif yang ditimbulkan. Efek resistensi akan terjadi pada udang akibat pemberian antibiotik yang dilakukan secara terus menerus, oleh karena itu upaya untuk menggantikan peran antibiotik dengan bahan alami perlu dilakukan. Salah satu bahan alami yang berpotensi digunakan adalah daun miana. Daun miana mengandung senyawa aktif yang dapat berfungsi sebagai imunostimulan maupun sebagai obat. Pengobatan untuk pengendalian virus belum dapat dilakukan secara efektif, sehingga strategi yang dianggap lebih efektif melalui peningkatan kekebalan tubuh udang melalui pemberian *feed additive* yang ditambahkan ke pakan ikan. Kekebalan tubuh meningkat akan berdampak pada sintasan dan pertumbuhan udang yang tinggi.



BAB II ANALISIS KOMPONEN BIOAKTIF DAN PENGGUNAAN EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus scutellarioides* L. Benth) PADA PAKAN TERHADAP TOTAL HEMOSIT, FAGOSITOSIS, SINTASAN DAN PERTUMBUHAN UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)

2.1 Abstrak

Latar belakang. Daun miana dikenal memiliki banyak kegunaan karena komponen aktif metabolit sekunder yang dikandung dapat berfungsi sebagai obat herbal ataupun sebagai imunostimulan. **Tujuan.** Penelitian bertujuan untuk (1) mengetahui komponen bioaktif daun miana yang dapat berfungsi sebagai imunostimulan dan (2) konsentrasi terbaik ekstrak daun miana terhadap total hemosit, fagositosis, sintasan dan pertumbuhan udang windu. **Metode.** Penelitian menggunakan metode eksploratif dan eksperimental. Eksploratif digunakan untuk mengetahui komponen bioaktif daun miana. Eksperimental digunakan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun miana yang ditambahkan pada pakan terhadap total hemosit, fagositosis, sintasan dan pertumbuhan udang windu. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap empat perlakuan tiga ulangan (0, 10, 20, dan 40 g/kg ekstrak pada pakan). **Hasil.** Ditemukan 100 komponen bioaktif daun miana ungu, dan yang berfungsi sebagai imunostimulan sebanyak 30 komponen, antara lain carbamic acid (area 21.13%), thiazole (area 16.16%), cyclotrisiloxane (area 20.50%). Total hemosit pada konsentrasi 0, 10, 20 dan 40 g/kg berturut-turut 2.28×10^5 , 3.82×10^5 , 4.27×10^5 , 6.25×10^5 CFU/mL. Fagositosis 38%, 55%, 60%, 76%. Sintasan 60%, 80%, 76.7%, 86.7%. Bobot individu 1.17g, 1.27g, 1.22g, 2.48g. Berdasarkan uji statistik, perlakuan berpengaruh terhadap aktifitas fagosit dan sintasan dengan konsentrasi terbaik 40 g/kg pakan. Sementara perlakuan memberi respon yang sama terhadap total hemosit dan pertumbuhan individu udang windu selama 30 hari pemeliharaan. **Kesimpulan.** Ekstrak daun miana mengandung 30 komponen bioaktif berpotensi sebagai imunostimulan antara lain carbamic acid, cyclotrisiloxane, dan thiazole. Konsentrasi ekstrak terbaik 40 g/kg pakan selama 30 hari pemeliharaan.

Kata kunci : Fagositosis, Komponen bioaktif, Total hemosit, Udang windu

2.2 Pendahuluan

Metabolit sekunder pada tumbuhan berperan penting dalam aktivitas farmakologi diantaranya berupa tannin, alkaloid, saponin, flavonoid, steroid yang akan bersifat toksik bagi makhluk lain pada kadar tertentu. Efektivitas komponen aktif tersebut bisa berfungsi sebagai obat herbal ataupun sebagai imunostimulan yang dapat ditentukan berupa analisis toksisitas (Artyanto *et al.*, 2022).



Optimized using
trial version
www.balesio.com

dan Cahyono (2014) mengenai uji fitokimia terhadap ekstrak ikan test positif terhadap keberadaan alkaloid, flavonoid, saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai a penelitian sebelumnya telah menganalisis kandungan fitokimia *Coleus scutellarioides* (L) Benth), dan menemukan senyawa aktif

flavonoid (Ridwan dan Ayunita, 2007; Lisdawaty *et al.*, 2008; Mutiatikum *et al.*, 2010; Khattak dan Taher, 2011; Lumbessy *et al.*, 2013), steroid (Ridwan dan Ayunita, 2007), tanin (Ridwan dan Ayunita, 2007; Lisdawaty *et al.*, 2008; Mutiatikum *et al.*, 2010), saponin (Ridwan dan Ayunita, 2007; Mutiatikum *et al.*, 2010), terpenoid (Lisdawaty *et al.*, 2008; Mutiatikum *et al.*, 2010), dan fenol (Khattak dan Taher, 2011). Kandungan dan jenis senyawa kimia yang ditemukan bergantung kepada kesesuaian pelarut yang digunakan, jenis tumbuhan, sumber tumbuhan, serta tujuan dan kepentingan penelitian. Sehingga dianggap perlu melakukan uji Gas chromatography spektrometry massa (GCMS) untuk mengetahui jenis komponen bioaktif daun miana ungu asal Sulawesi Selatan.

Mekanisme pertahanan tubuh krustasea sebagian besar bergantung pada sel-sel darah dan proses hemolim. Hemosit merupakan faktor yang sangat penting dalam sistem pertahanan seluler yang bersifat non spesifik. Smith *et al.* (2003) menjelaskan bahwa hemosit menyimpan *immune reactive* (seperti *peroxinectin*, *antibacterial peptide*, dan *clotting components*) dalam tubuh udang, sehingga kenaikan jumlah total hemosit (THC) merupakan salah satu indikator peningkatan daya tahan tubuh udang. Meningkatnya pertahanan tubuh udang juga dapat diketahui melalui meningkatnya aktivitas fagositosis (AF) sel-sel hemosit. Sel-sel fagositik ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non-spesifik yang secara umum melindungi tubuh inang dari serangan penyakit (Darwanti *et al.*, 2016). Karakteristik yang digunakan untuk mengetahui pengaruh penambahan immunostimulan pada udang adalah jumlah total hemosit, differensial hemosit, dan aktifitas fagositosis (Kajita *et al.*, 1990).

Salah satu faktor utama yang berfungsi untuk mempertahankan dan meningkatkan kesehatan, sintasan dan pertumbuhan udang dalam budidaya adalah pakan. Pakan yang berkualitas adalah pakan yang memiliki kandungan nutrisi yang lengkap dan sesuai dengan kebutuhan udang, termasuk untuk menunjang kesehatan udang. Kesehatan udang sangat dipengaruhi oleh input makanan serta kondisi parameter kualitas air. Pakan dapat ditingkatkan kualitasnya dengan menambahkan suplemen atau *feed additive* ke dalam pakan dengan tujuan untuk meningkatkan performa udang. Daun miana adalah salah satu bahan yang dapat ditambahkan ke dalam pakan udang karena memiliki efek dapat meningkatkan fungsi imun. Fungsi imun meningkat akan meningkatkan kesehatan udang yang berdampak pada nafsu makan ikan meningkat, pencernaan meningkat dengan meningkatnya mikroflora usus, sehingga pakan akan dimanfaatkan secara maksimal oleh udang yang menunjang terhadap sintasan dan pertumbuhan udang.

Tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung pada dapat berfungsi sebagai imunostimulan dan mengetahui konsentrasi daun miana terhadap total hemosit, fagositosis, sintasan dan windu



2.3 Metode Penelitian

1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga Oktober 2024. Ekstraksi daun miana dilaksanakan di Laboratorium Hatchery Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Analisis *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS) dilaksanakan di Laboratorium Kimia Terpadu Politeknik Negeri Ujungpandang. Pengujian Total hemosit dan fagositosis dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Biota dan Lingkungan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Muslim Indonesia.

2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), empat perlakuan dengan masing-masing tiga ulangan. Perlakuan menggunakan ekstrak daun miana ungu dengan masing-masing konsentrasi 0, 10, 20, dan 40 gram per kilogram pakan (Huang, *et al*, 2022).

3. Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan menyiapkan simplisia dalam bentuk tepung. Daun miana disiangi dan dicuci kemudian dioven hingga kering pada suhu 60°C. Ditepungkan dan dilarutkan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:5 b/v. Diaduk selama 10 menit lalu didiamkan selama 1 x 24 jam. Larutan disaring menggunakan kertas saring whatman mesh size 45 μ . Filtrat yang dihasilkan ditempatkan pada wadah terpisah, lalu ampas direndam kembali dengan etanol 96% dengan perbandingan pelarut dan waktu yang sama. Perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali atau sampai larutan memudar. Filtrat yang dihasilkan disatukan dalam satu wadah lalu diuapkan sampai ekstrak bertekstur pasta.

4. Uji Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Analisis senyawa bioaktif daun miana menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa/ GC-MS (GCMS Ultra QP2010 Shimadzu). Kondisi instrumen GC-MS pada suhu injektor 250°C dengan mode Splitless, tekanan 76,9 kPa dan laju alir 14 mL/min dan rasio 1:10. Suhu sumber ion dan interface 200°C dan 280°C, waktu solvent cut 3 menit, 400-700 m/z. Jenis kolom SH-Rxi-5Sil MS panjang kolom 30 m dengan diameter dalam 0,25 mm. Suhu awal kolom 700°C dengan waktu tahan 2 menit dan suhu dinaikkan hingga 200°C dengan laju 100°C/min dan suhu akhir 280°C dengan waktu tahan 9 menit dengan laju 50°C/min sehingga total waktu analisa 36 menit. Data kromatogram dibaca menggunakan *library* NIST 17 dan Wiley 9 (SOP Laboratorium kimia Poltek Ujungpandang).

5. Pembuatan Pakan Uji

Pakan uji dibuat dengan mencampurkan ekstrak daun miana ke pakan komersil sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Ekstrak daun miana ditambahkan dengan



strak daun miana secara merata ke permukaan pakan dan diaduk. Pakan lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C atau sampai kering. Pakan uji selanjutnya dianalisis nutrisi (uji engetahui kandungan nutrisi dari pakan yang sudah ditambahkan i. Hasil analisis proksimat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hasil uji proksimat pakan uji

Sampel Uji (g/kg pakan)	% Air	% Abu	% Protein	% Lemak	% Karbohidrat
0	8,17	8,64	34,62	2,35	46,22
10	9,32	9,41	32,82	2,55	45,90
20	9,01	10,01	32,42	2,35	46,21
40	8,72	10,03	33,19	2,35	45,71

6. Pemeliharaan Hewan Uji

Udang windu yang digunakan berasal dari petambak binaan Dinas Kelautan Perikanan kabupaten Pinrang. Udang windu diaklimatisasi dalam bak fiber 0,5 ton yang dilengkapi dengan aerasi selama 3 hari. Selama masa aklimatisasi udang windu diberi pakan komersial tiga kali sehari secara *at satiation*. Percobaan dilaksanakan selama 30 hari dengan menggunakan akuarium yang dilengkapi dengan aerasi. Masing-masing akuarium percobaan diisi dengan 15 ekor udang windu dengan bobot ± 6 gram. Pemberian pakan uji sebanyak 5% dari bobot biomassa udang per hari. Frekuensi pemberian pakan 4 kali sehari pada pukul 07.00, pukul 11.00, 15.00 dan pukul 19.00 WITA.

7. Pengukuran Parameter Imun

Parameter imun yang diukur meliputi *total hemocyte count* (THC) dan aktifitas fagosit

a. Pengukuran Total Hemosit

Pengukuran total hemosit (THC) mengacu pada metode Huynh *et al.* (2018). Hemolimf sebanyak 0,1 mL yang sudah ditambahkan antikoagulan, dihitung dengan menggunakan hemositometer pada mikroskop perbesaran 400 kali. Total hemosit dihitung menggunakan formulasi sebagai berikut :

$$\text{THC (CFU/mL)} = \text{Total sel terhitung} \times (\text{vol.hemasitometer})^{-1} \times \text{pengenceran}$$

b. Pengamatan Aktivitas Fagosit

Pengukuran aktivitas fagosit mengacu pada Anderson and Swicki (1993) yang dimodifikasi oleh Syahailatua (2009), yaitu hemolimf 0,1 mL ditambahkan 25 μL *V. harveyi*, kemudian diinkubasi selama 20 menit. Sebanyak 5 μL ditetaskan pada gelas objek dan dibuat preparat ulas. Selanjutnya difiksasi dengan methanol 100% selama 5 menit dan diwarnai dengan giemsa (10%) selama 15 menit. Preparat kemudian dialiri air secara perlahan selama kurang lebih 5 menit untuk membuang sisa warna giemsa. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop pembesaran 400 kali. Aktivitas fagosit dihitung berdasarkan I yang menunjukkan fagositosis (Cheng *et al.*, 2005), kemudian dengan rumus berikut :



Total sel fagosit yang melakukan aktifitas fagosit

x 100

Jumlah sel yang diamati

8. Mengukur Sintasan

Nilai sintasan dapat diketahui dengan menghitung jumlah hewan uji di awal tebar dengan jumlah hewan uji di akhir percobaan. Selanjutnya data diolah menggunakan formulasi rumus (Haliman & Adijaya, 2005) sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan : SR = Survival rate (sintasan) (%)

N_t = Jumlah udang uji di akhir percobaan (ekor)

N_0 = Jumlah udang uji di awal percobaan (ekor)

9. Pengukuran pertumbuhan

Pengukuran pertumbuhan dilakukan dengan melakukan penimbangan bobot hewan uji pada awal pemeliharaan dan di akhir penelitian, kemudian data tersebut diolah dengan menggunakan formulasi rumus (Effendie, 1997) sebagai berikut :

$$W = W_t - W_0$$

Keterangan :

W = Pertumbuhan bobot mutlak rata-rata individu (g)

W_t = Pertumbuhan Bobot rata-rata akhir percobaan (g)

W_0 = Pertumbuhan Bobot rata-rata awal percobaan (g)

10. Analisis data

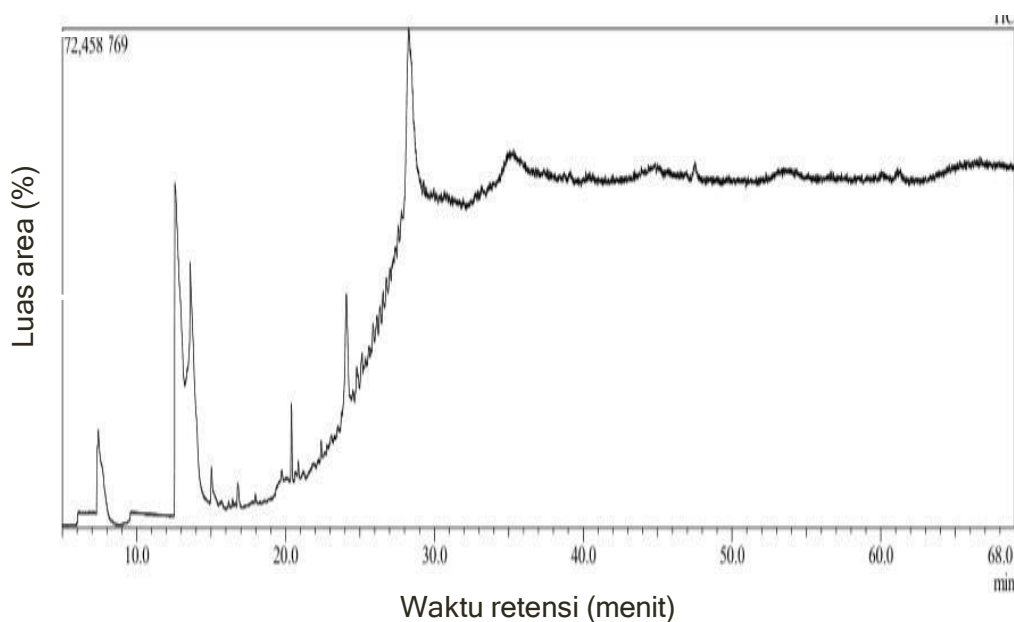
Data komponen bioaktif metabolit sekunder dianalisis secara deskriptif. Data total hemosit dianalisis secara statistik non parametrik kruskal walis. Data fagositosis, sintasan, dan pertumbuhan udang windu dianalisis secara statistik menggunakan *analysis of variance* (ANOVA). Perlakuan yang berpengaruh nyata dilakukan uji lanjut menggunakan uji beda W-Tukey untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan.

2.4 Hasil dan Pembahasan

2.4.1 Hasil analisis Komponen senyawa bioaktif sekunder daun miana ungu

Hasil uji GCMS ekstrak daun miana ungu dapat dilihat pada Gambar 2.1 berikut yang memperlihatkan persentase area yang berbeda-beda.





Gambar 2.1 Hasil GCMS ekstrak daun miana ungu (*Coleus scutellarioideas*)

Berdasarkan hasil uji gas kromatografi spektrometri massa (Gambar 2.1), terdapat 100 komponen bioaktif yang dihasilkan dari uji GC-MS (Lampiran 1). Beberapa komponen bioaktif yang terkandung pada daun miana memiliki persen area tinggi dan dapat berfungsi sebagai imunostimulan. Komponen tersebut antara lain, yaitu carbamic acid dengan area 21.13%, komponen senyawa ini menurut Fernandes *et al.* (2018) memiliki kemampuan atau bioaktivitas antimikroba dan antijamur. Kemudian komponen bioaktif thiazole dengan area 16.16%, yang berfungsi sebagai senyawa yang sangat besar manfaatnya sebagai bahan yang membantu tubuh menghasilkan energi dari karbohidrat selama metabolisme, membantu dalam fungsi normal sistem saraf dengan berperan dalam sintesis asetilkolin neurotransmitter (Siddiqui *et al.*, 2009). Selanjutnya cyclotrisiloxane dengan area 20.50%, yang merupakan komponen senyawa yang dalam aplikasinya berfungsi sebagai antibakterial, antiinflamasi, dan antikanker (Muthukrishnan *et al.*, 2022; Jung & Shin, 2021). Kandungan senyawa aktif berdasarkan kelompok senyawa fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komponen bioaktif ekstrak daun miana ungu



Optimized using
trial version
www.balesio.com

Senyawa	Persen Area	Fungsi	Jenis Senyawa	Struktur
Thiazole	3.38	sebagai feromon, sinyal pertahanan terhadap patogen, antioksidan	Sulfur	CH_3SH
Carbamic acid,	21.13	Pengatur	alkaloid	H_2NCOOH

	methyl ester (CAS)		pertumbuhan, antimikroba, pengatur aktivitas enzim		karbamat (asam amino)	
3.	Thiozalone	16.16	Antioksidan, anti-inflamasi, antifungal		Sulfur	C_3H_3NSO
4.	,3,5 -Trioxane, 2,4,6-trimethyl- (CAS)	0.19	Antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba		Terpenoid (Eter)	$(CH_3)_3C_3O_3$
5.	2-eketanone, 4-methylene- (CAS) diketene	0.14	Antimikroba, pengaturan stres,		Keton alfatik, senyawa folatil	$CH_3COCH_2CH_3$
6.	Acetid acid	0.13	Antibakteri, antifungi dan antivirus, pengatur pH		Asam karboksilat	CH_3COOH
7	Peroxide, bis (1-methylethyl (CAS) isopropyl	0.13	Antimikroba,		Oksidator	H_2O_2
8.	Tricyclo[4.4.0.0.3,8]deca-4,9-diene	0.18	Anti-inflamasi, antioksidan, antimikroba		Terpenoid, hidrokarbon	$C_{10}H_{14}$
9.	Benzene, (1-methyl-1-propenyl)-,(Z) (CAS)	0.38	Anti-inflamasi, antioksidan, antimikroba		Terpenoid, monoterpenoid	$C_{10}H_{12}$
10.	2-Pentanone (CAS) Methyl propyl ketone	0.28	Aromatik, pengawet		Keton, alkanon	$C_5H_{10}O$
11.	Benzene, 2 butenyl-(CAS) 1-phenyl-2-butene	9.68	Anti-inflamasi, antioksidan, antimikroba		Alkenilfenol, fenilpropanoid, monoterpenoid	$C_{10}H_{10}$
12.	1-Phenyl-butene-1-ol	0.24	Antioksidan, antimikroba, pengatur terhadap lingkungan	stres	Fenilpropanoid, alkenilfenol, monoterpenoid	$C_{10}H_{12}O$
	butyl butyl	0.49	Aromatik, pengawet		Ester	$C_6H_{12}O_2$
	acid, (AS)	0.54	Aromatik, penyedap pewangi	agen dan	Ester volatil	$C_6H_{12}O_2$



15.	Acetic acid, [(2-methyl propyl)thio]-(CAS)-2-	0.14	pertahanan, komunikasi kimia, atau aroma	Orgamosulfur, ester tiol	$C_5H_{10}OS$
16.	1-(2H)-quinolinecarboxylic acid, 2.	0.62	antibakteri, antivirus, antiinflamasi.	Quinoline, asam karboksilat aromatik heterosiklik	$C_{10}H_9NO_2$
17.	4-Methyl-1-indanone	0.19	Antioksidan, antimikroba	Indanon, keton, senyawa aromatik	$C_{10}H_{10}O$
18.	Benzeneethanol, ,alpha.,alpha.-dimethyl-,acet	0.15	Antioksidan, antimikroba, aroma	Ester	$C_{12}H_{16}O_2$
19.	4-Phenylpent-3-en-2-one	0.33	Antioksidan, antimikroba, anti-inflamasi, antikanker, pewarna alami	Keton, alkena, chalcone, senyawa aromatik	$C_{11}H_{10}O$
20.	2-(2-Oxobenzopyrrolidin-3-yliden	0.13	Obat-obatan, bahan baku sintesis kimia, pewarna	Heterosiklik, alkaloid	$C_{15}H_{10}N_2O_2$
21.	Cis-3-Undecene-1,5-diyne	0.10	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna	Hidrokarbon alifatik, poliasetilena	$C_{11}H_{16}$
22.	1H-Indene, 1-hesadecyl--2,3,-dihydro- (CAS)	0.09	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami, bahan aktif untuk perawatan kulit dan rambut	Hidrokarbon aromatik	$C_{26}H_{42}$
23.	Cinnamyl N-phenylforminidate	0.11	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Organik, fenolik	$C_{17}H_{15}NO_2$
24.	Pentanoic acid, 4-oxo-, methyl ester (CAS) M	0.11	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Organik, karboksilat, ester	$C_6H_{10}O_3$
	e, 3)	0.12	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Hidrokarbon, aromatik, asam lemak	$C_{27}H_{46}$
	1-3)1-	0.30	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Hidrokarbon, aromatik	$C_{13}H_{18}$



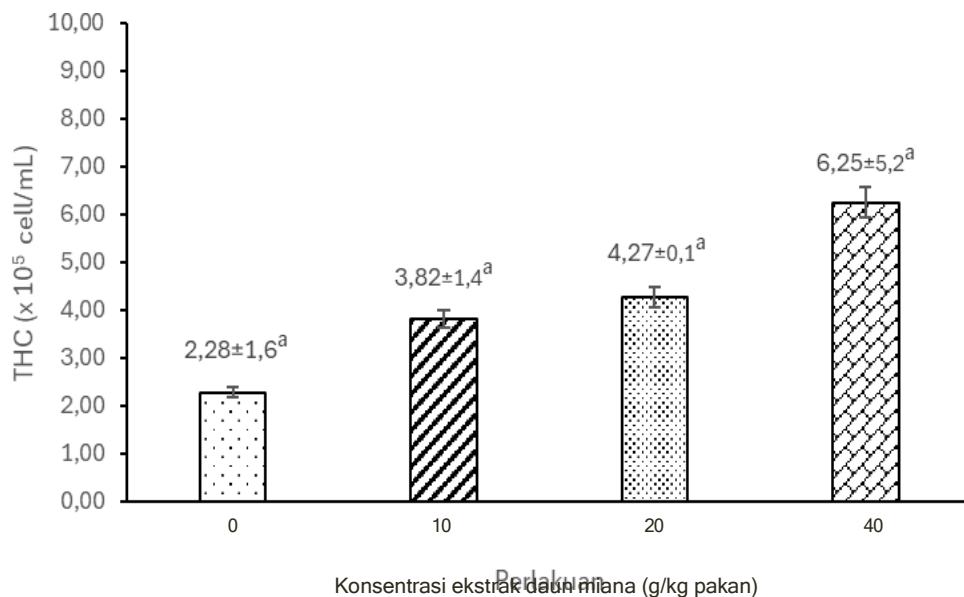
27.	Benzenecacetaldehyde, alpha.-(2-methylprupy	0.15	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Hidrokarbon aromatik	$C_{13}H_{18}O$
28.	Tricyclo(4.2.1.12,5)deca-3,7-diene-9,10-dio	0.10	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Hidrokarbon polisiklik	$C_{10}H_{12}O_2$
29.	Benzene, 2-ethenyl-1,3-dimethyl- (CAS) 2,6-	0.13	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Hidrokarbon aromatik	$C_{10}H_{14}$
30.	Benzenepropunol gurrma.-methyl- (CA) 1-	0.12	Anti-inflamasi, antioksidan, pewarna alami	Hidrokarbon aromatik	$C_{10}H_{12}O$

Kandungan senyawa bioaktif daun miana yang ditunjukkan pada Tabel 2.2, memberikan informasi potensi daun miana sebagai imunostimulan maupun sebagai obat. Daun miana merupakan tumbuhan yang telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional dengan khasiat yang dimiliki, karena mengandung bahan bioaktif yang dapat menyembuhkan beberapa penyakit dan meningkatkan kesehatan tubuh (Salimi, 2021). Daun miana juga telah diujicobakan sebagai antibakteri pada uji *in vitro* (Basir *et al*, 2024), dan dapat menggantikan fungsi antibiotik dengan kemampuan penghambatan yang hampir sama yaitu 28 mm (ekstrak daun miana) dan 30 mm (antibiotik Oxy). Kemampuan penghambatan terhadap bakteri *Vibrio* sp. ini menunjukkan kemampuan senyawa bioaktif yang dimiliki daun miana sebagai antibakteri. Kemampuan daun miana sebagai obat pun telah ditunjukkan terhadap udang vaname yang terinfeksi *Vibrio harveyi*, dan memperlihatkan kondisi pemulihan udang dari gejala sakit. Upaya tersebut dilakukan pada udang yang terinfeksi *Vibrio* sp. melalui perendaman ekstrak daun miana selama 10 menit dalam waktu 4 hari dan 4 kali perendaman (Basir *et al*, 2023). Beberapa penelitian tersebut telah menunjukkan kinerja senyawa bioaktif yang dikandung oleh daun miana dapat berfungsi dengan baik.

2.4.2 Total Hemosit

Nilai total hemosit udang windu yang mengkonsumsi pakan dengan penambahan ekstrak daun miana selama 30 hari pemeliharaan tersaji pada Gambar 2.2.





Keterangan : huruf superscrip yang sama yang mengikuti angka pada setiap batang menunjukkan pengaruh perlakuan yang sama

Gambar 2.2 Total hemosit udang windu selama 30 hari pemeliharaan menggunakan pakan dengan tambahan ekstrak daun miana

Hasil analisis menggunakan kruskal wallis terhadap total hemosit ditemukan bahwa perlakuan penambahan ekstrak daun miana 0, 10, 20, dan 40 g/kg pakan tidak berpengaruh nyata terhadap total hemosit udang windu selama masa pemeliharaan 30 hari. Hasil tersebut menunjukkan bahwa total hemosit udang tidak terpengaruhi oleh penambahan ekstrak daun miana pada pakan. Diduga bahwa komposisi nutrisi pakan perlakuan yang cukup seimbang dan memperlihatkan nilai nutrisi yang cenderung sama sehingga perlakuan tidak memberi pengaruh yang berbeda terhadap nilai total hemosit udang windu. Berdasarkan hasil uji proksimat pakan uji (Tabel 2.1), diketahui bahwa pakan perlakuan 10, 20, dan 40 g/kg ekstrak daun miana pada pakan memiliki selisih nilai nutrisi yang kecil pada setiap parameter.

Penggunaan ekstrak daun miana pada pakan dalam penelitian ini menggunakan waktu pemeliharaan selama 30 hari, diduga memberi dampak yang dapat mengganggu fungsi sel dalam memproduksi hemosit. Waktu pemeliharaan 30 hari mungkin juga



Waktu yang optimal untuk mengamati pengaruh ekstrak. Waktu ini mungkin terlalu lama sehingga udang sudah kembali pada keadaan normal atau mungkin karena kondisi stres pada udang sehingga dalam waktu yang berbeda tetap memberikan efek yang tersamarkan terhadap

penggunaan yang relatif pendek, memperlihatkan pengaruh yang signifikan. Selanjutnya waktu pemeliharaan yang lama akan menyebabkan penurunan total hemosit dan kemudian adanya kecenderungan efek ekstrak tersamarkan. Huang *et al.* (2023) dalam hasil risetnya menggunakan ekstrak *Bidens alba* dan *Plectranthus amboinicus* terhadap total hemosit udang vaname, menjelaskan bahwa penambahan ekstrak *B. alba* maupun *P. amboinicus* (10, 20, dan 40 g/kg pakan) memberi respon yang sama terhadap total hemosit udang vaname selama 28 hari pemeliharaan. Hanya perlakuan *P. amboinicus* 40 g/kg pakan memberi pengaruh yang berbeda dengan kontrol (0 g/kg ekstrak pada pakan) terhadap total hemosit udang vaname. Lebih lanjut dijelaskan bahwa total hemosit tertinggi ditemukan pada hari ke-7 pemeliharaan, selanjutnya terjadi penurunan total hemosit sampai hari ke-28 pemeliharaan.

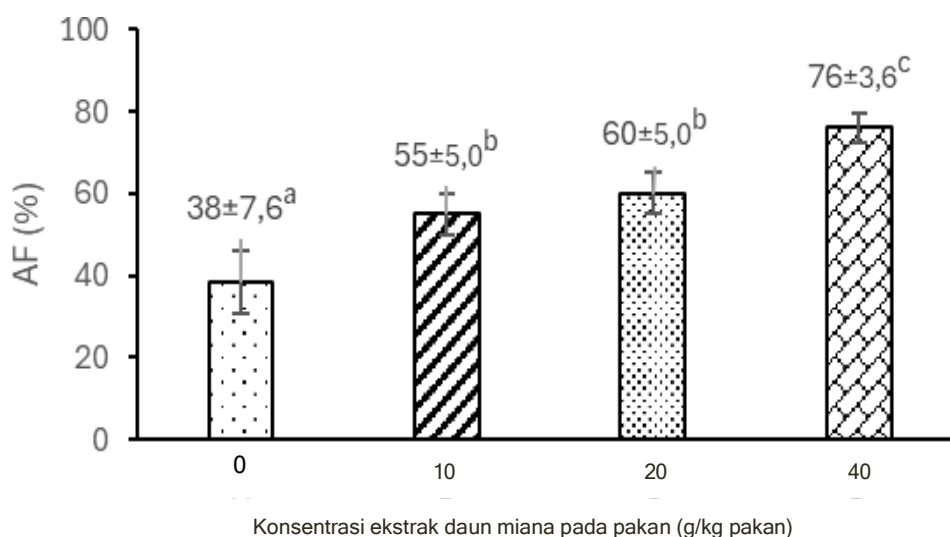
Dilaporkan pula oleh Satyantini *et al.* (2016) terhadap hasil penelitian yang telah dilakukan menggunakan ekstrak *Gracillaria verrucosa* sebesar 0, 1, 2, 3, dan 4% ke dalam pakan udang galah. Penelitian dilakukan dalam masa pemeliharaan yang pendek, yaitu 14 hari terhadap total hemosit. Demikian pula hasil riset Fadillah *et al.*, (2019) yang menggunakan ekstrak daun mangrove yang ditambahkan pada pakan selama 10 hari pemeliharaan pada udang vaname menghasilkan total hemosit tertinggi dan berbeda dengan perlakuan lainnya, yaitu pada konsentrasi tertinggi 2% ekstrak pada pakan.

Berdasarkan pada beberapa temuan riset tersebut menunjukkan bahwa penggunaan komponen bioaktif sebagai imunostimulan, dapat meningkatkan total hemosit udang dengan penggunaan dosis yang optimum tidak lebih dari 20% dan lama penggunaan berkisar antara 7-20 hari pemeliharaan. Menurut Febriani *et al.* (2013) bahwa dosis pemberian imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan kultivan, sementara dosis pemberian yang rendah kurang efektif untuk menstimulasi respon imun.

2.4.3 Aktiivitas fagositik

Persentase Aktifitas fagosit hemosit udang windu terhadap bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.3.





Keterangan : huruf superscrip yang berbeda yang mengikuti angka pada setiap batang menunjukkan pengaruh perlakuan yang berbeda

Gambar 2.3 Fagositosis hemosit udang windu terhadap bakteri

Hasil analisis statistik menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap aktifitas fagosit sel darah udang windu. Hal tersebut menunjukkan penambahan ekstrak daun miana 40 g/kg pakan menghasilkan nilai fagositosis tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Aktifitas fagosit pada perlakuan 0 g/kg ekstrak pada pakan daun miana memiliki aktifitas fagosit terendah dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Aktifitas fagosit pada penambahan daun miana 10 dan 20 g/kg pakan memberi pengaruh yang tidak berbeda nyata. Berdasarkan Gambar 2.3 terlihat bahwa aktifitas fagosit sel darah pada udang windu meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun miana pada pakan. Hasil tersebut menunjukkan kemampuan daun miana dalam meningkatkan aktifitas fagosit secara signifikan, sehingga membantu dalam menunjang sintasan udang windu (Tabel 2.3).

Penambahan ekstrak tertinggi (40 g/kg pakan) menghasilkan aktifitas fagosit hemosit terbaik, menunjukkan kemampuan daun miana memacu hemosit melakukan fagositosis. Fagositosis akan terjadi pada sel darah ketika benda asing berupa bakteri ataupun virus masuk ke dalam tubuh udang. Kemampuan sel dalam melakukan fagositosis terhadap benda asing sangat bergantung kepada *support system* dalam miana mengandung senyawa aktif carbamic acid, acetic acid (asam butirat) yang tersedia pada daun miana (Tabel 2.2). aktif tersebut dapat memperbaiki kondisi sel darah maupun udang. Kondisi jaringan tubuh yang sehat dapat meningkatkan ngsi sel darah untuk melakukan fagositosis.

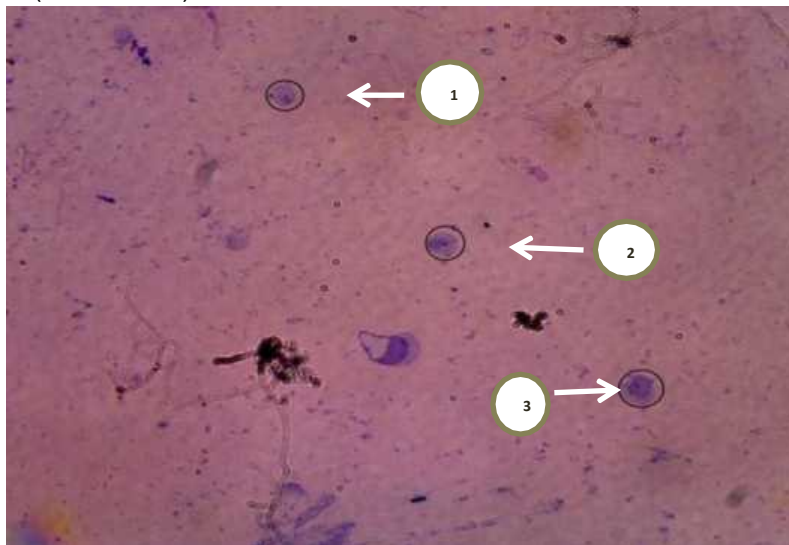


g terkandung pada daun miana (Tabel 2.2) dapat menjadi sumber sel-sel usus. Asam butirat berperan dalam berbagai proses dalam

tubuh seperti kekebalan tubuh alami, induksi apoptosis, dan pengaturan air dan elektrolit. Asam butirat merupakan metabolit penting dalam pemecahan lemak, karbohidrat, dan protein (Karimi & Vahabzadeh, 2014). Selain itu, daun miana juga memiliki kandungan asam rosmarin yang tinggi yang bertindak sebagai antioksidan dalam membantu meningkatkan fungsi-fungsi organ tubuh. Terutama terhadap parameter imun udang dalam meningkatkan pertahanan tubuh udang terhadap penyakit infeksi.

Acetic acid (cuka) yang terkandung pada daun miana (Tabel 2.2) merupakan salah satu obat tradisional yang dapat digunakan untuk melawan infeksi. Beberapa penelitian menunjukkan cuka berpotensi memperbaiki obesitas, diabetes, gangguan kardiovaskular, kanker, dan infeksi mikroba (Samad *et al.*, 2016). Oleh karena itu, kehadiran acetic acid pada daun miana sangat membantu aktivitas fagositik hemolim dan juga meningkatkan kinerja parameter imun lainnya.

Aktivitas fagositik hemosit terhadap bakteri ditandai dengan sel yang nampak menebal dan berisi (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Sel Darah Melakukan Fagositosis (1, 2, 3)

Aktivitas sel darah melakukan fagositosis pada Gambar 2.4 dilakukan di bawah mikroskop elektron dengan perbesaran 400 kali. Aktivitas hemosit fagosit telah diketahui merupakan mekanisme pertahanan nonspesifik utama terhadap invasi organisme patogen pada invertebrata (Rengpipat *et al.*, 2000). Aktivitas fagosit berfungsi aktif dalam menjaga kesehatan udang dari invasi patogen pada setiap siklus udang, dan seiring dengan penambahan ekstrak daun miana pada pakan menunjukkan data terhadap hemolim yang melakukan fagositosis. Berdasarkan 100 komponen senyawa bioaktif yang pada umumnya merupakan obat menunjang kekebalan tubuh udang sehingga berpengaruh fagosit hemolim udang. Penelitian sebelumnya oleh Huang *et al.* (2016) terhadap *Bidens alba* (ketul) dengan kombinasi *Plectranthus amboinicus*



(daun jinten) yang ditambahkan ke pakan dengan konsentrasi yang menghasilkan respon imun (THC, PO, dan fagositosis) terbaik sebesar 20 g/kg pakan

2.4.4 Sintasan

Kesehatan udang meningkat akan menunjang pula pada keberlangsungan hidup udang windu. Melalui percobaan ini dapat diketahui bahwa sintasan udang windu tertinggi terdapat pada perlakuan penambahan ekstrak daun miana 40 g/kg pakan sebesar 86,67%. Sementara sintasan terendah pada perlakuan pakan tanpa penambahan ekstrak daun miana (0 g/kg) sebesar 60% (Tabel 2.3). Berdasarkan analisis ragam menunjukkan perlakuan penambahan ekstrak pada pakan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap sintasan udang windu.

Tabel 2.3 Rerata Sintasan Udang Windu Selama 30 Hari Pemeliharaan

Perlakuan (g/kg)	Ulangan			Rerata (%) $\pm$ SD
	1	2	3	
0	50	70	60	60,00 $\pm$ 10 ^a
10	90	80	70	80,00 $\pm$ 10 ^{ab}
20	70	90	70	76,67 $\pm$ 11,55 ^{ab}
40	90	90	80	86,67 $\pm$ 5,77 ^b

Keterangan : Superscript yang berbeda mengikuti angka pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda.

Berdasarkan Tabel 2.3 menunjukkan bahwa sintasan udang windu paling tinggi pada penambahan 40 g ekstrak daun miana ke dalam 1 kg pakan, berbeda nyata pada konsentrasi 0 g/kg tetapi tidak berbeda nyata pada penambahan daun miana 10 g dan 20 g ke dalam 1 kg pakan. Sintasan udang windu paling rendah pada penambahan daun miana 0 g/kg pakan, tetapi tidak berbeda nyata dengan penambahan 10 dan 20 g daun miana ke dalam 1 kg pakan. Hasil uji beda nyata (Lampiran 5) terlihat bahwa penambahan ekstrak daun miana 40 g/kg pakan berbeda dengan perlakuan tanpa penambahan ekstrak daun miana pada pakan. Temuan tersebut memberikan informasi bahwa ekstrak daun miana yang ditambahkan ke dalam pakan mampu menunjang sintasan udang windu selama pemeliharaan dengan sintasan tinggi dibandingkan dengan perlakuan pemberian pakan tanpa ekstrak daun miana.

Nilai positif yang ditunjukkan oleh sintasan yang lebih tinggi pada penggunaan pakan dengan tambahan ekstrak daun miana menunjukkan pula bahwa ekstrak daun miana mampu meningkatkan imun sehingga mampu memperbaiki kesehatan udang (Darwanti *et al*, 2016). Kesehatan udang meningkat akan mendukung terhadap sintasan dan pertumbuhan udang windu. Penggunaan pakan yang disuplementasi



daun miana mampu meningkatkan ketahanan tubuh udang terhadap penyakit. Peningkatan ketahanan ini penting diketahui untuk memastikan udang mampu beradaptasi dengan baik terhadap kondisi kualitas air yang buruk yang ada di dalam media pemeliharaan. Ketahanan tubuh yang tinggi akan mendukung sintasan hidup udang yang lebih tinggi.

Penelitian sebelumnya (Sugeng *et al*, 2014) dan Gupta & Doss (2022) bahwa senyawa karbamat yang ditambahkan ekstrak daun miana merupakan ester asam karbamat yang biasa digunakan

sebagai insektisida. Senyawa ini disebut sebagai N-metilkarbamat. Turunan dari asam karbamat, asam tiokarbamat, dan asam ditiokarbamat digunakan sebagai herbisida. Bila digunakan dengan benar, pestisida karbamat memberikan manfaat yang signifikan bagi organisme, karena dapat melindungi dan meningkatkan produksi. Senyawa karbamat juga dapat memulihkan kesehatan manusia dan hewan dari penyakit yang disebabkan oleh serangga. Namun, paparan pestisida yang berlebihan pada manusia dan hewan dapat mengakibatkan keracunan. Insektisida N-metilkarbamat bersifat toksik dengan cara menghambat kerja enzim asetilkolinesterase. Tanda-tanda toksik yang terjadi, yaitu timbulnya aktivitas hiperkolinergik. Namun demikian herbisida karbamat memiliki toksisitas yang rendah pada mamalia (Gupta 2018; Gupta & Doss, 2022).

Penelitian sebelumnya dengan penggunaan imunostimulan dari protein membran zoothamnium penaeid yang diberikan melalui perendaman mampu meningkatkan sintasan udang vaname dari 26% menjadi 83%. Aplikasi imunostimulan dari protein tersebut diterapkan juga di tambak untuk udang windu dan dapat meningkatkan sintasan udang windu dari 16% menjadi 78% (Gustrifandi, 2013).

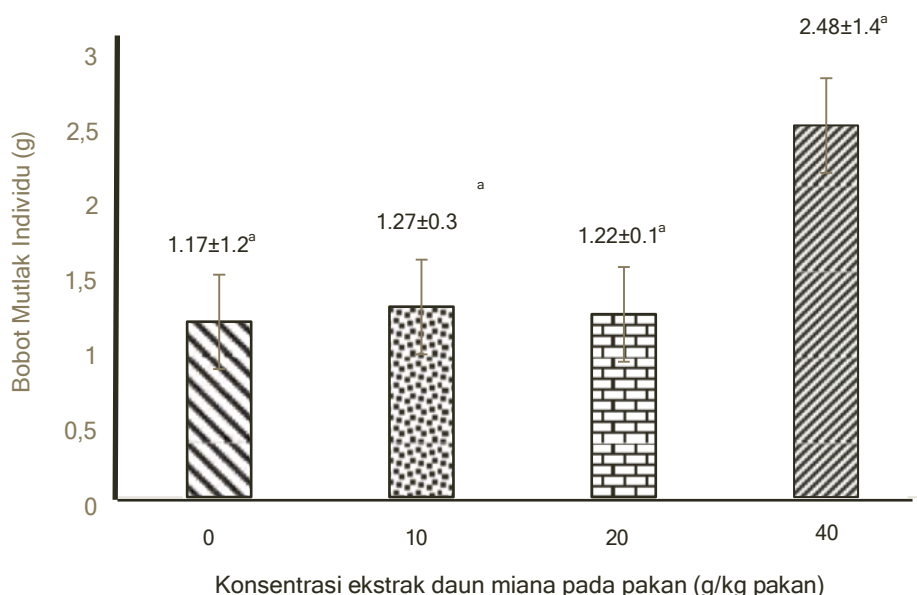
Daun miana telah diketahui memiliki kandungan antioksidan yang tinggi dan sangat kuat, dengan IC_{50} berkisar antara 33,768-48,04 ppm (Afifah *et al*, 2015; Giuliana *et al.*, 2015). Nilai IC_{50} tersebut merupakan kategori antioksidan sangat kuat, karena berada di bawah angka 50 (Badarinath *et al*, 2010). Menurut Molyneux (2004) bahwa aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi lima kategori, yaitu sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah. Kategori sangat kuat apabila memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, antioksidan kategori kuat memiliki nilai IC_{50} pada kisaran 50 ppm hingga 100 ppm, antioksidan kategori sedang memiliki nilai IC_{50} antara 100 ppm hingga 150 ppm, antioksidan kategori lemah dengan nilai 150 ppm hingga 200 ppm dan kategori sangat lemah dengan nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm. IC_{50} adalah singkatan dari Inhibitory Concentration 50%, yang berarti bahwa konsentrasi suatu senyawa yang dibutuhkan untuk menghambat suatu proses biologis (misalnya aktivitas enzim atau pertumbuhan sel) sebanyak 50% (Aykul & Hackert, 2016).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal efek negatif oksidan, dan stress pada udang. Dapat menghambat atau menetralkan efek radikal bebas di dalam tubuh, sehingga melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul tidak stabil yang dapat merusak sel, protein, dan DNA. Jika dibiarkan berlebihan, radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif, yang dikaitkan dengan berbagai penyakit. Diketahui pula bahwa antioksidan merupakan suatu senyawa yang pada konsentrasi tertentu dapat menghambat terjadinya kerusakan yang terjadi akibat proses oksidasi (Sayuti & Enrina, 2015). Kandungan antioksidan yang tinggi pada daun miana merupakan hal yang penting dalam menunjang kesehatan udang dan mencapai /ang tinggi.



obot Individu Rata-Rata Udang Windu

ihnan bobot individu udang windu selama masa percobaan dapat 2.5.



Keterangan : huruf superscrip yang sama yang mengikuti angka pada setiap batang menunjukkan pengaruh perlakuan yang sama

Gambar 2.5. Rerata pertumbuhan bobot individu udang windu yang dipelihara selama 30 hari dengan tambahan ekstrak daun miana pada pakan.

Data pada Gambar 2.5 menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak daun miana pada pakan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap pertumbuhan bobot individu udang windu selama masa pemeliharaan. Perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bobot individu udang diduga karena pakan perlakuan memiliki persentase komposisi nilai nutrisi yang hampir sama. Berdasarkan data hasil uji proksimat (Tabel 2.1) dapat diketahui bahwa kandungan nutrisi protein pada pakan perlakuan sebesar 32,42-34,62%, karbohidrat sebesar 45,71-46,22%, lemak sebesar 2,35-2,55%, abu sebesar 8,64-10,03%, dan air sebesar 8,17-9,32. Jika melihat dari kebutuhan protein udang windu yang optimal untuk pertumbuhan yaitu sebesar 30-34% (Izdihar, 2024), maka sudah memenuhi standar angka kecukupan kebutuhan protein udang yang optimal. Walaupun terlihat nilai karbohidrat 40% lebih tinggi dari nilai standar kebutuhan karbohidrat untuk udang.

Dugaan lain bahwa penambahan ekstrak daun miana pada pakan selama 30 hari memberi efek yang dapat membuat udang stres sehingga potensi tertutupi oleh stres yang menyebabkan kekurangan energi untuk si tersebut menyebabkan konsentrasi ekstrak yang berbeda pun jadi hambatan pertumbuhan. Oleh karena itu, walaupun udang si pakan yang lengkap dan sudah sesuai nutrisinya, penambahan memberikan nilai tambah yang signifikan, sehingga udang di



semua perlakuan, termasuk kontrol menunjukkan pertumbuhan yang serupa berdasarkan pakan utama.

2.5 Kesimpulan

Hasil penelitian memberikan kesimpulan bahwa ekstrak daun miana ungu (*Coleus scutellarioides* L Benth) mengandung 100 komponen bioaktif. Terdapat 30 komponen yang berpotensi sebagai imunostimulan untuk meningkatkan aktifitas fagosit dan sintasan udang windu pada konsentrasi terbaik 40 g/kg pakan selama 30 hari pemeliharaan. Sementara konsentrasi ekstrak daun miana memberi respon yang sama terhadap total hemosit dan pertumbuhan udang windu.

2.6 Daftar Pustaka

- Afifah, D. N., Fridayanti, A., & Masruhim, M. A., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth). in Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences, Vol. 1: 140-146.
- Anderson, D.P. dan Swicki A.K., 1992. Injection or Immersion Delivery of Selected Immunostimulant to Trout Demonstrate Enhancement of Non Specific Develope Mechanism and Protective Immunity in Discus in Asian Aquaculture II. Sharif, M.J. Fish Health Section Asian Society. 413- 426.
- Anggraeny & Pramitaningastuti, 2017. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa*. L) Terhadap Udem Kaki Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Jurnal Ilmiah Farmasi, Vol.13(1): 8-13.
- Artyanto L.D.B., Fatimawali & Datu O.S., 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Miana Merah (*Coleus hybridus*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pharmacon-Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Sam Ratulangi, Vol. 11 (3): 1618-1628.
- Auliawan R. & Cahyono B., 2014. Efek Hidrolisis Ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides*) terhadap Aktivitas Enzim α -glukosidase. Jurnal Sains dan Matematika, Vol. 22 (1): 15-19.
- Aykul S. & Hackert E.M., 2016. Determination of half-maximal inhibitory concentration using biosensor-based protein interaction analysis. Analytical Biochemistry, Vol.508 (1): P. 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.06.025>.



, K., Chetty, C.S., Ramkanth, S., Rajan, T. & Gnanaprakash, K., on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and s. International Journal of PharmTech Research, 2 (2): 1276-

- Basir B., Halimah & Kariyanti, 2023. Patogenitas dan Pengendalian Infeksi *Vibrio* sp pada Udang Vaname Menggunakan Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth). *Musamus Fisheries and Marine Journal*, Vol.5 (No.2): 9-16.
- Basir B., Isnansetyo A. & Istiqomah I., 2024. In Vitro Anti-Vibrio Activity of Miana Leaves (*Coleus Scutellarioides* (L) Benth). *Journal of Fisheries and Marine Research*, Vol. 8 (1): 58-65.
- Cheng W., Wang L. U. & Chen J. C., 2005. Effect of water temperature on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture* 250(3-4):592-601.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1050464808000235?via%3Dihub>. Diakses 24 Februari 2023.
- Darwanti K., Sidik R, & Mahasri G., 2016. Efisiensi Penggunaan Immunostimulan dalam Pakan terhadap Laju Pertumbuhan, Respon Imun dan Kelulushidupan Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biosains Pascasarjana*, Vol. 18 (2): 123-142.
- Fadillah N., Waspodo S. & Azhar F., 2019. Penambahan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora apiculata* pada Pakan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk Pencegahan Vibriosis. *Journal of Aquaculture Science*, Vol. 4 (2): 91-101.
- Fati N., Syukriani D., Luthfi U.M. & Siregar R., 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*, L) dalam Air Minum terhadap Performa Broiler. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan* Vol. 23 (12): 1-15.
- Febriani D., Sukenda & Nuryati S., 2013. Kappa-Karagenan sebagai Immunostimulan untuk Pengendalian Penyakit Infectious Myonecrosis (IMN) pada Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, Vol. 12(1): 70-78.
- Fernandes A., Maharani R. & Supartini, S., 2018. Phytochemical and GC-MS Analysis of Purple Cat Leaves (*Eupatorium odoratum* L. F.) as an Active Medicinal Ingredient. *Journal of Dipterocarp Ecosystem Research*, 4 (1): 1-8.
- Giuliana, F.E., Ardana, M. & Rusli, R., 2015. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth). *Proceeding of harmaceuticals Conferences*, 1(1): 242-251.
- arbamate Pesticides, *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition).
Sciences. pp 661-664.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123864543001068#pabstract>. Diakses 13-01-2025.



- Gupta R.C., & Doss R.B., 2022. Carbamate Toxicosis in Animals. MSD Manual, Veterinary Manual. <https://www.msdsvetmanual.com/toxicology/insecticide-and-acaricide-organic-toxicity/carbamate-toxicosis-in-animals..> Diakses 13-01-2024
- Gustrifandi, H., 2013. Prevalence of Zoothamnium Penaeid, Immune Response and Survival of Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Ponds Immunized with Zoothamnium Penaeid Immunogenic Membrane Protein. Thesis, Airlangga University, Postgraduate Program. Hemocytes. J. Morphology. 185: 339-384.
- Haliman, R.W. & Adijaya, S.D., 2005. Udang vannamei, Pembudidayaan dan Prospek Pasar Udang Putih yang Tahan Penyakit. Penebar Swadaya, Jakarta, 75 hlm.
- Huang, HT., Liao ZH., Wu YS., Lin YJ., Kang YS., & Nan FH., 2022. Effects of *Bidens alba* and *Plectranthus amboinicus* Dietary Supplements on Non-Specific Immune Responses, Growth, and Resistance to *Vibrio alginolyticus* in Whiteleg Shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture, 546.
- Huynh TG, Cheng AC, Chi CC, Chiu KH, & Liu CH., 2018. A Synbiotic Improves the Immunity of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Metabolomic Analysis Reveal Compelling Evidence. Fish Shellfish Immunol. 79 May:284-293. Doi:10.1016/j.fsi.2018.05.031.
- Izdihar K.F., 2023. Tips dan Trik Pemberian Pakan Udang Protein Tinggi. eFishery. <https://efishery.com/id/resources/pakan-udang-protein-tinggi/>. Diakses 4 Februari 2025.
- Jung, Y.K. and Shin, D. (2021). Imperata Cylindrica: A Review of Phytochemistry, Pharmacology and Industrial Applications. Molecules., 26(5): 1454 pp.
- Kajita, Y., Sakai M., Atsuta S.D. & Kobayashi M., 1990. The Immunomodulatory Effects of Levamisole on Rainbow Trout, *Onchorhynchus Mykiss*. Fish Pathol., 25: 93-98.
- Karimi, G. & Vahabzadeh, M., 2014. Butyric Acid. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). Reference Module in Biomedical Sciences, pp. 597-601.
- Khattak M M A K dan Teher M T, 2011. Bioactivity Guided Isolation of Antimicrobial Agent From Coleus Amboinicus Lour (Torbangun). Detail and of The Project Report Endowment Fund/ Grand No: EWB B 0803-107.



um D, Alegantina S dan Astuti Y. 2008. Karakteristik Daun Miana *scutellarioides* (L) Benth) dan Buah Sirih (*Piper betle* L) secara dari Ramuan Lokal Antimalaria Daerah Sulawesi Utara. *Jurnal Kesehatan*. 18(4): 213-225.

Lumbessy M, Abijulu J dan Paendong J J E, (2013), Uji Total Flavonoid pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional di Desa Waitina Kec. Mangoli Timur Kab. Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara. *Jurnal MIPA Unsrat*. 2(1): 50-55.

Molyneux P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26 (2): 211-219.

Munaeni W., Gustilatov M., Abdurachman M.H., Khobir M.L., Kurniaji A., Mukti R.C., Tomasoa A.M., Zubaidah A., Ulkhaq M.F., Herjayanto M., Marda A.B. & Vinasyiam A., 2023. Budidaya Udang Windu. Tohar Media. 239 Hal.

Mutiaticum D, Alegantina S. & Astuti. 2010. Standarisasi Simplisia Dari Buah Miana (*Plectranthus Seutellaroides* (L) R.Bth) yang berasal dari 3 tempat tumbuh Manado, Kupang dan Papua. *Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan*. 38(1): 1-16.

Muthukrishnan S, Defoirdt T, Ina-Salwany M.Y, Yusoff F.Md, Shariff M, Ismail S.I. & Natrah L. 2019. *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* causing Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) Isolated from Malaysian Shrimp Ponds. *Aquaculture*, Vol. 511 (734227). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848618325286>.

Rahmawati F., 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Ridwan Y. & Ayunita Y Q. 2007. Phytochemical and Anthelmint Activity Against Chicken Tuperworm of Painted Nettle (*Coleus blumei* (Benth) Varieties *In Vitro*. Vol. 14(1): 17-21.

Rengpipat S., Rukpratanporn S., Piyatiratitivorakul S. & Menasaveta P., 2000. Immunity Enhancement in Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* by a Probiotic Bacterium. *Aquaculture*., 191 (2000): 271-288

Salimi, Y.K., 2021. Daun Miana Sebagai Antioksidan dan Antikanker. Yayasan Pendidikan dan Sosial Indonesia Maju (YPSIM) Banten. 78 Hal.

Samad, A., Azlan, A. & Ismail, A., 2016. Therapeutic Effects of Vinegar: A Review. *n in Food Science*. 56-61.



Siawan A. & Kusdarwati R., 2016. Penambahan Ekstrak *Gracilaria* hadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Uji Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*). *Jurnal Akuatika* 1 (2): 120-129.

- Sayuti, K. & Yenrina, R., 2015. Natural and Synthetic Antioxidants. Andalas University Press, Padang, 104pp.
- Smith V J., Brown J.H. & Hauto C., 2003. Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection. Fish & Shellfish Immunology 15 : 71-90.
- Sudjarwo, G. W., Mahmiah, M.A.W. & C.H.I., 2017. Analisis Proksimat dan Optimasi Pembuatan Kitosan dari Limbah Kulit dan Kepala Udang Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Seminar Nasional Kelautan XII (1): 39- 44.
- Syahailatua, D.Y. 2009. Seleksi Bakteri Probiotik sebagai Stimulator Sistem Imun pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). (Tesis). Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor, 58 p.
- Uyun S., Damayanti A.A. & Fariq Azhar F., 2021. The Effect of Cherry Leaves Extract (*Muntingia calabura*) on Growth Performance of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Jurnal Biologi Tropis, 21(1): 262-270.
- Yuniarti, Titin, Afianti & Windy, 2008. Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional .Yogyakarta Med Press, 439 .





Optimized using
trial version
www.balesio.com